

ISSN-0120-0488

# REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

*Volumen 32 • Número 2 • Julio-Diciembre 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. 2 Julio-Diciembre 2006

Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

## JUNTA DIRECTIVA SOCOLEN 2004 – 2006

**Presidente**  
Miguel S. Serrano

**Vicepresidente**  
Edison Torrado

**Secretario**  
Fernando Cantor R.

**Tesorero**  
Guadalupe Caicedo R.

**Vocales Principales**  
Aura Cecilia Burgos

Carlos E. Sarmiento M.  
Eduardo Espitia

**Vocales Suplentes**  
Guimar Nates  
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**  
Claudia I. Martínez  
*Bióloga, M. Sc*

### 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*  
*Bioteología 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*

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

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

Fernando Montealegre Z.  
*University of Toronto,*  
*graduado a Ph. D.*

Fernando E. Vega  
*U. S. Department of Agriculture –*  
*Agricultural Research Service,*  
*Insect Biocontrol Laboratory,*  
*Maryland*

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

# Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia

A review of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Colombia

ALEX ENRIQUE BUSTILLO PARDEY<sup>1</sup>

**Resumen.** La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), es el insecto plaga más importante que afecta el cultivo del café no solo en Colombia, sino en casi todos los países productores causando pérdidas cuantiosas a los cultivadores. Debido a que es una plaga introducida en Colombia sin enemigos naturales, la primera estrategia fue la introducción desde África al país de agentes de control biológico como los parasitoides, *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*. Luego se llevaron a cabo investigaciones con el hongo *Beauveria bassiana*, para obtener cepas con actividad patogénica hacia la broca del café. Para estos agentes de control biológico, se desarrollaron procesos de producción masiva que permitieron su diseminación en toda la zona cafetera infestada por la broca. Posteriormente se estructuró un programa de manejo de la finca cafetera, que incluyó el conocimiento sobre la fenología del cultivo y el desarrollo de la broca, la evaluación de niveles de infestación, el control cultural, prácticas agronómicas que reducen la incidencia de la broca, evitando el escape de la broca en la etapa de beneficio del café, junto con los componentes biológicos enunciados arriba. El uso de insecticidas químicos se restringe a productos de baja toxicidad y poco impacto ambiental y se deben aplicar en aquellas situaciones en que los niveles de infestación lo ameriten, especialmente en sitios donde la broca se encuentra agregada. La integración de todas estas actividades con el fin de mantener las poblaciones de broca en niveles bajos, ha mostrado ser viable en las condiciones cafeteras de Colombia, como lo demuestran los resultados de las investigaciones.

**Palabras clave:** *Coffea arabica*. *Beauveria bassiana*. *Cephalonomia stephanoderis*. *Prorops nasuta*. *Phymastichus coffea*.

**Abstract.** The coffee berry borer (cbb) *Hypothenemus hampei* (Ferrari), is the most important pest of coffee not only in Colombia but in almost all coffee producing countries, causing severe crop losses for growers. Given that it a pest introduced to Colombia without its natural enemies, the first strategy was to introduce its agents of biological control from Africa to Colombia such as the parasitoids, *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* and *Phymastichus coffea*. Research was then undertaken with the fungus *Beauveria bassiana* to obtain strains with pathogenic activity to cbb. Mass rearing processes were developed for these biological control agents to permit their dissemination in the entire coffee-growing region infested by the borer. Afterwards, a management program was structured for the coffee farm, which included knowledge of crop phenology and cbb development, evaluation of infestation levels, cultural control and agronomic practices that reduce cbb incidence, avoiding escape of the insect during the coffee processing phase, together with the biological components mentioned above. Use of chemical insecticides is restricted to products of low toxicity and low environmental impact and these should be applied in those situations where infestation levels merit it, especially in areas where cbb is found aggregated. The integration of all these activities to maintain cbb populations at low levels has been shown to be viable under the coffee-growing conditions of Colombia, as has been demonstrated in research results.

**Key words:** *Coffea arabica*. *Beauveria bassiana*. *Cephalonomia stephanoderis*. *Prorops nasuta*. *Phymastichus coffea*.

### Introducción

El cultivo del café en Colombia representa el segundo renglón generador de divisas para el país. En 1991 participaba en el PIB total con el 5,3% y en el PIB agropecuario con el 23,4% (Cárde-

nas 1993). Por tanto, cualquier problema que lo afecte es de especial importancia para la economía colombiana. En 1988 se detectó la presencia de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia en el sur de Nariño. Este insecto, es

la plaga más importante que afecta el café en los países cafeteros donde ha llegado. Hace el daño al atacar el fruto del café y reproducirse internamente en el endospermo, causando la pérdida total del grano y en muchos casos su caída prematura, además reduce la calidad del producto

<sup>1</sup> Investigador Principal, Disciplina de Entomología, Cenicafé, Apartado aéreo, 2427, Manizales, Colombia. E-mail: alexe.bustillo@cafedecolombia.com

final (Cárdenas 1991; Bustillo 1991). Actualmente se encuentra infestando cerca de 800.000 hectáreas de café y afectando el patrimonio de más de medio millón de familias cafeteras colombianas.

La caficultura colombiana se ha mantenido libre de problemas de insectos a través de todo su desarrollo como explotación comercial. Solamente se han registrado ataques esporádicos de insectos como son: *Orthezia praelonga* Douglas, *Coccus viridis* (Green), *Planococcus citri* (Risso), *Disomicoccus brevipes* (Cockerell), *Leucoptera coffeella* (Guerin - Méneville), *Oxydia* spp. y el ácaro *Oligonychus yothersi* McGregor (ICA 1989; Cárdenas 1983, 1985). Estos insectos y ácaros no se han convertido en plagas serias debido a que el ecosistema cafetero es bastante estable, con buena biodiversidad y duradero, lo que favorece el desarrollo de la fauna benéfica, la cual mantiene en equilibrio las plagas presentes. Por otra parte en las zonas cafeteras no se han usado indiscriminadamente los insecticidas, hasta tal punto que Colombia es el único país en el mundo en el que la caficultura se manejó hasta la llegada de la broca, con muy poco uso de insecticidas (Bustillo 1991).

Esta situación de equilibrio se ha visto afectada con la aparición de la broca del café. La broca es una plaga exótica originaria de la zona ecuatorial del África e introducida accidentalmente al continente americano (Brasil) a principios del siglo pasado (Bergamin 1943). Por eso cuando llega a un lugar con condiciones favorables, desarrolla todo su potencial biótico sin ninguna restricción, alcanzando altos niveles de población debido a la carencia de agentes de control que han coevolucionado con ella en su sitio de origen (Bustillo 1991).

El uso de insecticidas como única medida de control de *H. hampei* no es recomendable. Esta práctica ampliamente usada en otros países cafeteros de América con presencia de broca (Decazy 1990a) tiene muchos inconvenientes. Uno es que las aspersiones con insecticidas solo son eficientes cuando se aplican oportunamente, esto es cuando el insecto esta penetrando el fruto y el producto entra en contacto con la broca, ya que una vez en el interior de la almendra, ningún insecticida ofrece un control satisfactorio. (Villalba *et al.* 1995). Por otra parte debido a las condiciones climáticas en Colombia el café presenta varias floraciones (Camayo y Arcila 1997), lo que origina que en zonas como el eje cafetero, exis-

tan durante todo el año muchos frutos susceptibles de ser atacados por la broca, (Vélez *et al.* 2000; Arcila *et al.* 1993). Esta situación genera una necesidad de controlar sus poblaciones a través de muchas aspersiones de insecticidas químicos, las cuales traerían como consecuencia problemas de contaminación ambiental, residuos no admisibles de insecticidas tanto en la planta como en el suelo, riesgos para la salud de sus habitantes y de la vida animal en los cafetales, desequilibrios biológicos al eliminar la fauna benéfica ocasionando el surgimiento de insectos que antes no eran plagas (Bustillo *et al.* 1993).

El uso continuado de insecticidas también conduce al desarrollo de resistencia como ha sido comprobado para el endosulfan en Nueva Caledonia (Brun *et al.* 1989, Ffrench-Constant *et al.* 1994) y recientemente en Colombia (Góngora *et al.* 2001). Como consecuencia de lo anterior, es necesario utilizar todas las herramientas que se encuentren disponibles para combatir la broca como son: prácticas de control cultural, de manejo agronómico del cultivo del café que reduzcan sus poblaciones, el fomento de la fauna benéfica, la introducción desde su sitio de origen de enemigos biológicos como parasitoides y entomopatógenos que jueguen un papel importante sobre las poblaciones de broca. Entre estos organismos, los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston, *Phymastichus coffea* La Salle y el hongo *Beauveria bassiana* (Báls.) Vuillemin, se consideran componentes importantes en un programa de control biológico de la broca del café (Orozco y Aristizábal 1996; Orozco 1995; Bustillo 1995, 1991).

El anterior enfoque está enmarcado dentro del concepto de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Andrews y Quezada 1989; Rabb y Guthrie 1970; NCA 1969). El MIP proporciona una serie de principios y conceptos sobre control de plagas que se integran y en una forma teórica se esbozan para establecer un derrotero ecológico en la solución del problema. Por lo tanto, el MIP es flexible, dinámico, susceptible siempre de mejorarse, aunque su comprensión y adopción por parte de los agricultores puede ser difícil. En el caso de *H. hampei*, el desarrollo del programa de manejo integrado de la broca (MIB) (Benavides y Arévalo 2002; Bustillo 2002; Bustillo *et al.* 1995), se ha enfocado dentro del siguiente marco teórico: "El uso de una serie de medidas de con-

trol (culturales, biológicas y químicas) y de prácticas agronómicas tendientes a reducir las poblaciones de la broca en los cafetales a niveles que no causen daño económico y que permitan la producción de café para exportación en forma competitiva. Las medidas de control que se utilicen deben ser compatibles y no causar efectos deletéreos a los moradores de la zona cafetera, a la fauna, ni contaminar el ecosistema cafetero"

### Distribución de la broca del café

La broca es originaria del África ecuatorial y fue introducida al continente americano a principios del siglo pasado. Actualmente se encuentra prácticamente en todos los países productores de café (Le Pelley 1968). En Colombia se registró por primera vez en el sur hacia 1988 y su dispersión ha sido rápida ya que encontró condiciones muy favorables para su desarrollo debido especialmente al clima, a la continuidad de la zona cafetera y su grado de tecnificación, que le aseguran suministro permanente de alimento (Bustillo 1991).

Un análisis de la distribución de la broca a nivel mundial usando herramientas moleculares es presentado por Benavides (2005b) y Benavides *et al.* (2005). Esta información sugiere una invasión en Asia de la broca procedente del oeste africano y se presume que algo similar ocurrió en América. Después de amplificar cientos de *loci* a partir de muestras de broca provenientes de 17 países en tres continentes (África, Asia y América) mediante AFLP, confirmaron el origen de esta plaga en Etiopía, y documentaron su dispersión mundial y la invasión de Asia y América a partir de insectos del Oeste Africano. La distribución de las huellas dactilares y su relación genética, determinada por un análisis de Neighbor-Joining, indicó que dos introducciones de broca en Brasil se dispersaron posteriormente a través de las Américas y una tercera introducción en América fue evidente en Perú y Colombia (Benavides 2005a).

Muchos insectos tratan de migrar como un mecanismo de supervivencia. En el caso de la broca existe una proporción de adultos que vuela y se dispersa, por consiguiente es casi imposible erradicar un insecto con aspersiones de insecticidas o control cultural si en un momento dado parte de su población está volando y otra parte esta refugiada en otros cafetales donde no se están haciendo prácticas para reducir su población. Por lo tanto,

una vez la broca aparece en una zona hay que tratar de convivir con ella (Baker 1984).

En la selva tropical donde se originó la broca hace mucho tiempo se supone que había una gran diversidad de especies y por tanto los cafetos se encontraban dispersos y con baja producción de frutos, lo cual obligaría a la broca a adaptarse a desplazamientos largos. La broca vuela levantándose lentamente y casi en forma vertical hasta encontrar corrientes de aire que la arrastran a otros sitios y puede mantenerse libremente hasta una hora y media y más de tres horas en vuelos sucesivos (Baker 1984).

En un estudio en Colombia para evaluar las poblaciones de la broca y su dispersión a cafetales vecinos después del zoqueo, sin retirar los frutos de los árboles zoqueados, se encontró que el potencial de estados biológicos vivos de broca en estos lotes de una hectárea era de 5.800.000 y se observó que su reproducción continuaba aún después de tres meses de estar en el suelo. En los primeros 30 días emerge del suelo la mayor cantidad de adultos de broca y se triplica el porcentaje de infestación en los lotes vecinos. A los 70 días después del zoqueo cerca del 80% de la población de adultos de broca emergió y se continuaron registrando emergencias aún después de 150 días. Esto implica que se tiene un flujo constante de brocas hacia los cafetales vecinos, lo que dificulta y encarece el control de la broca (Castaño *et al.* 2005). Esta información ratifica la necesidad de seguir las recomendaciones de Cenicafé sobre zoqueo, que en esencia se reducen al remover los frutos brocados de los árboles antes de desrrearlos, usar árboles trampas y cosecharlos oportunamente (Cenicafé 1995a).

### Generalidades sobre la biología de la broca

En África el cafeto es una planta que en su estado natural debió encontrarse bajo sombra proporcionada por árboles grandes en la selva. Por esto se presume que la broca sea un insecto adaptado a las condiciones de sombrío, lo cual se ha comprobado en cafetales en América (Baker 1984). Sin embargo, esto no quiere decir que sea más abundante en estos ecosistemas ya que la producción de frutos de los cafetos bajo esta condición es menor que a libre exposición. En los cafetales, a libre exposición plantados en altas densidades de las variedades Catuira y Castilloã, se produce un auto som-

brío que favorece el ataque de la broca pero debido a las altas producciones de frutos de café se pueden reproducir más brocas por unidad de superficie (Bustillo *et al.* 1998).

Los compuestos volátiles son aquellos que se evaporan fácilmente en el aire. Las sustancias volátiles proporcionan señales a los insectos sobre su existencia, para poder dirigirse a ellos. La broca es primero atraída por metabolitos secundarios que produce el cafeto en su proceso de formación del fruto y luego por el color y la forma del fruto. Las que llegan después son atraídas por los mismos factores, pero también por los volátiles liberados por la primera broca. Hay evidencias (Giordanengo *et al.* 1993) que en los desechos fecales se producen sustancias que atraen otras hembras. Las hembras de la broca debido a esto tienden a agregarse al llegar a un cafetal concentrándose en ciertas ramas y árboles.

### Comportamiento reproductivo de la broca

La reproducción de *H. hampei* presenta una alta endogamia, en la que la broca colonizadora da lugar a una progenie de muchas hembras, y pocos machos. Los machos no vuelan y permanecen en el fruto y las hembras copulan con sus hermanos lo cual ocurre antes de salir de los frutos para ir a colonizar nuevos frutos de café. Este aspecto es acentuado por el mecanismo de la haplodiploidía funcional en el cual tanto las hembras como los machos son diploides, pero estos últimos fallan en expresar y transmitir los cromosomas paternos (Brun *et al.* 1995).

Recientemente, se ha propuesto un mecanismo para explicar el comportamiento reproductivo de la broca que tiene que ver con la determinación sexual, en el que predominan las hembras sobre los machos. Ninguno de los siete cromosomas presentes en su forma haploide en la broca (Brun *et al.* 1995) han sido ligados a la determinación sexual, se sugiere que probacterias del género *Wolbachia*, encontrada recientemente como un endosimbionte en la broca, es la causante de la determinación sexual (Vega *et al.* 2002), de la misma forma como ha sido descrita en otras especies de insectos (Benavides 2005b).

### Ciclo de vida y hábitos de la broca

El ciclo de vida de la broca ha sido estudiado por varios autores (Baker *et al.*

1992a; Decazy 1990a; Muñoz 1989; Baker 1984; Ticheler 1963; Bergamin 1943; Corbett 1933). En Colombia se han llevado a cabo varios estudios al respecto (Ruiz 1996; Ruiz *et al.* 1996; Gaviria *et al.* 1995; Montoya y Cárdenas 1994). Existen considerables diferencias en cuanto a la información sobre la duración de sus estados, pero esto obedece fundamentalmente a diferencias en las condiciones ambientales de los diversos estudios, especialmente de temperatura. El adulto hembra de la broca del café una vez emerge de la pupa está listo para aparearse y unos tres días después puede iniciar posturas. Su período de oviposición es de unos 20 días y coloca entre dos y tres huevos/día. El número de días que puede permanecer ovipositando se estima en Colombia en 15 días, La incubación del huevo dura 7,6 días (23°C) y el estado de larva 15 días para los machos y 19 días para las hembras, la prepupa dos días y la pupa 6,4 días (25,8°C). El ciclo total de huevo a emergencia de adulto se estima en 27,5 días (24,5°C). Sin embargo el tiempo generacional, o sea el tiempo que tarda en iniciarse otra generación del insecto, bajo condiciones de campo se estima para la zona cafetera colombiana en 45 días a una temperatura promedio de 22°C y de unos 60 días para una temperatura de 19°C. La relación de sexos es aproximadamente de 1: 10 en favor de las hembras (Ruiz 1996).

El adulto macho de la broca no tiene sino función reproductora. Es de menor tamaño, y se encuentra siempre en el interior de los frutos, además es incapaz de perforar un fruto. Debido a que los músculos de sus alas se encuentran atrofiadas no puede volar. Este comportamiento explica el porqué no es viable el uso de atrayentes sexuales para el manejo de este insecto (Bustillo *et al.* 1998).

Una vez que la hembra colonizadora inicia su oviposición, permanece en el interior del fruto del café hasta su muerte cuidando de su progenie. Bajo condiciones de la zona central cafetera se ha determinado que en un fruto de café, desde el momento que es susceptible al ataque de la broca hasta la época de cosecha, se pueden producir dos generaciones de la broca. Si estos frutos no se cosechan y se dejan secar en el árbol, se puede llegar a cuatro generaciones (Ruiz 1996).

Al hacer observaciones sobre el tiempo que una hembra demora en penetrar un fruto, se encontró que éste varía de acuerdo con el estado de desarrollo del fruto

así: frutos verdes requieren en promedio 5 horas 36 minutos, mientras que frutos pintones 5 horas 54 minutos, frutos maduros 4 horas 50 minutos y frutos secos 11 horas 21 minutos (Miguel y Paulini 1975). Lo anterior indica que hay una tendencia de la broca a penetrar con mayor rapidez en los frutos maduros.

En estudios realizados en Colombia en cafetales a altitudes entre 1.200 y 1.350 m, se encontró la influencia directa que tiene la acumulación de la materia seca en el fruto de café sobre el tiempo que tarda el insecto desde el inicio de la perforación hasta iniciar la oviposición. Este tiempo fluctúa entre 91 días para frutos de 60 días de edad (11% de peso seco) hasta sólo cuatro días en frutos de 210 días de edad (33% de peso seco) (Ruiz 1996). Aquí también se debe tener en cuenta la diferencia que existe en el desarrollo de los frutos del café en Colombia, que harían variar estos datos. Cuando se encuentra el cafetal a unos 1200 m de altura (22°C) el desarrollo desde floración a cosecha puede tomar siete meses, pero a 1800 m de altura (19°C) este desarrollo puede ser de nueve meses (Vélez *et al.* 2000; Jaramillo y Guzmán 1984).

Cuando la broca inicia ataques a frutos no muy desarrollados (<150 días) el tiempo de exposición en el canal de penetración es muy prolongado ya que espera a que la consistencia de las almendras sea la adecuada para iniciar su oviposición; este comportamiento hace vulnerable al insecto al tratamiento con insecticidas químicos y biológicos durante este tiempo (Villalba *et al.* 2006).

La información anterior muestra la importancia de realizar labores de control dirigidas a los adultos a tiempo, ya que una vez la broca alcanza el endospermo sólo es controlable con la recolección oportuna del café o con la liberación de parasitoides que puedan entrar y atacar los estados de la broca dentro del fruto.

#### **La fenología del cafeto en relación con la broca**

Aunque el árbol de cafeto suele florecer después de las lluvias que siguen a un periodo de sequía (déficit hídrico), en el año se presentan en la región cafetera central dos periodos definidos de floraciones correspondientes a la cosecha principal del segundo semestre y a la mitaca o cosecha del primer semestre. El primer periodo va de mediados de marzo a finales de mayo y el segundo desde principios de septiembre hasta finales de

noviembre (Vélez *et al.* 2000; Camayo y Arcila 1997; Arcila *et al.* 1993).

Estudios sobre el desarrollo del fruto del café (Salazar *et al.* 1993; Jaramillo y Guzmán 1984) han demostrado que entre la antesis y el fruto maduro transcurren 32 semanas y que el fruto alcanza un 20% de peso seco entre 110 y 140 días después de la floración. Se comprobó que la broca puede atacar los frutos desde 70 días después de la floración, pero tan sólo en frutos mayores a 120 días cuando éstos tienen más del 20% de peso seco, los encuentra aptos para iniciar su reproducción mediante la oviposición (Salazar *et al.* 1993). Ruiz (1996) demostró que la oviposición ocurre en menos de 4 a 5 días en frutos mayores a 150 días con un peso seco del 27%, mientras que esta toma hasta 90 días cuando se expone a frutos de 60 días de edad.

El registro de las floraciones en las fincas es muy importante porque permite hacer predicciones sobre el tiempo de ocurrencia de la cosecha, sus picos y los momentos críticos de posibles ataques de la broca (Bustillo 2002). Esta información es muy útil para un programa de manejo de la broca y lograr una mayor eficiencia para controlar las poblaciones de la broca que estén penetrando los frutos.

#### **Efecto de la humedad y temperatura sobre la broca**

La humedad afecta la mortalidad y el potencial reproductivo de la broca. A bajas humedades ocurre alta mortalidad y la máxima fecundidad se encontró entre 90% y 93,5% de H.R. La emergencia de la broca de frutos infestados se incrementa a humedades altas entre 90 - 100% H.R. y es muy baja a temperaturas inferiores a 20°C (90-100% H.R.) y se incrementa considerablemente entre 20-25°C (Baker *et al.* 1992b, 1994)

Los periodos prolongados de sequía en los cafetales causan la caída de frutos, se acelera la maduración y las almendras resultan mal formadas y de calidad inferior. Si estos están infestados con la broca su desarrollo también es más rápido o sea que el tiempo generacional es más corto, hay una mayor reproducción dentro de los frutos caídos al no recibir humedad por las lluvias. La broca, como se dijo antes, no emerge de los frutos durante los periodos secos generando una gran descendencia la cual inicia su salida cuando comienzan las lluvias. Durante los periodos lluviosos se presenta una emergencia muy continua pero en cantidades muy bajas debido a que por efecto de las

precipitaciones la broca no se reproduce en grandes cantidades dentro de los frutos (Cenicafé 1997, 1998).

#### **Efecto de la broca sobre la producción de café**

El daño que ocasiona la broca al fruto de café, consiste en perforaciones a los frutos y caída de estos cuando atacan frutos jóvenes. Se encontró que cuando la broca ataca frutos de café de dos meses de edad, más del 50% de los frutos afectados se caen de las ramas y muchos de ellos toman un color característico de madurez; pero si el ataque ocurre después de los tres meses de edad, la caída de frutos es menor al 23,5%. La pérdida de peso del café pergamino seco por causa de la broca fue en promedio de 18,1%, y los frutos que fueron atacados tempranamente se maduran prematuramente, lo cual repercute en un manchado del pergamino de los granos sanos (Alzate 1993).

#### **Los componentes del manejo integrado de la broca del café**

##### **Muestreo y umbrales de daño económico**

El daño causado por la broca del café, hace que se deban tomar medidas de control eficientes, en el momento oportuno y cuando el insecto amenace causar pérdidas económicas. Por lo tanto un requisito importante en un programa de manejo integrado es el de poder medir una población en el campo en un momento dado y correlacionar esta población con el daño que se obtiene cuando el cafetero vende su cosecha.

En el caso de la broca y otros insectos es imposible hacer un censo por lo que se debe acudir al muestreo apoyado en fundamentos estadísticos (Taylor 1984; Southwood 1978; Cochran 1977; Elliott 1977). Para el caso de *H. hampei* el diseño del muestreo se ha basado en investigaciones realizadas en Centroamérica (Decazy 1990b, 1990c; Baker 1989; Baker *et al.* 1989; Muñoz 1988) y discusiones con especialistas en la materia. En general se ha establecido que para una hectárea de café (universo de muestreo) es suficiente muestrear 30 sitios por hectárea (tamaño de la muestra) y en cada sitio se escoge un árbol y en este se selecciona una rama en la zona productiva que tenga entre 30-100 frutos (unidad de muestreo) y se contabiliza el total de frutos en la rama y el total de frutos brocados. Esta evaluación se demora en promedio 42 min (Bustillo *et al.* 1998). Una variante de este plan de muestreo se

ha validado recientemente con caficultores, y esta basado en la calibración de la población de frutos en una rama a través de una medida. Este muestreo es más rápido y la información generada es estadísticamente igual al de las ramas (Trujillo *et al.* 2006; Bustillo y Mejía 2003).

Estos planes de muestreo son apropiados y aconsejables para evaluar niveles de infestación de la broca, siempre y cuando se los realice recorriendo los lotes de café en una forma representativa. Se recomienda hacer estas evaluaciones mensualmente, y por lotes para poder hacer seguimiento a las poblaciones de broca y tomar las medidas de control oportunamente en la finca (Bustillo *et al.* 1998).

El recorrido de los lotes, también permite al evaluador localizar sitios de concentración o "focos" de broca, en donde se deben intensificar los esfuerzos de control. Por otra parte a medida que se evalúa el nivel de infestación se pueden tomar muestras aleatorias de 2 a 3 frutos brocados/sitio, que al abrirlos dan información sobre el grado de penetración de la broca. Esta muestra también permite evaluar cualquier medida de control al relacionar la población de broca muerta con el total de brocas encontradas en toda la muestra. El nivel de infestación de broca en un lote, su localización dentro del lote y la posición de la broca en el fruto es información básica para poder tomar decisiones de control (Bustillo 2002; Bustillo *et al.* 1998).

La pérdida económica al momento de la venta del grano por el caficultor, está establecida por normas de la Federación Nacional de Cafeteros, que estipula un nivel máximo de defectos en el café pergamino del 5,0%, incluyendo daño por broca. Esto indica que al establecerse un tope del 2% de daño por broca en café pergamino, significa que en los cafetales a la cosecha no deben tener más del 5% de infestación. El 5% de infestación de café cereza produce 2,5% de infestación en café pergamino, ya que en la mayoría de los casos sólo uno de los dos endospermos está atacado por la broca. Además se estima que en el proceso húmedo de beneficio del café un 20% del café brocado se puede separar, resultando una reducción adicional del 0,5% en la infestación del pergamino para teóricamente llegar a un 2% de infestación en el pergamino seco (Fajardo y Sanz 1999). El umbral durante los periodos entre cosechas no debe sobrepasar el 2% con el fin de no correr riesgos.

Con frecuencia se indica por parte de los cafeteros que los niveles de infestación en campo no correlacionan con las mediciones al momento de la venta de café. Sin embargo, esto se puede explicar por diferentes circunstancias: 1) las evaluaciones no se realizan apropiadamente en una forma representativa y con la frecuencia establecida; 2) los datos de los niveles de infestación se confunden y no se llevan por lotes; 3) al momento del beneficio se mezcla el café de diferentes lotes; 4) no se realizan oportunamente los pasajes de cosecha, por lo tanto caen muchos frutos brocados que posteriormente dan lugar a la emergencia de brocas y al incremento de los niveles de infestación en las poblaciones de frutos que vienen madurando durante la cosecha (Bustillo *et al.* 1998).

#### Uso de trampas para el monitoreo de poblaciones de broca

Complementario a los muestreos para la determinación de niveles de infestación de broca en los cafetales, se están evaluando las trampas cebadas con mezclas de alcoholes y terpenoides para detectar los vuelos de broca. Se ha demostrado que la broca del café es atraída a trampas cebadas con una mezcla de alcoholes y los datos de las capturas muestran que estas trampas localizadas en los cafetales sirven como una herramienta de alerta para los caficultores para conocer cuando la broca está volando en busca de nuevos frutos (Bustillo y Jiménez 2003; Posada *et al.* 2003; Dufour 2002). En estudios previos se ha documentado la atracción que ejercen mezclas de alcoholes sobre adultos de broca, los cuales en los cafetales provienen de los procesos metabólicos de la maduración de los frutos de café (Cárdenas 2000; Mendoza 1991).

En experimentos de libre elección, las hembras adultas de la broca del café prefirieron las cerezas rojas sobre las verdes y fueron más atraídas a volátiles emitidos por las cerezas rojas (Mendoza *et al.* 1999; Giordanengo *et al.* 1993). En el estudio de Ortiz *et al.* (2004) encontraron que la emisión de volátiles de frutos de café era mayor en los frutos maduros que en los verdes. La composición de volátiles emitida por las cerezas del café estuvo dominada por altos niveles de alcoholes, especialmente etanol, en todos los estados de maduración en comparación con otros compuestos. Las cerezas sobre maduras tienen emisiones de volátiles más altas y muestran una composición en la que predominan los esteroides,

seguida de alcoholes, quetonas y aldehídos. Los compuestos de niveles más bajos fueron los monoterpenos. El 2 metil-furan se detectó en varios estados de maduración, este compuesto no se había registrado con anterioridad como un volátil de la cereza del café (Ortiz *et al.* 2004). Otros investigadores han encontrado en frutos de café monoterpenos diferentes tales como:  $\beta$ -myrceno, 1-phellandreno,  $\alpha$ -terpineno,  $\beta$ -ocimeno y (+)-2-careno (Mathieu *et al.* 1998).

Recientemente se ha desarrollado un difusor para el atrayente de la broca que permite liberación de los alcoholes a una tasa de 186 mg / día (Borbón *et al.* 2002). Este dispositivo utilizado con un nuevo diseño de la trampa es muy eficiente como lo demuestran las evaluaciones hechas en Nicaragua y Costa Rica (Borbón *et al.* 2002). El difusor es fabricado con una membrana plástica a través del cual se disemina el cebo que permanece activo durante ocho semanas, es decir que su liberación toma cerca de dos meses, tiempo al cual se debe cambiar por uno nuevo. La mezcla de alcoholes utilizada en estos cebos está conformada por alcoholes metílico y etílico en la proporción de 3: 1.

Evaluaciones en Colombia muestran que estas nuevas trampas capturan más brocas que las convencionales que se venían evaluando, multiplicándose las capturas por factores de 200 (Bustillo 2004a). Las trampas cebadas con atrayentes para la captura de la broca del café son una herramienta importante para estudiar la dinámica de los vuelos de broca en los cafetales. A través del registro ordenado de su captura se pueden determinar los patrones de vuelo de la broca en una finca o también en una región si estos se consolidan. Esta información es importante para que el cafetero pueda tomar medidas de manejo más eficientes al poder decidir sobre el momento más oportuno de controlar la broca cuando el insecto este perforando los frutos de café (Bustillo 2004a).

En las localidades en donde la cosecha principal es en el segundo semestre del año, la frecuencia de los vuelos de la broca y su proporción, es mayor entre enero y mayo que en el resto del año (Bustillo 2005). Los mayores picos se logran entre marzo y abril. Si se logra establecer una red de trampas en una región y se centraliza el análisis de la información, esta se puede convertir en un mecanismo de alerta para el caficultor en las diferentes regiones cafeteras (Bustillo 2005).

Actualmente se adelantan investigaciones para determinar densidades óptimas de trampas por área con el fin de establecer su viabilidad en la reducción de niveles de infestación (Cardona y Bustillo 2006).

### Control cultural

Al analizar el daño que la broca hace al café y su biología y comportamiento de ataque, es fácil deducir que las labores agronómicas del cultivo, especialmente la cosecha juega un papel importante en la reducción de las poblaciones de esta plaga. Se ha demostrado que en los cafetales después de la cosecha queda en los árboles y en el suelo un 10% de la producción (Chamorro *et al.* 1995). Con la presencia de la broca esta situación es muy complicada porque se está dejando un reservorio de alimentación a la broca para su reproducción. Por otra parte aunque la broca se considera como una plaga de la parte aérea de los frutos de café, nuestros estudios han demostrado su capacidad de reproducirse en frutos sanos que han caído al suelo. Esto se comprobó experimentalmente, la broca que emerge de los frutos infestados caídos al suelo es capaz de atacar frutos sanos que también se encuentren en el suelo (Bustillo *et al.* 1998).

Existen muchas prácticas agronómicas que se pueden llevar a cabo durante el desarrollo del cultivo y que son muy importantes para mantener niveles de población de broca bajos, las cuales se discuten a continuación:

Los frutos sobre maduros y especialmente los secos, constituyen el reservorio de donde surgen las poblaciones que van a dañar la siguiente cosecha. En los frutos secos "guayaba" es frecuente encontrar muchos adultos de broca, que salen tan pronto las condiciones climáticas son favorables. Si estos frutos no se tratan o benefician inmediatamente, se da oportunidad a la broca para que los abandone y vuelva al cafetal. Estos resultados son el soporte de la recomendación sobre una recolección exhaustiva de los frutos sobre maduros y secos (repose) después de la cosecha, como práctica fundamental para mantener niveles bajos de daño por broca del café en la finca (Cenicafé 1994b).

Esta población de frutos se debe tratar inmediatamente con calor. Si los volúmenes de café son pequeños se pueden colocar en una olla con agua hirviendo durante 30 minutos. Si se posee un silo para el secado del café, este se puede so-

meter a temperaturas de secado de 55°C durante unos 15 minutos. En caso que no se pueda realizar lo anterior, otra alternativa es hacer una fosa en la finca y depositar los frutos cubriéndolos con una capa de tierra de unos 10 cm (Cenicafé 1994a, 1995b).

En Colombia se demostró que las prácticas de cosechas oportunas y recolección de los frutos maduros dejados por los cosecheros, redujeron los niveles de infestación de un 70% a menos del 6% durante un ciclo de cosecha (Peralta 1995; Saldarriaga 1994). Estudios posteriores han indicado que es factible que los cosecheros disminuyan los frutos que dejan de cosechar en los árboles después de un pase de cosecha. Como norma para el control de un buen recolector se ha establecido que sólo es permitido un máximo de cinco frutos maduros por árbol después de un pase de cosecha (Díaz y Marín 1999). Esto se ha comprobado satisfactoriamente en estudios de investigación participativa con caficultores (Aristizábal *et al.* 2002, 2004a).

Los puntos de agregación de la broca del café en cafetales mayores de tres años, se localizan hacia los bordes de los lotes y hacia las depresiones o partes bajas del cafetal, lo mismo que en los cafetos situados cerca al beneficiadero, a los puntos de pesaje de café cereza y alrededor de las tolvas recolectoras (Cenicafé 1994a). Por lo tanto las labores de control se deben intensificar en la detección y control en esos sitios.

Empíricamente se manifiesta que las labores denominadas "prácticas de control cultural", constituyen un 80% del éxito en el control global de la broca. Esto ha sido parcialmente comprobado en estudios sobre escape de la broca en la zona del beneficio, en los cuales se demuestra que entre un 64% y 75% de la población de la broca llega al beneficio durante la cosecha (Moreno *et al.* 2001). Esta situación hace que el cafetero tome medidas en la zona del beneficio para evitar que la broca vuelva al cafetal.

### Otras prácticas agronómicas que contribuyen al control de la broca

Existen muchas labores que se hacen o se pueden realizar en las fincas cafeteras que contribuyen a la reducción de las poblaciones de broca, a continuación se discuten las más importantes (Bustillo 2002).

La siembra de variedad Castilloa además de evitar que se tenga que controlar la roya (Alvarado y Moreno 1999), presenta ventajas en relación con la broca, es-

pecialmente porque permite un mejor establecimiento del hongo *B. bassiana* al no tener que utilizarse fungicidas en el cafetal. Otra condición es que sus frutos permanecen más tiempo adheridos al árbol que la variedad caturra, dando tiempo para que los pases de cosecha se puedan hacer más espaciados y con menor riesgo de que se caigan al suelo.

La disposición de los árboles en el campo es muy importante (Mestre y Salazar 1995), ya que permite a los jornaleros desplazarse dentro de los cafetales eficientemente para hacer labores de Re – Re, evaluación de infestaciones y aspersiones para el control de la broca. Por otra parte, las labores de podas y deschuponamiento en los cafetales, hechas oportunamente, permiten que las labores de cosecha y Re – Re se ejecuten en mejor forma.

La renovación de los cafetales como lo aconseja Cenicafé (Mestre y Ospina 1994a, 1994b), permite el ordenamiento de la finca, de tal manera que no existan cafetales muy viejos que dificulten las labores de control de la broca, ya que en estos lotes es difícil el Re – Re, se quedan muchos frutos maduros en los cafetales y se caen muchos frutos infestados al suelo.

El uso del selector de arvenses para aplicar herbicidas en una forma selectiva y así controlar plantas indeseables (malezas), es una herramienta de mucha utilidad para el cafetero ya que con este dispositivo se puede mantener una cobertura de arvenses nobles que no compiten con el café, lo cual proporciona protección al suelo y evita la erosión (Rivera 1997, 2000). Además esta herramienta facilita la supervivencia de la fauna benéfica que ataca la broca del café, ya que parasitoides como *C. stephanoderis*, han mostrado que se alimentan del néctar de las arvenses nobles (Salazar y Baker 2002).

En el proceso de beneficio del café son muchas las actividades que se pueden hacer para evitar que la broca vuelva a los cafetales. Uno es el mantener las tolvas de recibo cubiertas con una tapa impregnada con grasa para que las brocas que salgan queden atrapadas. El despulpado del café sin agua (Alvarez 1991), permite reducir mucho los caudales de agua y evitar que la broca salga flotando en estos desagües hacia el cafetal. En los canales de correteo se deben colocar dispositivos que tamicen el agua que sale del beneficio para capturar las brocas contenidas en estos efluvios. El tener un



silo para secar el café con calor, es fundamental para matar los estados de broca que quedan en el grano pergamino durante la labor de beneficio.

El beneficio ecológico del café utilizando el sistema Becolsub, es muy importante para evitar que la broca escape durante el proceso (Oliveros y Roa 1995; Oliveros *et al.* 1995). Una ventaja adicional es que al usar tan poca agua no hay riesgo de que la broca se vaya en ella, además permite secar el café inmediatamente en silos causando la muerte a los estados de la broca que se encuentren en el interior del grano pergamino.

### Enemigos nativos de la broca

Conocer la fauna benéfica que afecta una plaga es fundamental para hacer planes sobre su manejo. Un primer paso en el estudio de la broca fue determinar la fauna benéfica nativa existente en Colombia que podía estar afectando sus poblaciones. Estos estudios arrojaron la presencia de nueve entomopatógenos, un parasitoide de adultos y ocho depredadores, lo que demuestra la biodiversidad del ecosistema cafetero colombiano y especialmente tratándose de una plaga como la broca de reciente introducción a este hábitat (Bustillo 1995). Esto afirma la importancia de preservar el ecosistema con medidas de control que no afecten esta fauna y así favorecer al cafetero, quien tendrá que hacer menos esfuerzos físicos y económicos para el control de la plaga (Bustillo *et al.* 2002; Bustillo *et al.* 1998).

Es importante anotar el papel importante que juegan las hormigas depredadoras de la broca del café. Recientemente Vélez (2002) estudio el comportamiento y efecto que tienen varias especies de hormigas sobre poblaciones de la broca, siendo las más importantes: *Solenopsis geminata*, *Dorymyrmex* sp., *Pheidole* sp. y *Mycocarpurus smithii*. Algunas de ellas son capaces de trepar a los árboles y preñar adultos que están intentando dañar los frutos, otras se introducen en los frutos infestados y preñan sobre todos los estados de broca que encuentran en su interior y existen otros grupos que solo actúan a nivel del suelo afectando las poblaciones de ellas que se encuentran en frutos caídos. De ahí la importancia de reconocer estas especies y proteger sus nidos.

### Introducción de parasitoides contra la broca del café

La otra estrategia para combatir la broca fue la introducción de fauna benéfica que no existía en el medio pero que se cono-

cía que actuaba en su lugar de origen, África. Por esto se introdujeron tres especies de parasitoides a través de cuarentenas en Inglaterra: *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston y *Phymastichus coffea* La Salle. La producción masiva de estas especies ha sido bien documentada (Orozco 2002; Orozco y Aristizábal 1996; Bustillo *et al.* 1996; Orozco 1995; Portilla y Bustillo 1995). Los procesos de producción se pusieron a disposición de 11 laboratorios particulares con los cuales se contrató durante cinco años, (1995 – 1999) la producción masiva para poder iniciar liberaciones de avispidas en fincas cafeteras infestadas con la broca. De estos parasitoides se liberaron más de 1600 millones en cafetales de todo el país en un periodo de cinco años, a través de actividades conjuntas con el servicio de Extensión de la FNC, con el propósito inicial de establecerlos en el ecosistema cafetero y que se distribuyeran a todos los cafetales infestados con la broca (Bustillo *et al.* 1998).

En relación con el comportamiento de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* es bastante similar para las dos especies. Atacan todos los estados de la broca cuando colonizan los frutos infestados. Primero matan el adulto de la broca y se alimentan de su hemolinfa, luego consumen los huevos y las larvas de primer instar y posteriormente paralizan las larvas de segundo instar, las prepupas y pupas sobre las cuales ovipositan y se desarrollan (Bustillo *et al.* 1996). Debido a este comportamiento estas especies están dirigidas a los frutos maduros, sobremaduros y secos que no fueron recolectados y se quedaron en el árbol. Por tanto, las épocas más oportunas para liberar las avispidas son al terminar la cosecha principal y después de la mitaca. Los parasitoides se liberan en los «focos» de la finca donde los niveles de infestación son más altos (Aristizábal *et al.* 1998b).

Tanto para *C. stephanoderis* como para *P. nasuta* se ha encontrado que realizan una acción depredadora sobre los adultos que se encuentran colonizando los frutos. El nivel de ataque se ha encontrado que puede variar entre un 48% hasta un 65% para *C. stephanoderis* (Aristizábal *et al.* 1998a), en el caso de *P. nasuta* estos niveles se han registrado entre el 60 y 70% de predación (Bacca 1999).

Estudios de campo han mostrado el potencial de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* como controladores reduciendo los ni-

veles de infestación de la broca, pero utilizando relaciones altas de parasitoides que oscilan entre 3 y 10 parasitoides por fruto infestado (Salazar y Baker 2002; Bacca 1999), las cuales no son viables económicamente debido a los altos costos de su producción.

La presencia de los parasitoides es evidente en todas las zonas donde se han liberado. El parasitismo ocasionado por *C. stephanoderis*, es dependiente de las densidades de *H. hampei* y aumenta cuando las poblaciones de la broca son mayores (Benavides *et al.* 1994). En estudios de campo se ha determinado que *C. stephanoderis* disminuyó significativamente el número de estados biológicos de la broca, tanto en frutos recolectados en árboles como en frutos del suelo (Aristizábal *et al.* 1997).

Observaciones en Nariño después de cuatro años de realizar liberaciones de las especies *P. nasuta* y *C. stephanoderis* en cafetales de este departamento, comprobaron la presencia de ambas especies. Sin embargo, *P. nasuta* demostró más adaptación al medio ya que se encontró en mayor proporción y en más lugares que *C. stephanoderis* a pesar de haber sido liberada en menor proporción (Quintero *et al.* 1998).

Un programa similar se adelanta con *Phymastichus coffea*, parasitoide de adultos de la broca. Para esta especie también se ha desarrollado un proceso de producción masiva (Orozco y Aristizábal 1996, Orozco 2002) y después de comprobar su selectividad a especies de Scolytinae (López – Vaamonde *et al.* 1997) se autorizó su liberación en cafetales Colombianos. *P. coffea* parasita el adulto de la broca que está penetrando los frutos, siendo un complemento ideal para las otras dos especies. En condiciones de campo se ha comprobado una alta capacidad de búsqueda y adaptación de *P. coffea* sobre poblaciones de la broca (Vergara *et al.* 2001a; Echeverry 1999). Los estudios sobre su actividad en cafetales han mostrado una buena capacidad de búsqueda en el campo, aún en presencia de poblaciones de broca inferiores al 5% de infestación (Vergara *et al.* 2001b).

Jaramillo *et al.* (2002, 2005) determinaron la capacidad de parasitismo de *P. coffea* sobre poblaciones de *H. hampei* en frutos de café de diferentes edades, la cual es mayor cuando la broca se encuentra en posiciones de penetración en el fruto y la edad de estos esta entre los 70 y 170 días después de la floración del fruto. Por otra parte Aristizábal *et al.* (2004b)

a través de investigación participativa con caficultores, indican que estos parasitoides pueden convertirse en reguladores importantes de las poblaciones de broca en cafetales y establecerse en el ecosistema cafetero colombiano. Sin embargo muestreos hechos unos tres años después de estas liberaciones no han dado indicaciones de recuperación del parasitoide en estas áreas.

Estudios recientes aun no publicados, están mostrando solo la presencia de la especie *P. nasuta*, en cafetales de varios departamentos, en algunos casos con altos niveles de parasitismo. Aparentemente, esta especie es la más adaptada a las condiciones del neotrópico, ya que fue introducida hace unos 80 años al Brasil en donde sobrevivió a las aplicaciones de insecticidas, y gran parte de la progenie del parasitoide liberada en el centro de la zona cafetera colombiana, proviene de una colonia introducida desde el estado de Espirito Santo.

Uno de los cuellos de botella para masificar en una forma económica el uso de los parasitoides de la broca, ha sido el costo de su producción que hace difícil que puedan utilizarse en grandes cantidades para que tengan un efecto inmediato en las poblaciones de broca. Los procesos de cría, utilizando café cereza y pergamino han tratado de reemplazarse por dietas artificiales (Portilla y Bustillo 2005; Ruiz *et al.* 1996). Estudios en los últimos años han mostrado avances en la optimización de la dieta artificial permitiendo la producción de muchas generaciones continuas (> 80) bajo condiciones de laboratorios en estos sustratos (Portilla 2000, 1999a, 1999b; Portilla *et al.* 2000). Sin embargo, los intentos por lograr una mecanización de estos procesos para reducir la mano de obra han sido infructuosos, resultando aun en sistemas de producción que requieren una gran y sofisticada infraestructura que elevan los costos de producción por encima del sistema de producción actual.

### Hongos en el control de la broca del café

El hongo *Beauveria bassiana* se encuentra naturalmente infectando la broca en casi todas las regiones en donde este insecto aparece. Cenicafe posee 102 aislamientos procedentes de diferentes países y colectados localmente, de los cuales aproximadamente la mitad han mostrado actividad contra broca (Posada y Bustillo 1994). Con el fin de masificar el uso de este hongo, la investigación inicial se centró en procesos de producción arte-

sanal (Marín y Bustillo 2002; Antía *et al.* 1992) e industrial (Morales *et al.* 1991). Esto permitió adelantar evaluaciones sobre su eficacia en los cafetales y tener inoculo del hongo disponible para que el agricultor pudiera producirlo en su finca. Además financiado por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, se pudo llevar a cabo un programa nacional de introducción del hongo en toda la zona cafetera infestada por la broca. La tecnología generada a nivel industrial se ha transferido a productores particulares para que se encarguen de la producción del hongo. En la actualidad existen varios laboratorios comerciales con licencia del ICA, que suministran hongo formulado para el control de la broca. Durante 1992 se utilizaron cinco toneladas de hongo a una concentración de  $1 \times 10^8$  esporas/gramo con fines experimentales. La producción de *B. bassiana* para el control de la broca del café fue de 60 toneladas en 1993 (Posada 1993) y para 1998 se estimó en 300 toneladas de un producto conteniendo al menos  $1 \times 10^9$  esporas / gramo.

El desarrollo de bioensayos (Posada *et al.* 2002; González *et al.* 1993) para seleccionar los aislamientos más virulentos, las instrucciones para realizar su reactivación en insectos (Bustillo y Marín 2002) y los protocolos para el control de calidad de los hongos producidos artesanal e industrialmente (Vélez *et al.* 1997), han permitido controlar y mejorar el producto que comercialmente se ofrece a los cafeteros.

Un cadáver de broca bien esporulado puede producir unos 10 millones de esporas lo que facilita su dispersión y establecimiento en los cafetales (Narváez *et al.* 1997). Esta condición es la que se observa en el campo como una mota o moho blanco sobre el cuerpo de la broca. *B. bassiana* ataca la broca cuando esta se encuentra penetrando los frutos de café al entrar en contacto con sus esporas. Si el insecto ya entró al fruto es difícil que el hongo lo pueda infectar (Bustillo y Posada 1996).

El ciclo de vida de *B. bassiana* sobre la broca bajo condiciones de laboratorio, se completa en promedio en 8,2 días desde la inoculación del insecto con el hongo hasta el desprendimiento de las esporas. En el campo dependiendo de las condiciones ambientales esto puede tomar entre 15 a 30 días. Se ha demostrado también la importancia de pasar el hongo *B. bassiana* a través de insectos para reactivar su virulencia. Cuando se culti-

va el hongo en medios artificiales por tres o más generaciones su virulencia se reduce considerablemente, y el tiempo promedio para causar mortalidad en la mitad de la población se incrementa, en comparación con el hongo activado sobre broca (González *et al.* 1993).

En otros estudios se ha explorado el efecto de la radiación solar sobre *B. bassiana* (Vélez y Montoya 1993) encontrándose que las esporas son muy sensibles a la luz solar, por lo que las formulaciones deben contener protectores solares para una mayor permanencia en el ecosistema. En relación con la compatibilidad con fungicidas e insecticidas (Rivera *et al.* 1994), en general los resultados muestran que no se deben hacer mezclas. Con la mayoría de los insecticidas evaluados se reduce la viabilidad del hongo y los fungicidas comúnmente utilizados para el control de la roya matan el hongo *B. bassiana*, por lo tanto no se recomienda este tipo de mezclas.

La eficiencia de *B. bassiana* en el campo se ha experimentado ampliamente (Flórez *et al.* 1997; Bustillo y Posada 1996; Bustillo *et al.* 1995, 1991). Los resultados son muy variables y están influenciados por condiciones climáticas y condiciones del cultivo, los niveles de control pueden fluctuar entre valores muy bajos, p. e. 20% hasta niveles del 75%. Las investigaciones sobre equipos para asperjar el hongo *B. bassiana* demostraron que este se puede aplicar eficientemente con todos los equipos disponibles para el cultivo del café. Sin embargo el equipo motorizado de espalda Motax con una descarga de 60 litros / ha mostró ser muy eficiente y más económico (Flórez *et al.* 1997).

El efecto patogénico de *B. bassiana* cepa Bb9295, se estudió bajo diferentes aspectos en condiciones de cafetales (Arcila *et al.* 2006). Al evaluar el efecto de diferentes niveles de infestación de la broca se encontró que esta es independiente del porcentaje de infestación de broca. En relación con la sombra, se encontró una tendencia a incrementarse la eficacia del hongo cuando se incrementa la sombra, esta posiblemente no fue más evidente debido al auto sombrío que normalmente tiene el café en altas densidades.

La eficacia de *B. bassiana* en el control de la broca relacionada con la posición de la rama en el árbol en donde el insecto ataca los frutos fue variable. Se encontró que hubo una mortalidad mayor en las ramas bajas, debido probablemente a una mayor condición de humedad y de

menor radiación solar. Mediciones previas de la radiación fotosintética activa (RFA), mostraron que los dos tercios superiores reciben significativamente más RFA que el inferior (Arcila *et al.* 2006).

La permanencia ó residualidad de *B. bassiana* Bb9205 en una preparación sin formular en el cafetal, se evaluó infestando con broca las ramas del árbol el mismo día, 2, 4, 8 y 15 días después de la aspersión de *B. bassiana*. El control obtenido con el hongo fue de 74, 24, 21, 20 y 19% para cada caso respectivamente, mostrando una disminución en su eficacia a medida que transcurre el tiempo de su aspersión. La evaluación de cuatro dosis comprendidas entre  $1 \times 10^8$  y  $5 \times 10^9$  esporas/árbol de Bb9205 permitió encontrar que a medida que se incrementa la dosis la mortalidad sobre la broca es mayor (Arcila *et al.* 2006). Se espera que el efecto de ese hongo sea mayor a medida que se desarrollen formulaciones que confieran una mayor longevidad en el ambiente a este entomopatógeno. Recomendaciones prácticas sobre su uso se presentan en Bustillo (2004b).

#### Efecto de hongos sobre broca en frutos en el suelo

Se evaluó el efecto de aspersiones de *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* al suelo sobre la broca que emerge de frutos caídos, a medida que transcurre el tiempo después de depositar el hongo. Los resultados mostraron que los niveles más altos de infección por los hongos sobre la broca en las ramas de los árboles, ocurrieron en los cinco primeros días después de la infestación en el suelo. Estos fueron cercanos al 30% para *B. bassiana* y del 11% para *M. anisopliae*, sin embargo la infección disminuyó posteriormente para ambos hongos, pero de nuevo alcanzó un pico hacia los 25 días de 24,3% para *B. bassiana* y de 7,7% para *M. anisopliae*. Lo anterior se puede explicar por la reproducción de los hongos en el suelo y la acumulación de esporas infectivas sobre insectos atacados que reinfectan nuevos insectos para asegurar la perpetuación del microorganismo (Bustillo *et al.* 1999). Los anteriores resultados muestran las bondades de *B. bassiana* en la regulación de la población de la broca que emerge del suelo y permite concluir que su efecto es superior al de *M. anisopliae*, sin embargo, esta eficiencia se podría mejorar con otro tipo de formulaciones del hongo, p. e. una formulación granulada, que permitiera una mayor permanencia en el suelo para evitar la lixiviación o arrastre causada por las lluvias.

A través de un laboratorio en Cenicafé, laboratorios particulares, y Cooperativas cafeteras se pudo producir suficiente inóculo de *B. bassiana* para poder expandir su uso en toda la zona cafetera infestada por la broca. Este programa fue patrocinado por la Federación Nacional de Cafeteros, libre de costo para el caficultor y los resultados muestran que el esta establecido en todas las áreas en donde se ha asperjado y se ha convertido en el factor de mortalidad natural más importante de la broca en Colombia. Se estima que en promedio el 49% de la población total de broca en un cafetal muere a causa de este hongo (Ruiz 1996).

Actualmente se considera, que dadas las exigencias de los mercados internacionales sobre restricciones en residuos de químicos en los productos de exportación y con el auge de los cafés especiales, amigables con las aves, con el ambiente, orgánicos, etc., se considera que organismos como *B. bassiana* son una alternativa muy valiosa en la reducción de los problemas de plagas. Recomendaciones sobre el uso de *B. bassiana* en cafetales son presentados por Bustillo (2004b).

Las investigaciones actuales están dirigidas a mejorar la eficacia de estos hongos en el control de la broca. Para esto se han realizado estudios de selección y caracterización de aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* teniendo en cuenta su morfología (Padilla *et al.* 2000), su patogenicidad (Bernal *et al.* 1994; Jiménez 1992), sus características fisiológicas y de reproducción (Vélez *et al.* 2001, 1999; Valdés *et al.* 1999) y utilizando técnicas moleculares (Gaitán *et al.* 2002; Valderrama *et al.* 2000). Recientemente se está intentando la transformación genética de estos hongos con genes que incrementen su virulencia y puedan ser más eficaces en el control de la broca del café en el campo (Góngora 2005; Rodríguez y Góngora 2005; Góngora *et al.* 2000), pero aun no existen regulaciones en Colombia para la manipulación de microorganismos transgénicos lo que detiene este tipo de avances. Por otra parte hay evidencias de que con el uso de mezclas de hongos se puede llegar a lograr controles más eficientes de la broca en los cafetales.

#### Compatibilidad de los parasitoides con otros métodos de control

Los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* bajo condiciones de campo cuando se expusieron a adultos de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* causaron mortalidades muy

bajas. Los entomopatógenos y los parasitoides se pueden emplear en un programa de manejo integrado de la broca del café, donde el intervalo de tiempo entre aplicación de los hongos y liberación de los parasitoides sea de ocho días para disminuir los riesgos de infección en el parasitoide de los cuales de acuerdo con este estudio fueron inferiores al 7%. El riesgo de la infección en los parasitoides se reduce si éstos se liberan antes de asperjar los hongos (Mejía *et al.* 2000; Reyes *et al.* 1995).

En relación con los insecticidas usados para el control de la broca se demostró que todos los productos, causan mortalidades a los parasitoides introducidos en los cafetales. Sólo se recomienda la aspersión cuando han transcurrido como mínimo 30 días después de la liberación de los parasitoides. Si los insecticidas se asperjan primero, se deben esperar 21 días para liberar los parasitoides (Bustillo *et al.* 1998; Guzmán 1996).

#### Los entomonemátodos y la broca del café

Debido a la condición de la broca de estar presente en frutos que se encuentran en el suelo, siendo esta la mayor dificultad para el cafetero en el manejo de este insecto, se ha considerado que los entomonemátodos, debido a sus hábitos, podrían jugar un papel importante en la reducción de poblaciones de *H. hampei*. En Colombia, no se ha registrado ningún nematodo atacando la broca en forma natural (Bustillo *et al.* 2002). Sin embargo, la literatura indica sobre dos registros de nemátodos atacando poblaciones de broca en condiciones de campo, uno de la India y el otro de México. En India Varaprasad *et al.* (1994) encontraron especímenes de *Panagrolaimus* sp. (Panagrolaimidae) infectando adultos de *H. hampei*, mientras que en México, Castillo y Barrera (1998) encontraron un nematodo Tylenchidae parasitando adultos que estaban en frutos provenientes del suelo en plantaciones de café.

Las investigaciones con nemátodos nativos en Colombia se han realizado con especies de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* y los estudios han abarcado temas sobre búsqueda y selección de nemátodos nativos que ataquen la broca, estudio del comportamiento y estrategias de búsqueda del hospedante (Molina y López 2002, 2003), ciclo de vida (López 2002), evaluación de sistemas de aplicación (Lara y López 2005) y evaluaciones bajo condiciones de invernadero y de campo en pequeña escala

(Lara *et al.* 2004; Giraldo 2003). Se han encontrado en el suelo de la zona cafetera varias especies de entomonemátodos que bajo condiciones controladas y de campo han mostrado ser capaces de llegar a los frutos brocados y reducir poblaciones de broca.

No obstante los avances en producción masiva de entomonemátodos en los últimos 15 años en el entorno mundial, en Colombia no hay desarrollos. Esto se convierte en “un cuello de botella”, ante una eventual demanda de productos con base en estos controladores biológicos.

### Uso de insecticidas

El uso de insecticidas para el control de la broca sólo se debe llevar a cabo cuando técnicamente se requiera, o sea se justifique por los niveles de infestación, en forma localizada, en el tiempo apropiado de ataque de la broca y con la tecnología de aspersión recomendada (Posada *et al.* 2004; Bustillo *et al.* 1998; Villalba *et al.* 1995).

Los resultados de estudios llevados a cabo en Colombia (Villalba *et al.* 1995), mostraron que la eficacia de los insecticidas se redujo a medida que el tiempo aumentó después de la infestación de la broca. También se encontró que existen otras formulaciones diferentes al endosulfan de igual o mayor eficacia en el control de *H. hampei* como, pirimifos metil, fenitrothion, clorpirifos, fenthion, de categoría toxicológica III y con una actividad biológica que no supera los 15 días, lo cual hace recomendable su uso en programas de manejo integrado en donde los insecticidas son uno de los componentes del control de la broca. De este estudio se puede concluir que los insecticidas, independiente de la formulación, sólo son eficaces en el control de la broca, cuando esta se encuentra penetrando los frutos y su uso obedece a un esquema de MIP donde priman los criterios técnicos para evitar efectos adversos al ecosistema cafetero.

El control de la broca del café en los cafetales con el uso de insecticidas es muy errático. Para explicar estas fallas se han estudiado diferentes factores que lo afectan como son: el ingrediente activo utilizado, la correcta dosificación, la calibración tanto de los operarios como de los equipos, la topografía del terreno, las condiciones ambientales reinantes al hacer las aspersiones y el momento oportuno de las aspersiones relacionado con el ataque de la broca. Sin embargo, es muy poco lo que se co-

noce sobre el efecto de la edad de los frutos del café que son atacados por la broca y la eficacia de los insecticidas. Al estudiar esta situación se encontró, que la eficacia de todos los productos evaluados disminuyó a medida que se incrementó la edad del fruto. Lo anterior se explica por el comportamiento de la broca que prefiere, ataca y se desarrolla más rápidamente en frutos de mayor edad. (Villalba *et al.* 2006).

La eficacia de insecticidas químicos y la reducción de sus dosis para el control de la broca se pueden lograr mediante la mezcla con coadyuvantes. En evaluaciones hechas en la zona central cafetera se demostró que la eficacia de algunos insecticidas se puede incrementar usando coadyuvantes en proporción de 0,75 l / ha reduciendo sus dosis de 1,5 l/ha a 1,0 l/ha (Villalba 1997).

El uso irracional de insecticidas puede causar muchos problemas, entre los que se destacan la resistencia del insecto a estos. La característica de la broca de poseer una haplodiploidía funcional le confiere una mayor velocidad en la eliminación de mutaciones deletéreas, lo que permite la fijación de aquellas que favorecen su reproducción y supervivencia en pocas generaciones. Esto último es el caso de la resistencia de la broca a los insecticidas organoclorados, registrada inicialmente en Nueva Caledonia (Brun *et al.* 1989), esta resistencia fue posteriormente evaluada mediante estudios moleculares (French-Constant *et al.* 1994) y se encontró que se trata del gen *Rdl* que codifica para una subunidad del receptor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (neurotransmisor GABA), el cual es responsable de activar los canales de cloro durante la sinapsis.

Este gen de resistencia fue favorecido en Nueva Caledonia mediante procesos de selección. Insecticidas pertenecientes al grupo de los ciclodienos como el DDT, lindano y endosulfan, se aplicaron de manera constante y generalizada a partir de 1966, y en menos de 20 años los niveles de infestación por broca alcanzaron sus máximos históricos y la resistencia genética fue documentada (Brun *et al.* 1989). Esta resistencia ha sido parcialmente descrita en Colombia (Góngora *et al.* 2001), en donde la mutación existe en la población de broca confiriendo resistencia al endosulfan, lo cual con prácticas de control no apropiadas en los cafetales se encargan de incrementar la frecuencia de este gen en la población de broca.

### Implementación e impacto del MIB en los cafetales

Los estudios de adopción del manejo integrado de la broca (MIB) en fincas cafeteras (Duque y Cháves 2000), han constatado que las recomendaciones derivadas de las investigaciones, han sido acogidas por gran parte de los caficultores lográndose la reducción de las poblaciones de la broca en los cafetales y así poder seguir produciendo café para exportación (Benavides *et al.* 2002; Benavides y Cárdenas 1995). Las labores de control cultural incluyendo el Re – Re, evitando la caída de frutos infestados en el suelo y el escape de la broca de la zona del beneficio, son un pilar fundamental para evitar altas infestaciones en las cosechas subsiguientes.

El control biológico de la broca con *B. bassiana* se constituye en un factor de mortalidad muy importante cuando esta se encuentra en posición de penetración en el fruto (Flórez *et al.* 1997). Este control es complementado con los parasitoides, *C. stephanoderis* y *P. nasuta*, que atacan la broca cuando su progenie se desarrolla dentro del fruto. Sin embargo, con el tercer parasitoide *P. coffea*, se ha demostrado cierta incompatibilidad cuando se aplica el hongo y seguidamente se libera la avispa (Cantor *et al.* 2006).

El uso de insecticidas es eficaz para el tratamiento de áreas en cafetales o “focos” donde la broca esta muy concentrada, siempre y cuando este control se use siguiendo criterios técnicos, y aplicando los productos en el momento oportuno de ataque de la plaga, con equipos de aspersión calibrados, operarios capacitados y utilizando la formulación apropiada de categoría toxicológica III. El uso de formulaciones de insecticidas basadas en endosulfan se encuentra prohibido en Colombia y muchos otros países como los pertenecientes a la Unión Europea y Brasil (Consejo de Estado 2001). Este enfoque de control de la broca del café, es el más ecológico para mantener la biodiversidad de la zona cafetera, (Gil 2005; Valencia *et al.* 2005), evitar el surgimiento de otras plagas y lo más importante, al hacer un uso racional de los insecticidas prevenir la contaminación ambiental y los riesgos sobre las 560.000 familias que habitan estas regiones.

Estudios sobre adopción del manejo integrado de la broca indican que el 60% de los cafeteros han adoptado parcial o totalmente el MIB, cifra considerada alta tratándose de que es un concepto o filosofía de manejo de plagas bastante complejo para ser asimilado fácilmente por los agricultores (Duque y Cháves 2000).

Recomendaciones para implementar un programa de esta índole se presentan en Bustillo (2002). Los resultados de las investigaciones para el control de la broca se han extendido a 750.000 ha de café infestadas con broca, a través del Servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros.

Una nueva estrategia para transferir esta información ha sido la Investigación Participativa con Agricultores (IPA), la cual ha mostrado ser una herramienta útil para llegar a comunidades de pequeños caficultores que tienen problemas comunes y presentan niveles de adopción bajos (Aristizábal 2005; Aristizábal *et al.* 2004a, 2004b). Esta estrategia actualmente está siendo institucionalizada por el Servicio de Extensión de la FNC.

El impacto de estos resultados de investigación lo soportan las estadísticas de Almacafé, la organización del sector cafetero encargada del almacenamiento y exportación del café en Colombia. Los niveles de café pergamino infestado por la broca del café que llegan a estos silos, se han reducido grandemente. En 1994 los niveles promedios en el país alcanzaban el 16% del café almacenado que estaba afectado por la broca. En los últimos años, los niveles de infestación de broca se han mantenido en niveles bajos (< 3.2%), permitiendo que la producción de café colombiano se siga comercializando hacia el exterior sin problemas (Abisambra 2004). Esta situación ha favorecido enormemente la economía del sector cafetero colombiano, que teniendo en cuenta los precios actuales (marzo de 2006) del café en el mercado internacional, se estima que representan ahorros cercanos a US\$120 millones de dólares anuales.

El impacto social ha sido visible, ya que con los programas de manejo integrado, se logra una racionalización o exclusión del uso de insecticidas de síntesis, evitando la contaminación y efectos deletéreos sobre los agroecosistemas y el hombre mismo, favoreciendo en esta forma el bienestar y la salud de los cafeteros. Además del control de la broca bajo el enfoque del MIP, se ha logrado mantener la alta calidad del café colombiano para beneficio de los consumidores mundiales, que no solo desean una buena taza de café, sino que esté libre de residuos tóxicos provenientes de malas prácticas durante su producción y procesamiento.

### Conclusiones

La broca del café es un problema muy serio para los caficultores y las investiga-

ciones se han enfocado abarcando múltiples aspectos con el fin de enmarcarlos dentro de un esquema de manejo integrado de la plaga, pero extendiéndolo hacia el enfoque de la finca cafetera, en la cual muchas prácticas del cultivo pueden incidir positiva o negativamente sobre este problema. Los avances de la investigación han permitido ofrecer al caficultor una serie de recomendaciones con las cuales pueda seguir produciendo café en presencia de la broca, pero aun hacen falta más progresos para incrementar la eficiencia de las recomendaciones.

En el campo del control biológico, es necesario explorar la introducción de nuevos insectos benéficos como *Heterospilus coffeicola*, y mejorar los sistemas de producción para hacerlos más económicos. Es importante dilucidar a través de tablas de vida bajo diferentes condiciones ecológicas lo que sucede con los parasitoides africanos de la broca, una vez que son liberados en los cafetales. En relación con los predadores, las hormigas juegan un papel muy importante y es necesario conocer más sobre sus hábitos alimenticios y de anidación para que se puedan manipular y lograr que prosperen en sitios donde no estén presentes. La eficiencia del hongo *B. bassiana* se puede mejorar mediante la producción de cepas transgénicas más virulentas y también con el uso de combinaciones de cepas que puedan tener una mayor eficacia en el campo.

Los entomonematodos pueden llegar a ser una herramienta para el control de poblaciones de broca que se encuentra en los frutos caídos en el suelo, sin embargo para implementarlos es necesario avanzar en investigaciones que conduzcan al desarrollo de procesos de cría masiva. Esta se puede enfocar a través de estudios con reactores o producirlos *in vivo* sobre tejidos de insectos.

En cuanto a las dietas artificiales, a pesar de que se puede producir en ellas la broca en una forma continua, para que sean útiles hay que desarrollar procesos mecanizados y demostrar que se puede producir la broca a costos más reducidos que los actuales.

### Agradecimientos

El autor expresa su sincero agradecimiento a la Federación Nacional de Cafeteros que a través de Cenicafe ha apoyado toda la investigación aquí relacionada y en especial al Dr. Gabriel Cadena Gómez, Director del Centro quien con su visión, liderazgo y confianza ha hecho que el tra-

bajo del grupo de la Disciplina de Entomología sea una realidad, para beneficio de las 560.000 familias cafeteras del país. También quiere reconocer las recomendaciones de los revisores anónimos que llamaron la atención sobre tópicos no considerados en el texto inicial, e hicieron importantes aportes al manuscrito.

### Literatura citada

- ABISAMBRA, A. 2004. Informe Gerente General, ICA. Oficina Asesora de Comunicaciones del ICA, Comunicado Febrero 23, 2004.
- ALVARADO, G.; MORENO G. 1999. ¿Cómo se distribuye anualmente la cosecha de las variedades Caturra y Colombia?. Cenicafe, Avances técnicos No. 260. 4 p.
- ÁLVAREZ, J. 1991. Despulpado de café sin agua. Cenicafe, Avances técnicos No. 164. 6 p.
- ALZATE, V. A. 1993. Rendimiento y porcentaje de infestación del café cereza atacado por broca. Cenicafe, Informe de labores no publicado, Chinchiná, 14 p.
- ANDREWS, K. L.; QUEZADA, J. R. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, 623 p.
- ANTIA, O. P.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E.; GONZÁLEZ, M. T. 1992. Producción en finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. Cenicafe, Avances técnicos No. 182. 12 p.
- ARCILA, J.; JARAMILLO, A.; BALDÍON, V.; BUSTILLO, A. E. 1993. La floración del café y su relación con el control de la broca. Cenicafe, Avances Técnicos No.193. 6 p.
- ARCILA, A.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 2006. Estudio de la cepa Bb9205 de *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. Revista Cenicafe, en prensa. 20 p.
- ARISTIZÁBAL, L. F. 2005. Investigación participativa en el manejo integrado de la broca del café. En: Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. p. 65-71.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; BAKER, P. S.; OROZCO, J.; CHÁVES, B. 1997. Parasitismo de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem sobre una población de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con niveles bajos de infestación en campo. Revista Colombiana de Entomología 23 (3-4): 157-164.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; BAKER, P. S.; OROZCO, J.; CHÁVES, B. 1998a. Efecto depredador del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae) sobre los estados inmaduros de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) en condiciones de campo. Revista Colombiana de Entomología 24 (1-2): 35-42.

- ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; OROZCO, J.; CHÁVES, B. 1998b. Efecto del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae) sobre las poblaciones de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) durante y después de la cosecha. *Revista Colombiana de Entomología* 24 (3-4): 149-155.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; SALAZAR, H. M.; MEJÍA, C. G. 2002. Cambios en la adopción de los componentes del manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) a través de metodologías participativas. *Revista Colombiana de Entomología* 28 (2): 153-160.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M.; TRUJILLO, H. I. 2004a. V Encuentro de caficultores experimentadores. Manejo integrado de la broca del café a través de investigación participativa. Convenio Colciencias-FNC-Cenicafé. Fundación Manuel Mejía, Chinchiná, septiembre 21 y 22 de 2004, 70 p.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; SALAZAR, H. M.; MEJÍA, C. G.; BUSTILLO, A. E. 2004b. Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores a través de investigación participativa. *Revista Colombiana de Entomología* 30 (2): 219-224.
- BACCA, R. T. 1999. Efecto del parasitoide *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyilidae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Tesis: Maestría en Ciencias Agrarias. Santafé de Bogotá. 186 p.
- BAKER, P. S. 1984. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomológica Mexicana* 62: 9-24.
- BAKER, P. S. 1989. A sampling plan for a control project against the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. *Tropical Pest Management* 35 (2): 169-172.
- BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; VALENZUELA, J. E. 1989. The distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Southern Mexico: a survey for a biocontrol project. *Tropical Pest management* 35 (2): 163-168.
- BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; RIVAS, A. 1992a. Life history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. *Journal of Applied Ecology* 29: 656-662.
- BAKER, P. S.; LEY, C.; BALBUENA, R.; BARRERA, J. F. 1992b. Factors affecting the emergence of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from coffee berries, Mexico, *Bulletin of Entomological Research* 82: 145-150.
- BAKER, P. S.; RIVAS, A.; BALBUENA, R.; LEY, C.; BARRERA, J. F. 1994. Abiotic mortality factors of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71: 201-209.
- BENAVIDES, P. 2005a. Aspectos genéticos de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. En: *Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología* (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. p. 23-26.
- BENAVIDES, P. 2005b. Distribución global de la broca del café: la versión molecular. En: *Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología* (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. p. 7-11.
- BENAVIDES, P.; CÁRDENAS, R. 1995. Experiencias de campo en manejo integrado de broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Memorias XXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología* (Socolen). Bogotá, 26-28 de julio. p. 74-78.
- BENAVIDES, P.; ARÉVALO, H. 2002. Manejo integrado: una estrategia para el control de la broca del café en Colombia. *Revista Cenicafé* 53 (1): 39-48.
- BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. 1994. Avances sobre el uso del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. *Revista Colombiana de Entomología* 20 (4): 247-253.
- BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C.; CÁRDENAS, R.; MEJÍA, C. G. 2002. Participación del control cultural, químico y biológico en el manejo de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología* 28 (2): 161-166.
- BENAVIDES, P.; VEGA, F. E.; ROMEROSEVERSON, J.; BUSTILLO, A. E.; STUART, J. 2005. Biodiversity and biogeography of an important inbred pest of coffee, coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Annals Entomological Society of América* 98 (3): 359-366.
- BERGAMIN, J. 1943. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*. 14: 31-72.
- BERNAL, M. G.; BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. 1994. Virulencia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y su eficacia en campo sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Colombiana de Entomología* 20 (4): 225-228.
- BORBÓN M., O.; MORA, A. O.; OEHL-SCHLAGER, A. C.; GONZÁLEZ, L. M. 2002. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Informe ICAFE, San José, Costa Rica, 18 p.
- BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D. M. 1989. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. *Journal of Economic Entomology* 82 (5): 1312-1316.
- BRUN, L. O.; STUART, J.; GAUDICHON, V.; ARONSTEIN, K.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. 1995. Functional haplodiploidy: a mechanism for the spread of insecticide resistance in an important international insect pest. *Proceedings National Academy of Sciences, U. S. A.* 92: 9861-9865.
- BUSTILLO, A. E. 1991. Perspectivas de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. *Sociedad Colombiana de Entomología* (Socolen), Medellín, Colombia. *Miscelánea No. 18* p. 106-118.
- BUSTILLO, A. E. 1995. Utilización del control biológico clásico en un programa de manejo integrado: El caso de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. En: *Memorias Curso Internacional Manejo Integrado de Plagas*, ICA- Universidad de Nariño, nov. 27-dic. 1, 1995, San Juan de Pasto, Colombia, p. 143-148.
- BUSTILLO, A. E. 2002. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. FNC - Cenicafé, Chinchiná, Colombia. *Boletín Técnico No. 24*. 40 p.
- BUSTILLO, A. E. 2004a. Un nuevo modelo de trampa para la captura de adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Nota Científica. Entomólogo* (Colombia) 32 (97): 2-4.
- BUSTILLO, A. E. 2004b. ¿Cómo participa el hongo *Beauveria bassiana* en el manejo integrado de la broca del café?. *Cenicafé. Brocarta No. 37*. Enero de 2004. 4 p.
- BUSTILLO, A. E. 2005. La comunicación en insectos. ¿Reciben mensajes de las plantas?: El caso de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). En: *Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología* (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. p. 57-85.
- BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. 1996. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 42: 1-13.
- BUSTILLO, A. E.; MARÍN, P. 2002. ¿Cómo reactivar la virulencia de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café?. *Hoja Técnica No. 40*. *Catie. Revista Manejo Integrado de Plagas*, No. 63. p. i-iv.
- BUSTILLO P., A.; MEJÍA 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, marzo 2003. *Cenicafé p. 14-18*.
- BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M. 2003. Captura de adultos de la broca del café en trampas con atrayentes. *Cenicafé. Brocarta No. 36*. Diciembre de 2003. 2p.
- BUSTILLO, A. E.; CASTILLO H.; VILLALBA, D.; MORALES, E.; VÉLEZ, P. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. *ASIC, 14e. Colloque*, San Francisco, U.S.A. p. 679-686.
- BUSTILLO, A. E.; VILLALBA, D. A.; CHÁVES, B. 1993. Consideraciones sobre el uso de insecticidas químicos en la

- zona cafetera en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. En: Memorias XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Cali, 13-16 de julio. p. 152-158.
- BUSTILLO, A. E.; VILLALBA, D.; OROZCO J.; BENAVIDES, P.; REYES, I. C.; CHÁVES, B. 1995. Integrated pest management to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. ASIC, 16e. Colloque, Kyoto, Japan, p. 671-680.
- BUSTILLO, A. E.; OROZCO J.; BENAVIDES, P.; PORTILLA, M. 1996. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. Revista Cenicafé 47 (4): 215-230.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS R.; VILLALBA, D.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA F. 1998. Manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 134 p.
- BUSTILLO, A. E.; BERNAL, M. G.; CHÁVES, B.; BENAVIDES, P. 1999. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) populations emerging from fallen coffee berries. Florida Entomologist 82 (4): 491-498.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J. 2002. Natural enemies and competitors of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Colombia. Neotropical Entomology 31 (4): 635-639.
- CAMAYO, G. C.; ARCILA, J. 1997. Desarrollo floral del café en condiciones de la zona cafetera colombiana (Chinchiná-Caldas). Cenicafé. Avances Técnicos, No. 245. 8 p.
- CANTOR, F.; VILELA E.; CURE, J. R.; BUSTILLO, A. E.; ARISTIZÁBAL, L. F. 2006. Interação entre o fungo entomopatogênico, *Beauveria bassiana* e o parasitóide *Phymastichus coffea* (La Salle) (Hymenoptera, Eulophidae) usado em o controle da broca-do-café. Neotropical Entomology en prensa.
- CÁRDENAS G., J. 1993. La industria del café en Colombia. Ensayos sobre la Economía Cafetera, 9: 3-15.
- CÁRDENAS, R. 1983. La arañita roja del café, *Oligonychus yothersi* McGregor. Avances Técnicos Cenicafé No. 110. 2 p.
- CÁRDENAS, R. 1985. La palomilla de las ramas del café *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae.). Cenicafé, Avances Técnicos No. 125. 2 p.
- CÁRDENAS, R. 1991. La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867). En: Seminario sobre broca del café. Socolen, Medellín, 21 de mayo de 1990. Miscelánea No.18 p.1-13.
- CÁRDENAS, R. 2000. Trampas y atrayentes para monitoreo de poblaciones de broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col., Scolytidae). En: SIMPOSIO Latinoamericano de Caficultura, 19. San José (Costa Rica), Octubre 2-6, 2000. Memorias. ICAFE-PROMECAFE, p. 369-379.
- CARDONA, G. E.; BUSTILLO A. E. 2006. Captura de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) usando trampas en tres densidades diferentes. Resúmenes XXXIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Manizales, 26-28 de julio. p. 133.
- CASTAÑO, A.; BENAVIDES, P.; BAKER, P. S. 2005. Dispersión de *Hypothenemus hampei* en cafetales zoqueados. Revista Cenicafé 56 (2): 142-150.
- CASTILLO, A.; BARRERA, J. F. 1998. Primer registro de nematodo parasitando a la broca del café en cafetales de México. En: II Reunión Intercontinental sobre la broca del café. Tapachula, Chiapas, México, 29 de marzo- 2 de abril, 1998, ARS, CABI Bioscience, ECOSUR, Programa y resúmenes, p. 47.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. 1994a. ¡Cuidado con los frutos secos en su cafetal!. Brocarta No. 26, octubre 30 de 1994. 2 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. 1994b. Recomendaciones para manejar el grano cosechado en el Re - Re de los lotes más infestados con broca. Brocarta No. 25, octubre 22 de 1994. 1 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ-Cenicafé. 1995a. ¿Cómo renovar cafetales que presenten infestaciones de la broca del café?. Brocarta No. 21, mayo 30 de 1995. 4 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. 1995b. Cosecha de lotes calientes. Brocarta No. 28, febrero 28 de 1995. 2 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. 1997. Influencia de las lluvias sobre la dispersión de la broca. Brocarta No. 32, septiembre 30 de 1997. 2 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ - Cenicafé. 1998. La broca del café y su relación con los fenómenos climáticos. Brocarta No. 34. febrero 28 de 1998. 4 p.
- CHAMORRO, T. G.; CÁRDENAS, R.; HERRERA, H. A. 1995. Evaluación económica y de la calidad en taza del café proveniente de diferentes sistemas de recolección manual, utilizables como control en cafetales infestados de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 46 (3): 164-175.
- COCHRAN, W. G. 1977. Sampling techniques. 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, 428 p.
- CONSEJO DE ESTADO. República de Colombia, Diario Oficial Expediente 5483/01 de 23 de marzo de 2001.
- CORBETT, G. H. 1933. Some preliminary observations on the coffee berry beetle borer *Stephanoderes (Cryphalus) hampei* Ferr. Malayan Agricultural Journal (Malaya) 21 (1): 8-22.
- DECAZY, B. 1990a. Descripción, biología, ecología y control de la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). p. 133-139. En: 50 años de Cenicafé 1938-1988, Conferencias conmemorativas. Chinchiná, Colombia. 255 p.
- DECAZY, B. 1990b. Niveles y umbrales de daños económicos de las poblaciones de la broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). p. 146-149. En: 50 años de Cenicafé, 1938-1988, conferencias conmemorativas. Chinchiná, Colombia. 255 p.
- DECAZY, B. 1990c. Métodos de muestreo para la determinación de poblaciones críticas de la broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). p. 140-145. En: 50 años de Cenicafé 1938-1988, conferencias conmemorativas. Chinchiná, Colombia. 255p.
- DÍAZ, Y.; MARÍN, H. F. 1999. Evaluación de los frutos de café dejados después de Las recolecciones durante un ciclo productivo del cultivo en dos municipios del Departamento de Caldas. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis: Ingeniero Agrónomo. Manizales. 96 p.
- DUFOUR, B. 2002. Importance du piégeage pour la lutte intégrée contre le scolyte du café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). Plantations, Recherche, Development, mai 2002, 5 p.
- DUQUE, H.; CHÁVES, B. 2000. Estudio sobre adopción del manejo integrado de la broca del café. Chinchiná (Colombia), Cenicafé, 90 p.
- ECHEVERRY, O. A. 1999. Determinación del impacto de *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), en la zona cafetera. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis Ingeniero Agrónomo. Palmira. 113 p.
- ELLIOTT, J. M. 1977. Statistical analysis of samples of benthic invertebrates. Freshwater Biological Association, Scientific Publication No. 25, 159 p.
- FAJARDO, I. E.; SANZ, J. R. 1999. Dinámica en los procesos de beneficio tradicional y ecológico, de los granos afectados por la broca del café. Revista Cenicafé 50 (2): 136-144.
- FFRENCH-CONSTANT, R. H.; STEICHEN, J. C.; BRUN, L. O. 1994. A molecular diagnostic for resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Bulletin Entomological Research 84: 11-16.
- FLÓREZ, E.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. 1997. Evaluación de equipos de aspersión para el control de *Hypothenemus hampei* con el hongo *Beauveria bassiana*. Cenicafé 48 (2): 92-98.
- GAITÁN, A.; VALDERRAMA, A.; SALDARRIAGA, G.; VÉLEZ, P.; BUSTILLO, A. E. 2002. Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. Mycological Research 106 (11): 1307-1314.

- GAVIRIA, A. H.; CÁRDENAS, R.; MONTOYA, E. C.; MADRIGAL, A. 1995. Incremento poblacional de la broca del café *Hypothenemus hampei* relacionado con el desarrollo del fruto del cafeto. *Revista Colombiana de Entomología* 21 (3): 145-151.
- GIL P., Z. N. 2005. Bioindicadores en agroecosistemas cafeteros. En: Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. Editorial Produmedios. p. 132-136.
- GIORDANENGO, P.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. 1993. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. *Journal Chemical Ecology* 19:763-769.
- GIRALDO, D. P. 2003. Comportamiento de entomonematodos en el control de poblaciones de broca en árboles de café. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 83 p.
- GÓNGORA, C. 2005. Avances en conocimiento y mejoramiento del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. En: Memorias XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Ibagué, 27-29 de julio. Editorial Produmedios p. 27-32.
- GÓNGORA, C. E.; WANG, C. E.; BARBEHENN, R. V.; BROADWAY, R. M. 2000. Chitinolytic enzymes from *Streptomyces albidoflavus* expressed in tomato plants: effects on *Trichoplusia ni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99: 193-204.
- GÓNGORA, B.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 2001. Detección molecular de un gen de resistencia al insecticida endosulfan en una población de broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en Colombia. En: Resúmenes XXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Pereira, 8-10 de agosto. p. 47-48.
- GONZÁLEZ, M. T.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafe*, 44 (3): 93-102.
- GUZMÁN, D. B. 1996. Efecto de varios insecticidas sobre el parasitoide de la broca del café *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae). Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis: Ingeniero Agrónomo. Manizales, Colombia. 131 p.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA. 1989. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Bol. Técnico No. 43, 4a ed., 662 p.
- JARAMILLO, A.; GUZMÁN, O. 1984. Relación entre la temperatura y el crecimiento en *Coffea arabica* L. variedad caturra. *Revista Cenicafe* 35 (3): 57-65.
- JARAMILLO, J.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. 2002. Parasitismo de *Phymastichus coffea* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei* en frutos de café de diferentes edades. *Revista Cenicafe* 53 (4): 317-326.
- JARAMILLO, J.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C.; BORGEMEISTER, C. 2005. Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) by *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. *Bulletin of Entomological Research* 95: 1-6.
- JIMÉNEZ, J. A. 1992. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Revista Cenicafe* 43 (3): 84-88.
- LARA, J. C.; LÓPEZ, J. C. 2005. Evaluación de diferentes equipos de aspersión para la aplicación de nemátodos entomopatógenos. *Revista Colombiana de Entomología* 31 (1): 1-4.
- LARA, J. C.; LÓPEZ, J. C.; BUSTILLO, A. E. 2004. Efecto de entomonematodos sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), en frutos en el suelo". *Revista Colombiana de Entomología* 30 (2): 179-185.
- LE PELLEY, R. H. 1968. Pests of coffee. Longmans, Green and Co. Ltd., London. 590 p.
- LÓPEZ N., J. C. 2002. Nemátodos parásitos de insectos y su papel en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). En: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico. Sección II. Parasitoides y otros enemigos de la broca. Cenicafe, Chinchiná, Colombia, marzo 18 al 22, 2002. p. 39-70.
- LÓPEZ-VAAMONDE, C.; BAKER P. S.; COCK M., J. W.; OROZCO J. 1997. Dossier on *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae, Tetrastichinae), a potential biological control agent for *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in Colombia. CABI, IIBC, Ascot, UK & Cenicafe, Chinchiná, Colombia. 23 p.
- MARÍN, P.; BUSTILLO, A. E. 2002. Producción artesanal de hongos entomopatógenos para el control de insectos plagas. En: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico. Sección I. Entomopatógenos de la broca del café. Cenicafe, Chinchiná, marzo 11 al 15 del 2002. p. 125-131.
- MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; FRÉROT, B. 1998. Identification of volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. *Journal Agricultural Food Chemistry* 46:1106-1110.
- MEJÍA, J. W.; BUSTILLO, A. E.; OROZCO, J.; CHÁVES, B. 2000. Efecto de cuatro insecticidas y de *Beauveria bassiana* sobre *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), parasitoide de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología* 26 (3-4): 117-123.
- MENDOZA, J. R. 1991. Reposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semiquímicos. Tese Magister Scientiae, Universidade Federal de Viçosa, Brazil. 44 p.
- MENDOZA, J. R.; GOMES DE LIMA J. O.; VILELA, E. F.; FANTÓN, C. J. 1999. Atratividade de frutos à broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari): estímulos visuais e olfativos. Anais. Londrina (Brasil), UFPR-IAPAR-IRD, 2000. p. 313-331.
- MESTRE, A.; OSPINA, H. F. 1994a. Estabilización de la producción en las fincas cafeteras. *Cenicafe*, Avances Técnicos No. 200. 4 p.
- MESTRE, A.; OSPINA, H. F. 1994b. Manejo de los cafetales para estabilizar la producción en las fincas cafeteras. *Cenicafe*, Avances Técnicos No. 201. 8 p.
- MESTRE, A.; SALAZAR, J. N. 1995. Producción de cafetales establecidos con una y dos plantas por sitio. *Cenicafe*, Avances técnicos No. 213. 2 p.
- MIGUEL, A. E.; PAULINI, A. E. 1975. Velocidade de penetração da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) no fruto do café. En: Congresso Brasileiro de pesquisas Cafeeiras, 3. Resumos. Curitiba, 18-21. Novembro 1975. Rio de Janeiro, IBC, p. 50-52.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ, J. C. 2002. Desplazamiento y parasitismo de entomonematodos hacia frutos infestados con la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Revista Colombiana de Entomología* 28 (2): 145-151.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ, J. C. 2003. Supervivencia y parasitismo de nemátodos entomopatógenos para el control de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas (España)* 29: 523-533.
- MONTOYA, S.; CÁRDENAS R. 1994. Biología de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en frutos de café de diferentes edades. *Revista Cenicafe* 45: 5-13.
- MORALES, E.; CRUZ, F.; OCAMPO, A.; RIVERA, G.; MORALES, B. 1991. Una aplicación de la biotecnología para el control de la broca del café. En: Colloque Scientifique International sur le Café, 14. San Francisco. 14-19 Juillet 1991, Paris, ASIC. p. 521-526.
- MORENO, D.; BUSTILLO, A. E.; BENAVIDES, P.; MONTOYA, E. C. 2001. Escape y mortalidad de *Hypothenemus hampei* en los procesos de recolección y beneficio del café en Colombia. *Revista Cenicafe* 52 (2): 111-116.
- MUÑOZ, R. 1988. Muestreo en fincas para determinar la población de broca (*Hypothenemus hampei* Ferr.) y metodología para calcular el nivel de daño económico. IICA, Boletín de PROMECAFE No. 38, p. 4-14.
- MUÑOZ, R. 1989. Ciclo biológico y reproducción partenogénica del cafeto, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). *Turrialba* 39 (3): 415-421.



- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, (NCA). 1969. Insect- pest management and control. Principles of plant and animal pest control, vol. 3. Publication 1695, Washington, D. C., 508 p.
- NARVÁEZ, M.; GONZÁLEZ, M. T.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B.; MONTOYA, E. C. 1997. Producción de esporas de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en diferentes sustratos. Revista Colombiana de Entomología 23 (3-4): 125-132.
- OLIVEROS, C. E.; ROA, G. 1995. El desmucilaginado mecánico del café. Cenicafé. Avances técnicos No. 216. 4 p.
- OLIVEROS, C. E.; SANZ, J. R.; RAMÍREZ, C. A.; ÁLVAREZ, J. R.; ROA, G.; ÁLVAREZ, J. 1995. Desmucilaginosos mecánicos de café. Cenicafé. Avances técnicos No. 217. 4 p.
- OROZCO, J. 1995. Uso de parasitoides de origen africano para el control de la broca en Colombia. Memorias XXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Bogotá, 26-28 de julio. p. 102-108.
- OROZCO, J. 2002. Guía para la producción del parasitoide *Phymastichus coffea* para el control de la broca del café. CFC - Cenicafé-Cabi Commodities, ICO, 19 p.
- OROZCO, J.; ARISTIZÁBAL, L. F. 1996. Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café. Cenicafé. Avances Técnicos No. 223. 4 p.
- ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEGA, F. E.; POSADA, F. J. 2004. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness, and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 5914-5918.
- PADILLA, G. N.; BERNAL, M. G.; VÉLEZ, P. E.; MONTOYA, E. C. 2000. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes órdenes insectiles. Revista Cenicafé 51 (1): 28-40.
- PERALTA, J. 1995 Diagnóstico de la labor de recolección y repase para el manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) por agricultores. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis: Ingeniero Agrónomo. Palmira. 71 p.
- PORTILLA, M. 1999a. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 50 (1): 24-38.
- PORTILLA, M. 1999b. Mass rearing technique for *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae) on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca artificial diet. Revista Colombiana de Entomología 25 (1-2): 57-66.
- PORTILLA, M. 2000. Development and evaluation of new artificial diet for mass rearing *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Revista Colombiana de Entomología 26 (1-2): 31-37.
- PORTILLA, M.; BUSTILLO, A. E. 1995. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. Revista Colombiana de Entomología 21 (1): 25-33.
- PORTILLA, M.; MUMFORD, J.; BAKER, P. 2000. Reproductive potential response to continuous rearing of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca-artificial diet. Revista Colombiana de Entomología 26 (3-4): 99-106.
- POSADA, F. J. 1993. Control biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con hongos. En: Memorias XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Cali, 13-16 de julio. p. 137-151.
- POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 1994. El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura Colombiana. Agricultura Tropical (Colombia) 31 (3): 97-106.
- POSADA, F. J.; OSORIO, E.; VELÁSQUEZ, E. 2002. Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café empleando el método de la aspersión foliar. Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 139-144.
- POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M. 2003. Seguimiento y captura de brocas usando trampas en cafetales. Cenicafé. Brocarta No. 35. Septiembre de 2003. 2 p.
- POSADA, F. J.; VILLALBA, D. A.; BUSTILLO, A. E. 2004. Los insecticidas y el hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. Revista Cenicafé 55 (2): 136-149.
- QUINTERO, C.; BUSTILLO, A. E.; BENAVIDES, P.; CHÁVES, B. 1998. Evidencias del establecimiento de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae) en cafetales del departamento de Nariño, Colombia. Revista Colombiana de Entomología 24 (3-4): 141-147.
- RABB, R. L.; GUTHRIE, F. E. 1970. Concepts of pest management. Proceedings of a conference held at North Carolina State University at Raleigh, March 25-27, 1970. 242 p.
- REYES, I. C.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 1995. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el parasitoide de la broca del café, *Cephalonomia stephanoderis*. Revista Colombiana de Entomología 21 (4): 199-204.
- RIVERA, H. 1997. Establezca coberturas nobles en su cafetal utilizando el selector de arvenses. Cenicafé, Avances técnicos No. 235. 8 p.
- RIVERA, H. 2000. El selector de arvenses modificado. Cenicafé, Avances técnicos No. 271. 4 p.
- RIVERA, A.; BUSTILLO, A. E.; MARÍN, P. 1994. Compatibilidad de dos aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuill., en mezcla con insecticidas usados en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Revista Colombiana de Entomología 20 (4): 209-214.
- RODRÍGUEZ, M. L.; GÓNGORA, C. E. 2005. Transformación de *Beauveria bassiana* cepa Bb9205 con los genes pr1A, pr1J y ste1 de *Metarhizium anisopliae* y evaluación de su patogenicidad sobre la broca del café. Revista Colombiana de Entomología 31:51-58.
- RUIZ, R. 1996. Efecto de la fenología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café; *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis: Ingeniero Agrónomo. Manizales, Colombia. 87 p.
- RUIZ, L.; BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J.; GONZÁLEZ M. T. 1996. Ciclo de vida de *Hypothenemus hampei* en dos dietas meréricas. Revista Cenicafé 47 (2): 77-84.
- SALAZAR, M. R.; ARCILA, J.; RIAÑO, N.; BUSTILLO, A. E. 1993. Crecimiento y desarrollo del fruto del café y su relación con la broca. Cenicafé. Avances Técnicos, No. 194. 4 p.
- SALAZAR, H. M.; BAKER, P. S. 2002. Impacto de liberaciones de *Cephalonomia stephanoderis* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 53 (4): 306-316.
- SALDARRIAGA, G. 1994. Evaluación de prácticas culturales en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis Ingeniero Agrónomo, Medellín. 57 p.
- SOUTHWOOD, T. R. E. 1978. Ecological methods, with reference to the study of insect populations. 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, 524 p.
- TAYLOR, L. R. 1984. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. Annual Review of Entomology 29: 321-357.
- TICHELER, J. H. G. 1963. Estudio analítico de la epidemiología del escolítido de los granos de café, *Stephanoderis hampei* Ferr., en Costa de Marfil (Traducción G. Quiceno). Revista Cenicafé 14 (4): 223-294.
- TRUJILLO, H. I.; ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M. 2006. Evaluación de métodos para cuantificar poblaciones de broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en fincas de caficultores experimentadores. Revista Colombiana de Entomología 32 (1): 39-44.
- VALDERRAMA, A. M.; CRISTANCHO, M. A.; CHÁVES B. 2000. Análisis de la variabilidad genética del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con marcadores RAPD. Revista Colombiana de Entomología 26 (1-2): 25-30.
- VALDÉS, B. E.; VÉLEZ, P. E.; MONTOYA, E. C. 1999. Caracterización enzimática

- patogenicidad de aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. Revista Cenicafé 50 (2): 106-118.
- VALENCIA M., C. A.; GIL P., Z. N.; CONSANTANTINO C., L. M. 2005. Mariposas diurnas de la zona central cafetera colombiana: guía de campo. Chinchiná (Colombia), Cenicafé- FNC- Colciencias, 244 p.
- VARAPRASAD, K. S.; BALASUBRAMANIAN, S.; DIWAKAR, B. J.; RAMA, R. C. V. 1994. First report of an entomogenous nematode, *Panagrolaimus* sp., from coffee-berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) from Karnataka, India. Plant Protection Bulletin 46: 2-3.
- VEGA, F.; BENAVIDES, P.; STUART, J. J.; O'NEIL, S. 2002. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Annals Entomological Society of America 95 (3): 374-378.
- VÉLEZ, M. 2002. Hormigas y su papel en el control biológico de la broca del café. En: Memorias Curso Internacional Teórico-Práctico. Sección II. Parasitoides y otros enemigos de la broca del café. Cenicafé, Chinchiná, marzo 18 al 22 del 2002. p. 15-23.
- VÉLEZ, P. E.; MONTOYA, E. C. 1993. Supervivencia del hongo *Beauveria bassiana* bajo radiación solar en condiciones de laboratorio y campo. Revista Cenicafé 44 (3): 111-122.
- VÉLEZ, P. E.; POSADA, F. J.; MARÍN, P.; GONZÁLEZ, M. T.; OSORIO, E.; BUSTILLO, A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico, No 17, Cenicafé, Colombia, 37 p.
- VÉLEZ, P. E.; GONZÁLEZ, M. T.; RIVERA, A.; BUSTILLO, A. E.; ESTRADA, M. N.; MONTOYA, E. C. 1999. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de la colección de Cenicafé. Revista Colombiana de Entomología 25 (3-4): 191-207.
- VÉLEZ, B. E.; JARAMILLO, A.; CHÁVES, B.; FRANCO, M. 2000. Distribución de la floración y la cosecha de café en tres altitudes. Cenicafé, Avances Técnicos, No. 272. 4 p.
- VÉLEZ, P. E.; ESTRADA, M. N.; GONZÁLEZ, M. T.; VALDERRAMA, A. M.; BUSTILLO, A. E. 2001. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62: 38-53.
- VERGARA, J. D.; OROZCO, J.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 2001a. Biología de *Phymastichus coffea* en condiciones de campo. Revista Cenicafé 52 (2): 97-103.
- VERGARA, J. D.; OROZCO, J.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 2001b. Dispersión de *Phymastichus coffea* en un lote de café infestado de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 52 (2): 104-110.
- VILLALBA, D. 1997. El uso de coadyuvantes para incrementar la eficacia de insecticidas en el control de la broca. Informe de labores no publicado, Disciplina de Entomología, Cenicafé, Chinchiná, Colombia. 15 p.
- VILLALBA, D. A.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 1995. Evaluación de insecticidas para el control de la broca del café en Colombia. Revista Cenicafé 46 (3): 152-163.
- VILLALBA, D. A.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. 2006. Eficacia de insecticidas para el control de la broca en relación con el desarrollo de los frutos de café. Revista Cenicafé, en prensa.

Recibido: 05-ago-06 • Aceptado: 02-oct-06

## Sección Agrícola

### Diagnóstico del manejo integrado de la broca, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), con caficultores caldenses

Diagnostic of integrated management of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), with coffee growers from Caldas

LUIS FERNANDO ARISTIZÁBAL A.<sup>1</sup>, JUAN CARLOS VÉLEZ S.<sup>2</sup>, CARLOS ALBERTO LEÓN B.<sup>3</sup>

**Resumen.** El Comité de Cafeteros de Caldas y Cenicafe diseñaron y aplicaron una encuesta a 513 caficultores del departamento con el propósito de conocer la situación actual del MIB aplicado por ellos en sus fincas. La encuesta fue de tipo personal semi estructurada, para diagnosticar el manejo de los diferentes componentes del MIB. Constó de 65 preguntas (20% aspectos generales, 65% componentes del MIB, 5% indicadores y 10% preguntas de opinión). Se aplicó en 218 veredas pertenecientes a 23 municipios. El 16,2% de los caficultores afirman tener problemas con la broca. El 94,3% realizan recolecciones frecuentes de frutos maduros. El 61,9% realiza muestreos de infestación de broca. Pero sólo 17,9% aplican el método recomendado por Federación. El 75,6% consideran que el control químico no es suficiente. El 62,3% aplican insecticidas y solamente el 32% utilizan productos categoría III. El 37,2% conoce los controles biológicos; sin embargo, solamente el 16,6% aplican *Beauveria bassiana*. En postcosecha el 60% implementan alguna medida de control pero no todas en su conjunto. En general el 49% de los caficultores basan el MIB en recolecciones oportunas y aplicaciones de insecticidas. La información obtenida servirá para hacer ajustes en los procesos de investigación y de transferencia relacionados con el MIB, para facilitarle a los caficultores su implementación.

**Palabras clave:** Broca del café. Manejo integrado de la broca. Adopción de tecnologías. Caficultores.

**Abstract.** The Caldas Committee of Coffee Growers and Cenicafe designed and applied a survey to 515 coffee growers in the department in order to know the current situation of coffee berry borer management (CBBM) applied on their farms. The survey was personal and semi-structured to diagnose the management of different CBBM components. It consisted of 65 questions (20% general aspects, 65% components of CBBM, 5% indicators and 10% opinion questions). It was applied in 218 divisions belonging to 23 municipalities. 16,2% of the coffee growers affirm having problems with CBB. 94,3% make frequent collections of mature fruits. 61,9% conduct CBB infestation surveys. But only 17,9% apply the method recommended by Cenicafe. 75.6% consider that chemical control is not enough. 62,3% apply insecticides and only 32% use category III products. 37, 2% know about biological control; however, only 16,6% apply *Beauveria bassiana*. In post harvest, 60% implement some control method but not all together. In general, 49% of the coffee growers base CBBM on opportune harvest and application of insecticides. The information obtained will serve to make adjustments in the investigation and transfer processes related with CBBM in order to facilitate implementation by coffee growers.

**Key words:** Coffee Berry Borer (CCB). Integrated Coffee Berry Borer Management. Technology adoption. Coffee growers.

#### Introducción

La caficultura colombiana ha jugado un papel muy importante en el desarrollo socioeconómico del país a lo largo de su historia. Se estima que aporta 800 mil empleos directos anualmente equivalentes al 40% del empleo del sector agropecuario (Cárdenas 1993). El café participó en el PIB total de 1991 con el 5,3% y en el PIB agropecuario con el

23,4% (Cárdenas 1993). Según el Censo Nacional Cafetero de 1997, más de 500 mil familias campesinas derivan su sustento económico a partir de la producción del café (FNC 1997). Caldas es considerado uno de los departamentos más productivos de café en Colombia, ubicándose en los primeros puestos por cantidad y calidad. Estas cifras muestran la importancia que presenta el cultivo del café en Colombia, por tanto, cualquier problema fito-

sanitario que se presente podría afectar significativamente este importante renglón de la economía nacional.

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), es considerada la plaga de mayor importancia económica en el ámbito mundial (Le Pelley 1968). Igualmente es el principal problema de la caficultura colombiana (Bustillo 2002;

1 Autor para correspondencia: Ingeniero Agrónomo, Especialista en Agroecología Tropical. Docente Entomología Económica. Fitotecnía. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. A. A. 275. Manizales. E-mail: aristizabalbioproteccion@yahoo.com

2 Ingeniero Agrícola. Disciplina de Ingeniería Agrícola, Cenicafe. juancarlos.velez@cafedecolombia.com

3 Ingeniero Agrónomo. Servicio de Extensión de Caldas, Seccional Risaralda; Tel. (0-68) 897070

Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998; Bustillo 1990). Para su control, Cenicafé ha desarrollado un programa de manejo integrado de la broca denominado MIB, el cual está constituido por componentes de control cultural como el Re-Re, componentes de control biológico como el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) control químico con insecticidas de categoría toxicológica III, muestreos para determinar los niveles de infestación de la plaga y prácticas de control durante la postcosecha (Bustillo 2002; Bustillo *et al.* 1998; Benavides y Cárdenas 1995; Bustillo 1990).

Los diferentes componentes del manejo integrado de la broca MIB, se han transferido a los caficultores a través del Servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros con el propósito de lograr que el caficultor continúe produciendo café pergamino seco tipo Federación, exportable, en presencia de la broca (Herrón 1998; Saldías 1996). Estudios realizados por Duque y Cháves (2000), indican que el índice promedio de adopción para la propuesta del MIB, vista integralmente es equivalente al 60%, cifra considerada alta, entendiendo que el manejo integrado de plagas es un concepto o una filosofía de manejo de plagas. Sin embargo, es posible mejorar la eficacia en la implementación de los componentes del MIB a través de metodologías participativas que le ayuden al caficultor a comprender e integrar eficientemente los diferentes componentes de control (Aristizábal *et al.* 2002a; Aristizábal *et al.* 2002b).

El objetivo de este diagnóstico fue obtener información que permitiera retroalimentar los procesos de investigación y de transferencia de tecnologías tendientes a mejorar la adopción del manejo integrado de la broca dado por los caficultores del departamento de Caldas.

### Materiales y Métodos

La encuesta de adopción sobre del manejo integrado de la broca del café dado por los caficultores de Caldas durante el año 2003, fue aplicada a 513 caficultores pertenecientes a 218 veredas localizadas en 23 municipios del departamento. Para realizar y analizar el diagnóstico el estudio se desarrolló en tres fases:

En la fase 1 se diseñó una encuesta piloto tipo personal semi estructurada, sobre los diferentes componentes del manejo integrado de la broca del café. La encuesta fue elaborada en conjunto con el Servicio de Extensión de Caldas y Cenicafé.

Esta fase se desarrolló entre marzo y mayo de 2003. La encuesta piloto se aplicó a 50 caficultores de Caldas seleccionados aleatoriamente, según los registros de caficultores de cada Comité Municipal de Cafeteros. Esta encuesta piloto se realizó con el propósito de hacer los ajustes correspondientes a las diferentes preguntas, para posteriormente elaborar la encuesta definitiva y aplicarla a un número mayor de caficultores del departamento según el tamaño de muestra recomendado para los estudios de adopción.

En la fase dos se hicieron los ajustes necesarios a la encuesta piloto. Posteriormente se elaboró la encuesta definitiva, con el apoyo de las Disciplinas de Entomología y Economía de Cenicafé. Finalmente se elaboró una encuesta formal de adopción la cual fue conformada por 65 preguntas que abarcaron diferentes matices: Aspectos generales y socioeconómicos (13 preguntas equivalentes al 20%), tales como localización de la finca, género, nivel de escolaridad, área de la finca, área en café, etc. Estas variables ayudan a explicar las demás variables relacionadas directamente con el manejo integrado de la broca dado por el caficultor. Sobre los diferentes componentes del MIB (42 preguntas equivalentes al 65%), estas preguntas del cuestionario son denominadas preguntas de hechos y hacen referencia a la posesión o realización de cierta actividad (Morineau 1994, citado por Duque y Cháves 2000); en este caso, se refieren directamente a las prácticas agronómicas relacionadas con el manejo integrado de la broca, métodos de control utilizados, las frecuencias y los criterios empleados para la toma de decisiones. Preguntas de opinión (siete equivalentes al 10%), fueron abiertas e hicieron referencia a la opinión que tenían los caficultores sobre los diferentes componentes del manejo integrado de la broca; tales como qué opinan del control biológico, de los métodos de muestreo, del uso de insecticidas, del Re-Re, etc. Finalmente se establecieron tres preguntas consideradas indicadores verificables (equivalentes al 5%). Estas preguntas permitieron determinar los niveles de infestación por broca en el campo y en café pergamino seco, al momento de aplicar la encuesta.

La fase dos se realizó durante los meses de junio a septiembre de 2003, con la colaboración de los técnicos del Servicio de Extensión del Comité Departamental de Cafeteros de Caldas. En esta fase se aplicó la encuesta a 513 caficultores del departamento.

El tamaño de la muestra se tomó basándose en la encuesta de adopción del manejo integrado de la broca realizada por Duque y Cháves (2000) a 400 caficultores localizados en 38 municipios de nueve departamentos de Colombia. Los caficultores se seleccionaron a través de un muestreo aleatorio simple, a partir del listado de caficultores cedulados de cada municipio, según los respectivos listados de los Comités Municipales de Cafeteros.

En la fase tres se realizaron los análisis estadísticos de la encuesta. Inicialmente la información fue tabulada en una hoja de cálculo Excel. Se aplicó estadística descriptiva a través del programa SAS (Statistical Analysis System 1998), para las variables continuas tales como, altitud de la finca, área de la finca, área en café, nivel de infestación por broca, etc. Se realizaron tablas de frecuencia y análisis porcentuales para las variables nominales y categóricas, tales como edad del caficultor, nivel de escolaridad, género, etc.

Para las variables denominadas usos de los componentes del MIB, se elaboraron tablas de frecuencias, las cuales sirvieron para explicar el uso relativo de cada uno de los componentes. En este caso las variables como: aplica muestreos de broca?, hace el Re-Re?, aplica el hongo *B. bassiana*?, aplica insecticidas?, hace control en postcosecha?, lleva registros de floraciones?, etc. Finalmente las respuestas de las preguntas de opinión se clasificaron por grupos afines (respuestas similares), que permitieron conocer las tendencias de opinión de los caficultores frente al uso de los diferentes componentes del MIB.

### Resultados y Discusión

**Aspectos socioeconómicos.** La mayoría de los caficultores encuestados pertenecen al género masculino (85,5%). En relación con el nivel de escolaridad se encontró que el 4,09 % no realizó ningún tipo de estudios, el 67,06% de los caficultores asistieron a la primaria, pero solamente el 17,06% realizaron la primaria completa (Fig. 1). El 14,81% asistió a alguno de los grados de la secundaria y sólo el 5,81% finalizó el bachillerato. El 2,34% realizó estudios superiores a nivel universitario o tecnológico. Finalmente el 8,58% asistió a diferentes cursos y capacitaciones distintos de la educación formal.

En general se puede afirmar que los caficultores presentaron bajo nivel de

escolaridad, situación desfavorable para tratar de entender todas las tecnologías relacionadas con los componentes del manejo integrado de la broca. Metcalf (1969) citado por Duque y Cháves (2000) afirma que la aceptación de una innovación es más rápida a medida que es mayor el nivel educativo del agricultor. Según Duque y Cháves (2000) a mayor educación formal del caficultor mayor es la probabilidad de adopción del MIB. Sin embargo, Aristizábal *et al.* (2002a) afirman que el nivel de escolaridad no fue un impedimento para observar cambios positivos por parte de pequeños caficultores frente al uso de los componentes del manejo integrado de la broca, debido especialmente al proceso de investigación participativa desarrollado por Cenicafé con caficultores. Situación que fue diferente frente a los procesos normales de transferencia de tecnologías, pero puede servir como una herramienta metodológica para facilitar los cambios de adopción.

Las fincas están localizadas en la zona cafetera del departamento de Caldas, a lo largo de las tres cordilleras, en altitudes

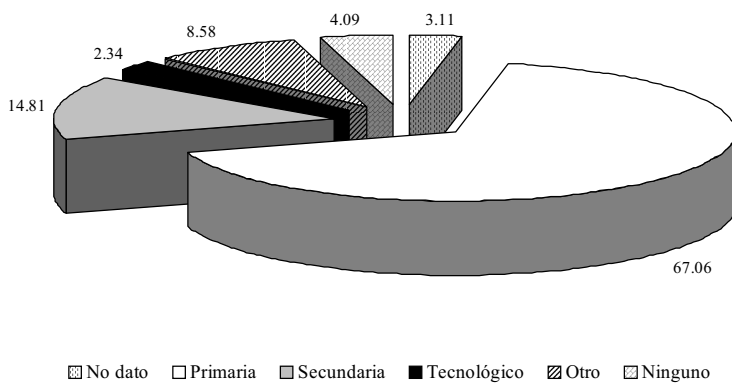
comprendidas entre los 950 y 2.100 msnm. El 10,33% de las fincas están localizadas en altitudes inferiores al 1.250 m; el 29,62% están localizadas entre 1.251 y 1.550 m y el 49,91% están localizadas en altitudes mayores al 1.551 m. En relación con el tamaño de las fincas el 43,46% son menores a tres hectáreas; fincas entre 3,1 y 5 ha el 19,49%; fincas entre 5,1 y 10 ha el 12,28%; fincas entre 10,1 y 20 ha el 10,91% y fincas mayores a 20,1 ha el 8,57%. En general se observa que la mayoría de los predios corresponden a fincas pequeñas (inferiores a 5 ha) y medianas (entre 5 y 20 ha). Situación que es similar a los datos de la Encuesta Nacional Cafetera en la cual se encontró que el 86% de los predios cafeteros son pequeños (Herrón 1998; FNC 1997), igualmente Duque y Cháves (2000) en la encuesta de adopción del MIB encontraron que el 70,5% de los predios corresponden a fincas pequeñas.

Frente a la pregunta ¿Qué dificultades tiene usted para producir café?, se encontraron las siguientes respuestas: El 16,17% de los caficultores manifestaron tener dificultades con la broca, el 13,64%

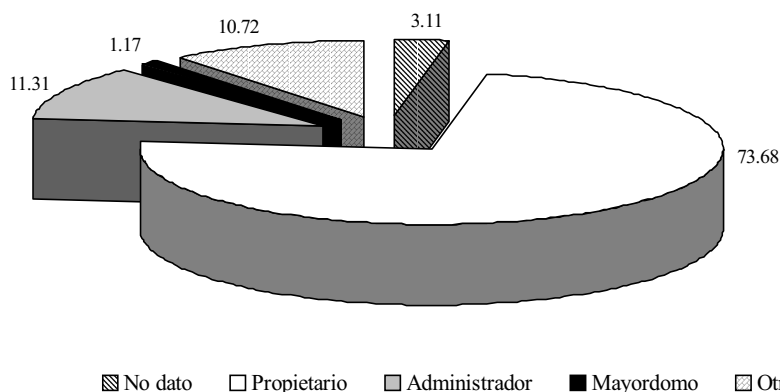
económico, el 11,11% fitosanitarios diferentes a broca, el 7,41% climático, el 1,56% otros y finalmente el 50,10% manifestaron no tener ninguna dificultad. La broca del café continúa siendo uno de los principales problemas de la producción de café en Caldas.

**Aspectos tecnológicos del MIB.** En relación con la toma de decisión para el control de la broca, los resultados se presentan en la figura 2. El mayor valor corresponde a los propietarios seguido de los administradores. El 91,81% de los caficultores tienen la finca dividida en lotes productivos de café de diferente edad. Esta situación favorece el manejo administrativo de la finca, facilita las prácticas agronómicas y particularmente el manejo de la broca. El 77% de las fincas tienen lotes de café en etapa de levante (menores a dos años de edad), a través de renovaciones por zoca o por siembra nueva. Esta situación refleja la acogida por parte de los caficultores del programa nacional de renovación establecido por la Federación durante los últimos cuatro años. La renovación de los cafetales incrementa la producción y facilita el manejo de la broca debido a la ausencia de la plaga en el lote durante los primeros 18 meses de establecimiento del cafetal, época en la cual no se presentan frutos de café.

Para conocer el manejo integrado de la broca (MIB) que está aplicando el caficultor, a continuación se analiza la aplicabilidad de cada uno de los diferentes componentes del MIB (muestreos, controles culturales, biológico, químico y en postcosecha). Frente a los muestreos para determinar los niveles de infestación por broca en el campo, se encontró que el 61,99% de los caficultores aplica algún método de muestreo y solamente el 17,93% realiza el método de muestreo de las 30 ramas recomendado por Federación. El 37,23% no aplica ningún método de muestreo. El 48,54% de los caficultores aplican su propio método de muestreo, el cual consiste en hacer observaciones dentro de los cafetales mientras realizan algunas labores como la recolección. Ellos en forma cualitativa y empírica definen si tiene altas poblaciones de broca que ameriten aplicar o no algún insecticida. El 36,06% de los caficultores realizan muestreos quincenalmente, el 15,2% mensualmente y el 18,13% cada dos o más meses. El 82,45% de los caficultores consideran que es útil hacer muestreos para determinar las infestaciones de broca. Sin embargo, muy pocos lo hacen en forma eficiente.



**Figura 1.** Porcentaje del nivel de escolaridad de los caficultores de Caldas que participaron en la encuesta sobre el manejo integrado de la broca del café.



**Figura 2.** Persona que toma las decisiones sobre los métodos de control a implementar en el MIB, dado en porcentaje.

Dentro de un programa de manejo integrado de plagas, es importante realizar frecuentemente muestreos para determinar los niveles de infestación de las plagas y sobre la base de ellos, tomar decisiones sobre las medidas de control más apropiadas para dicho momento. Al respecto Bentley *et al.* (2002) afirman que en el ámbito mundial los pequeños agricultores tienden muy poco a adoptar los métodos de muestreos. Según Uribe (1996) citado por Duque y Cháves (2000), en una encuesta aplicada a 60 técnicos del Servicio de Extensión de la Federación, el 68% de ellos manifestaron tener dificultades para hacer la transferencia referente a la evaluación de los niveles de infestación de la broca. Según Duque y Cháves (2000), solamente el 11,41% de los caficultores evalúan eficientemente los niveles de infestación de broca, situación similar a los resultados encontrados en esta encuesta. Se puede afirmar que a pesar de la importancia que tienen las evaluaciones de infestación de broca para la toma de decisiones, se presentan dificultades con la aplicabilidad del método de muestreo recomendado por la Federación, muy posiblemente debido al bajo nivel de escolaridad de los caficultores. Al respecto Duque y Cháves (1995 y 2000) afirman que a medida que los caficultores tienen un nivel educativo formal igual o superior a la primaria completa, la tendencia a adoptar el MIB es mayor.

En relación con el control cultural de la broca, se tienen varias prácticas agromónicas. El Re-Re es considerado la columna vertebral del manejo integrado de la broca (MIB), (Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998). Se entiende por Re-Re convencional mantener los cafetales sin frutos maduros, sobremaduros y secos mediante recolecciones oportunas y repases permanentes (FNC 1995). En la encuesta se encontró que el 94,35% de los caficultores están aplicando el Re-Re, cada 15 a 20 días según se presente la maduración de los frutos. El 2,34% lo aplican mensualmente. La evaluación de la eficacia de esta labor de recolección es realizada por el 49,71% de los caficultores, consiste en cuantificar en diez árboles, el número de frutos maduros sobremaduros y secos dejados después de cada pase de cosecha, adicionalmente el 45,22% manifiesta realizarla en el plato del árbol, mediante la recolección los frutos de café caídos al suelo después de cada pase de cosecha. Estas dos evaluaciones son realizadas quincenalmente por el 38,79% de

los caficultores y mensualmente por el 5,46%.

El componente de control cultural Re-Re, presenta la mayor adopción y se entiende como la labor de control que más ayuda a reducir y a regular las poblaciones de broca en el campo (Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998; Benavides y Cárdenas 1995). Varios autores afirman que el Re-Re es el componente del MIB que mayor adopción ha presentado por parte de los caficultores (Aristizábal *et al.* 2002a; Duque y Cháves 2000). Su alta adopción es debida al beneficio que obtiene el caficultor al aplicarlo. Sin embargo, la mayoría manifiestan que es una labor costosa pero necesaria para lograr vender las cosechas con bajas poblaciones de broca y evitar pérdidas económicas. Igualmente la recolección es una práctica que el caficultor ha realizado normalmente a lo largo de toda la historia, por tanto, es una labor a la cual el caficultor ya ha estado acostumbrado. Esta situación facilitó el proceso de adopción del Re-Re, después de llegada la broca del café a Colombia en 1988, haciéndose ajustes en la frecuencia de la recolección y en la eficacia de esta labor (Bustillo 2002; Duque y Cháves 2000).

En general se puede afirmar que este componente de control está ampliamente adoptado por los caficultores de Caldas. Sin embargo, es necesario buscar herramientas de transferencia que ayuden a mejorar la eficacia de la labor por parte de los caficultores y especialmente por parte de los recolectores de café, que generalmente corresponde a mano de obra familiar para el caso de los pequeños caficultores y a mano de obra transitoria contratada en las fincas medianas y grandes.

En relación con el componente de control biológico se tiene el hongo *B. bassiana*, considerado uno de los enemigos naturales que causa mayor mortalidad de la broca, persiste en el ambiente y se ha reportado en todos los países productores de café con presencia de broca (Bustillo *et al.* 1998; Posada y Bustillo 1994). También se tienen los parasitoides de origen africano *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem), *Prorops nasuta* (Waterston) y *Phymastichus coffea* (La Salle). Estos tres himenópteros de las familias Bethyilidae y Eulophidae han sido introducidos al país y se han multiplicado a través de métodos de cría masiva en laboratorios, con el propósito de liberarlos y establecerlos en las zonas cafeteras con broca (Orozco y Aristizábal 1996). A pesar de

tenerse resultados satisfactorios sobre su establecimiento y eficacia (Aristizábal *et al.* 2004; Jaramillo 2002; Vergara *et al.* 2001; Bacca 1999; Bustillo *et al.* 1996), los costos de producción son altos y por tanto no son económicamente viables para los caficultores (Aristizábal 2002; Baker 1999; Bustillo *et al.* 1996). Por tanto, no están incluidos dentro del MIB como un componente del control biológico disponible para los caficultores.

Al preguntarle a los caficultores si conocen los controladores biológicos para la broca, el 37,62% manifestaron conocerlos, el 23% no conocerlos y el 39,37% no respondieron. Es posible que esta pregunta quedara mal planteada o fue mal interpretada por los caficultores, ya que el porcentaje que no respondieron fue alto. El 16,6% manifestaron haber aplicado el hongo *B. bassiana* durante el año 2003, el 3,2% aplicaron otros biológicos y el 59,1% no aplicó ninguno. El 8,38% realizan evaluaciones para cuantificar la eficacia del hongo, mediante la observación de frutos infestados que presenten broca con signos de esporulación del hongo (motas blancas). El 30,02% de los caficultores que han aplicado hongo consideran que este control biológico es eficaz para el control de la broca, el 33% consideran que no lo es, debido especialmente a que es un agente de control de acción lenta y el 34% restante afirman que es indiferente, debido a que de todos modos deben de tomar otras medidas de control como el Re-Re y los insecticidas para reducir las poblaciones de la broca.

Estos resultados coinciden con varios autores que afirman que el hongo ha presentado baja adopción. Duque y Cháves (2000) encontraron que el 63,51% de los caficultores no aplica el hongo *B. bassiana* y solamente el 12,61% lo aplican en forma eficiente. Según Bentley *et al.* (2002) en el ámbito mundial la mayoría de los campesinos desconocen la importancia de los enemigos naturales de los insectos plagas. Igualmente Aristizábal *et al.* (2002b) afirman que los caficultores tienen dificultades para entender la forma de acción del hongo sobre la broca, sin embargo, a través de analogías se facilita el proceso de aprendizaje de los caficultores; como ejemplo: tipos de enfermedades que causan mortalidad en el ser humano. Igualmente a través de talleres teórico prácticos con caficultores, se ha comprobado los efectos del hongo sobre las poblaciones de broca, estimando la mortalidad real que se presenta en campo; estas herramientas

metodológicas facilitan los procesos de transferencia de tecnologías (Posada *et al.* 2003). A pesar de que la adopción es baja, debido a la dificultad para entender su forma de acción, también es cierto que la utilización del hongo ha ganado un espacio dentro del manejo de plagas en la zona cafetera (Duque y Cháves 2000).

En relación con el uso de insecticidas se tienen los siguientes resultados: el 62,38% de los caficultores aplican insecticidas para el control de la broca y el 36,84% manifiestan no aplicarlo, debido a que no lo consideran necesario o no tienen los recursos económicos para comprarlos. De los caficultores que aplican insecticidas, el 34,7% lo hacen en forma generalizada en todos los lotes productivos de café de la finca y el 24,17% hacen aplicaciones localizadas, es decir, en los focos o puntos calientes, los cuales corresponden a los sitios del cafetal con mayor población de broca. El 5,07% combinan ambas formas de aplicación (generalizado o localizada) según las necesidades del momento.

En relación con los criterios que tienen los caficultores para tomar la decisión de hacer una aplicación de insecticida se tiene los siguientes: 1- Según el nivel de infestación el 14,23%; 2- Según el grado de penetración de la broca en el fruto 4,29%; 3- Según los registros de floración 15,2%; 3- Ningún criterio 14,42%. Igualmente el 8,39% manifiestan que hacen aplicaciones cuando tiene niveles de infestación de broca inferiores al 2%; el 8,59% cuando tienen infestaciones entre 2,1 y 5%. Según el grado de penetración de la broca en el fruto (posiciones AB y CD), el 4,8% de los caficultores aplican cuando la broca viva en AB presenta valores iguales o mayores al 50% y el 5,26% manifiestan que aplican aún cuando la broca viva en AB es inferior al 50%. Para garantizar una mayor eficacia biológica al aplicar un insecticida, es necesario que mínimo el 50% de la broca viva esté expuesta, es decir en la posición AB (iniciando el ataque al fruto). Cuando la broca viva está en la posición CD (dentro de la almendra), ningún producto químico tiene la capacidad de penetrar hasta allí y por tanto no puede causarle la muerte. Frente a estos resultados se puede afirmar que un porcentaje bajo de caficultores (18,52%) está utilizando un criterio adecuado para la aplicación de insecticidas. Esta situación está relacionada con la baja adopción del muestreo para evaluar el nivel de infestación por broca recomendado por la Fed-

eración, el cual es realizado por el 17,93% de los caficultores de Caldas.

Entre los insecticidas utilizados por los caficultores se tienen los siguientes: El Endosulfán con 16,57% siendo uno de los productos más utilizados a pesar que actualmente está prohibido para ser importado, distribuido y aplicado en Colombia. El Clorpirifos con el 19,88%, el Fenitotrión con el 11,11%, otros productos con el 1,75% y la combinación de varios de los anteriores por el 11,89%. De los caficultores que realizan aplicaciones de insecticidas el 43,83% hacen evaluaciones para determinar la eficacia de la aplicación y el 21,05% no lo hacen argumentando que no saben hacerlo o por descuido. El 36,35% de los caficultores utiliza implementos de seguridad (careta, gafas, guantes, gorra etc.) durante la aplicación de los insecticidas y el 27,7% no los utilizan, argumentado que son muy incómodos de usar. Finalmente el 43,55% de los caficultores realizan entre una y dos aplicaciones de insecticidas al año, el 14,25% entre tres y cinco aplicaciones y el 1,75% más de seis aplicaciones.

Según Duque y Cháves (2000), el 75,37% de los caficultores realizan aplicaciones de insecticidas, el 15,57% lo hacen por focos en forma eficiente, el 23,91% lo hacen en forma generalizada y el 35,86% hacen aplicaciones en forma deficiente. Según un diagnóstico de investigación participativa realizado en 1998, con pequeños caficultores de Caldas, Quindío y Risaralda se encontró que el 80% de los caficultores realizaban aplicaciones de insecticidas especialmente en forma generalizada (Bentley *et al.* 2002). Según Aristizábal *et al.* (2002a), el 80% de los caficultores que aplican insecticidas realizan entre una y cuatro aplicaciones al año, el 85% aplica en forma generalizada, sin criterio técnico, es decir, sin evaluar los niveles de infestación y de posición de la broca en los frutos y los productos más utilizados son el Endosulfán seguido por el Clorpirifos y el Fenitotrión. Duque y Cháves (1995) encontraron que el 76% de los caficultores realiza aplicaciones de insecticidas y el 70% de ellos lo hacen en forma generalizada.

En general la adopción del uso de insecticidas en Caldas es alta, pero su aplicación en forma eficiente es baja ya que los caficultores no tienen claridad sobre los criterios técnicos que se requiere para hacer una aplicación eficiente y oportuna. Por tanto, Cenicafé y el Servicio de Extensión de la Federación, deben de uti-

lizar nuevas estrategias para la transferencia de tecnologías que le permitan al caficultor entender y mejorar todos los aspectos relacionados con el uso adecuado, eficiente y racional de los insecticidas recomendados para el control de la broca del café.

Frente a la pregunta: ¿El control químico es suficiente para el control de la broca del café?, el 75,63% de los caficultores manifestaron que no lo es y el 16,73 que sí. Estos resultados demuestran que un porcentaje considerable de los caficultores han entendido que el manejo integrado de la broca es una combinación de métodos de control en forma adecuada y oportuna. Por tanto, el éxito del MIB depende de la utilización combinada de dos o más componentes de control.

Dentro del manejo integrado de la broca se tiene el control en postcosecha. Este componente se basa en prácticas culturales y controles físicos tendientes a evitar el escape de las brocas adultas que emergen una vez se han cosechado los frutos maduros, durante la labor de recolección y en el proceso de beneficio (Bustillo *et al.* 1998; Cenicafé 1994). Castro *et al.* (1998) observaron escapes de brocas adultas durante todas las etapas del proceso del beneficio. Bustillo *et al.* (1998) han planteado varias recomendaciones evaluadas en Cenicafé para el control de la broca durante la cosecha y el beneficio, las cuales han sido transferidas a los caficultores a través del Servicio de Extensión.

En relación con la implementación de medidas de control durante la cosecha y el beneficio se tienen los siguientes resultados: El 17,93% de los caficultores acostumbra amarrar los costales durante la labor de recolección; el 1,16% ha implementado las tapas plásticas impregnadas con grasa en la tolva de recibo de café cereza y en la fosa de almacenamiento de la pulpa de café; 13,06% hacen tratamiento de las pasillas con agua caliente o sumergiéndolas en una caneca con solución de algún insecticida; el 0,78% tienen marquesina para el secado de las pasillas. Al verificar la implementación de este componente de control de broca en postcosecha y beneficio, se encontró que el 60,04% de los caficultores que manifestaron aplicar una o más prácticas de este componente, efectivamente las estaban implementando.

Según Duque y Cháves (2000), el 46,09% de los caficultores no hace ninguna labor de control de broca en postcosecha,

solo el 13% estaban implementando alguna medida de control en forma eficiente y permanente, el 41% estaban implantado alguna medida pero en forma inconsistente. Varios autores coinciden en afirmar que la implementación de estas medidas de control tiene baja adopción por parte de los caficultores (Aristizábal *et al.* 2002a; Duque y Cháves 2000). Sin embargo, a través del proyecto de investigación participativa realizado con pequeños caficultores de Caldas, Quindío y Risaralda se logró observar cambios en la implementación de tapas plásticas en la tolva y en la fosa, siendo usadas por el 7% de los caficultores en 1998 y posteriormente por el 79% en el año 2000 (Salazar *et al.* 2003).

En relación con llevar registros de floración para establecer la edad de los frutos y conocer la época crítica a partir de la cual los frutos son susceptibles de ser atacados por la broca, se encontró que sólo el 8,97% de los caficultores están utilizando esta herramienta de información. El 38,80% lleva diferentes registros de actividades como costos, producción, ventas y floración y el 40,16% manifiestan no llevar ningún tipo de registros argumentando que no son importantes para ellos. En la verificación de esta respuesta se encontró que el 63,35% de los caficultores que manifestaron llevar algún registro de información efectivamente lo estaban realizando. Según Duque y Cháves (2000) la mayoría de los caficultores (70,68%) no utilizan los registros de floración, solo el 21% los llevan con el propósito de facilitar el manejo de la broca o para la planificación de la cosecha.

Una práctica de control que es muy importante durante la eliminación de los árboles de café viejos que han finalizado su ciclo productivo, es dejar los árboles trampa en los bordes y en el centro de los lotes eliminados, para evitar el escape de brocas adultas presente en los frutos que caen al suelo antes y durante la labor de zoqueo. Estos árboles deben tener frutos en las ramas para que la broca que emerge los colonice y se evite la reinfestación de lotes productivos de café vecinos al sitio de zoqueo.

Estudios de Cenicafé han demostrado que de lotes renovados por zoca pueden emerger entre 1,5 a 2 millones de brocas adultas por hectárea, durante más de 100 días posteriores al zoqueo y por tanto, se deben tomar algunas medidas de control que ayuden a evitar las reinfestaciones de broca (Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998; Cenicafé 1994).

En relación con dejar los árboles trampa durante la labor de eliminación o renovación de los cafetales por zoca, el 51,66% de los caficultores manifestaron hacer esta práctica y el 47,95% manifestaron no hacerla. Sin embargo, de los caficultores que dejan los árboles trampa, el 35,28% realiza la recolección de los frutos en estos árboles cada ocho o quince días y no necesariamente realizan algún tratamiento para eliminar los frutos infestados. A pesar de conocer la importancia que tiene la renovación de los cafetales, no solo en el control de la broca sino también en el incremento de la producción de café, los caficultores no están implementando debida y oportunamente las recomendaciones que la Federación ha hecho al respecto (Aristizábal *et al.* 2002c).

**Indicadores medidos.** La evaluación de la eficacia de la labor de recolección fue uno de los indicadores de la encuesta que se aplicó a los caficultores en Caldas. Al respecto se encontró que el 45,22% de los lotes de café evaluados presentaron menos de cinco frutos entre maduros a secos dejados en promedio por árbol después de un pase de recolección, el 21,24% de los lotes presentaron entre cinco y diez frutos dejados y en el 10,91% de los lotes se dejaron más de diez frutos. En el plato de los árboles se encontró 45,61% de los lotes con menos de cinco frutos caídos al suelo en promedio, 20,66% entre cinco y diez frutos y 7,4% con más de diez frutos. Estos resultados indican que cerca de la mitad de los caficultores realizan una buena labor de recolección al dejar menos de cinco frutos en promedio por árbol. Adicionalmente un porcentaje considerable de caficultores (21,24%) realiza una recolección regular al dejar entre cinco y diez frutos y solamente el 10,91% realizan la labor de recolección en forma deficiente al dejar más de diez frutos maduros a secos en promedio por árbol.

Uno de los indicadores de importancia evaluados al aplicar la encuesta, fue determinar los niveles de infestación del café pergamino seco, basados en los recibos de venta de café en las Cooperativas o de los recibos de venta en los puntos de compra particulares de café. El 24,26% de los caficultores vendieron café pergamino seco con niveles de infestación por broca inferior al 2,5%, es decir, de buena calidad, tipo Federación. El 13,89% vendieron café con niveles entre 2,6 y 5%, es decir café corriente. El 11,15% vendieron café con niveles de infestación superiores

a 5,1%, es decir, tuvieron reducción en el precio de venta ocasionándole pérdidas económicas al caficultor por efecto de la broca. El 50,49% de los caficultores no tenía recibos de venta de café al momento de aplicar la encuesta. Esta situación es coherente con la poca costumbre que tienen los caficultores de no llevar registros de información. Sin embargo, este indicador demuestra que un porcentaje considerable de caficultores (38,15%) está obteniendo buenos resultados con la implementación del MIB que está aplicando en su finca.

Los técnicos del Servicio de Extensión de Caldas que aplicaron la encuesta, consideran que el 43,75% de los caficultores están implementado en forma eficiente y adecuada el MIB, el 42,12% lo hacen en forma regular y el 8,59% lo aplican en forma deficiente. Estos resultados son satisfactorios ya que la mayoría están aplicando eficientemente el MIB. Sin embargo, se requieren más esfuerzos por parte de Cenicafé y el Servicio de Extensión en relación con la transferencia del MIB, para que la mayoría de los caficultores puedan continuar produciendo café exportable tipo Federación, aún con la presencia de la broca en sus fincas.

Opiniones de los caficultores sobre los componentes del MIB. El 52,63% de los caficultores consideran que el "Re - Re" es el componente de control más eficiente para el manejo de la broca. El 13,45% manifiestan que el uso de insecticidas es el componente más eficiente en el control y el 32,16% de los caficultores consideran que ningún componente por sí solo es eficiente para controlar la broca. Frente a la pregunta: ¿Qué componentes del MIB combina?, el 49,02% de los caficultores manifestaron combinar la recolección y el uso de insecticidas; el 5,88% combina la recolección, el hongo y los insecticidas; el 4,31% combina recolección y aplicaciones del hongo; el 2,35% combina recolección y control en postcosecha y finalmente el 30,98% de los caficultores manifestaron no combinar ningún componente del MIB, posiblemente no entendieron la pregunta. Estos resultados indican que la mayoría de los caficultores (61,56%) han comprendido que el MIB es una combinación adecuada de diferentes prácticas para el control de la broca y no una sola medida de control en particular.

Frente al control cultural "Re - Re", los caficultores manifiestan como opiniones: "Reduce las poblaciones de broca, no se deja multiplicar la broca, tiene un efec-



to rápido y ocasiona alta mortalidad, le quita la comida a la broca, es el mejor control y no contamina, es una labor oportuna y permanente.” En relación con el uso de insecticidas se tienen los siguientes comentarios: “Mata solo lo que está afuera, no es suficiente, debe de ser combinado con el Re - Re, si no se fumiga no sale buen café, baja la infestación rápidamente, no mata toda la broca, no es efectivo, acaba con otros insectos, no siempre es necesario, etc.”

En relación con el uso de agentes biológicos (hongo *B. bassiana*) los caficultores manifiestan las siguientes opiniones: “No lo conoce, no se ve como trabaja, controla poco y no se ven los mismos resultados que con el químico, dura más en el cafetal, persiste en la finca pero es muy lento, no contamina el ambiente ni afecta a los operarios, ayuda a controlar la broca, es una medida complementaria, etc.”.

En relación con los muestreos para determinar los niveles de infestación se tienen los siguientes comentarios: “Sirven para saber que broca hay en el cafetal, saber que lotes están más afectados, saber qué medida tomar, determina focos, no es importante, quita tiempo y requiere paciencia, ahorra costos, ahí está la utilidad del caficultor, etc.”

Finalmente frente a la pregunta: ¿Qué se puede hacer para mejorar el MIB?; los caficultores hicieron los siguientes comentarios: “Mantener café nuevo, renovar, recolección a tiempo y permanente, mejorar en el manejo del beneficio, contar con insecticidas más eficaces, campañas educativas para los recolectores, ser más oportunos en el control, conocer mejor el control biológico e implementarlo, trabajar en equipo con todos los vecinos, mayor solidaridad de los vecinos, administración permanente de la finca y concientizar al trabajador, etc.”

### Conclusiones

Los caficultores del departamento de Caldas están implementando un MIB basándose especialmente en las recolecciones oportunas de frutos maduros y en aplicación de insecticidas. El control cultural “Re-Re” es el componente del MIB de mayor adopción por parte de los caficultores. La mayoría de los caficultores (62,38%) está utilizando insecticidas para el control de la broca; sin embargo, solamente el 18,52% lo está realizando con criterios técnicos y en forma eficiente. Los muestreos para determinar los niveles de infestación por broca

en el campo, el uso de agentes de control biológico como el hongo *B. bassiana* y la implementación de medidas de control en el proceso del beneficio del café, son los tres componentes del MIB que presentaron menor adopción por parte de los caficultores de Caldas. Según los técnicos del Servicio de Extensión, el 43,75% de los caficultores está implementando en forma eficiente el MIB. Sin embargo, es necesario desarrollar nuevas herramientas metodológicas en los procesos de transferencia, que permitan mejorar la aplicabilidad e implementación eficiente del MIB, que sea viable técnica, económica y ecológicamente.

### Agradecimientos

A los caficultores de Caldas que participaron en la encuesta. A los técnicos del Servicio de Extensión del Comité de Cafeteros de Caldas, por su valiosa colaboración. Al Dr. Rubén Mejía M. Director División Técnica – Comité Caldas, por facilitar la ejecución de la encuesta. Al personal auxiliar y profesional de la Disciplina de Entomología de Cenicafé. A los Drs. Alex Enrique Bustillo P., Hernando Duque O. y Esther Cecilia Montoya R., de las Disciplinas de Entomología, Economía y Biometría de Cenicafé, respectivamente, por su asesoramiento. Al Convenio Colciencias- FEDERACAFÉ-Cenicafé, por financiar el proyecto “Investigación participativa con pequeños caficultores para el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari)”.

### Literatura citada

ARISTIZÁBAL A., L. F. 2002. Revisión sobre el estado actual de la investigación de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café CENICAFÉ. MEMORIAS, Curso Internacional Teórico – Práctico sobre Entomopatógenos, Parasitoides y otros Enemigos de la Broca del Café. Sección II. Chinchiná, marzo 18 al 22 de 2002. Colombia. p. 80-114.

ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 2002a. Cambios en la adopción de los componentes del manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) a través de metodologías participativas. Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 153-160.

ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 2002b. La investigación participativa con agricultores como estrategia de adopción de tecnologías. Centro Nacional de Investigaciones de Café CENICAFÉ. MEMORIAS, Curso

Internacional Teórico – Práctico sobre Entomopatógenos, Parasitoides y otros Enemigos de la Broca del Café. Sección II. Chinchiná, marzo 18 al 22 de 2002. Colombia. p. 122-127.

- ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 2002c. Evaluación de dos componentes del manejo de la broca en la renovación de cafetales, mediante investigación participativa. Cenicafé, Chinchiná (Colombia). Avances Técnicos. 295: 1-8 p.
- ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G.; BUSTILLO P., A. E. 2004. Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores, a través de investigación participativa. Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 219-224.
- BACCA I., R. T. 1999. Efecto del parasitoido *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyilidae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Santa fe de Bogotá D. C. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Tesis Maestría en Ciencias Agrarias énfasis en entomología. 186 p.
- BAKER, P. S. 1999. La broca del café en Colombia; Informe final del proyecto MIP para el café DFID – Cenicafé – CABI Bioscience (CNTR 93/1536 A). Chinchiná (Colombia), DFID. 154 p.
- BENAVIDES M., P.; CÁRDENAS M., R. 1995. Experiencias de campo en manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). En: Memorias XXII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología – SOCOLEN, Julio 26 al 28, Santa fe de Bogotá. p. 74-78.
- BENTLEY, W. J.; BAKER, S. P.; ARISTIZÁBAL A., L. F.; CAMPOS, O.; CHILAN, W.; GARCÍA, 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. 131 p.
- BUSTILLO P., A. E. 1990. Perspectivas de manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. SEMINARIO sobre la broca del café. Medellín, Mayo 21 de 1990. Sociedad Colombiana de Entomología-SOCOLEN. Medellín (Colombia). p. 106-118. Miscelánea No. 18.
- BUSTILLO P., A. E.; OROZCO H., J.; BENAVIDES M., P.; PORTILLA R., M. 1996. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Cenicafé 47 (4): 215-230.
- 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 Co-

- lombia. Centro Nacional de Investigaciones del Café CENICAFÉ. Chinchiná (Colombia). 134 p.
- BUSTILLO P., A. E. 2002. El Manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Boletín técnico No. 24. Centro Nacional de Investigaciones del Café CENICAFÉ. Chinchiná (Colombia). 40 p.
- CÁRDENAS, G. J. 1993. La Industria del café en Colombia. Ensayos sobre Economía Cafetera 6 (9): 3-15.
- CASTRO, G. L.; BENAVIDES M., P.; BUSTILLO P., A. E. 1998. Dispersión y mortalidad de *Hypothenemus hampei*, durante la recolección y beneficio de café. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 50: 19-28.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ, CENICAFÉ. 1994. Recomendaciones para el manejo integrado de la broca del café. Brocarta No. 18: 1-4.
- DUQUE O., H.; CHÁVES C., B. 1995. Prueba piloto de adopción de tecnología en manejo integrado de la broca del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, 90 p.
- DUQUE O., H.; CHÁVES C., B. 2000. Estudio sobre la adopción del manejo integrado de la broca del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café – CENICAFÉ. Chinchiná (Colombia). 100 p.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. 1995. Manejo integrado de la broca. Boletín de Extensión 76: 1-25.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. 1997. Sistema de información cafetera. SICA, Santa fe de Bogotá., FEDERACAFÉ. 178 p.
- HERRÓN O., H. 1998. Informe anual de actividades de la Gerencia Técnica 1997/1998. Santa fe de Bogotá. FEDERACAFÉ. 106 p.
- JARAMILLO, S. J. 2002. Efecto de *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) sobre poblaciones de broca de café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en campo. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Agronomía, Manizales, 2002. Tesis Ingeniero Agrónomo.
- LE PELLEY, R. H. 1968. Pests of coffee. Longmans, Green and Co. Ltd., London. 590 p.
- OROZCO H., J; ARISTIZÁBAL A., L. F. 1996. Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café. Cenicafé, Chinchiná (Colombia). Avances Técnicos No. 222. 8 p.
- POSADA F., F.; BUSTILLO P., A. 1994. El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura colombiana. Agricultura Tropical 31 (3): 97-106.
- POSADA F., F. J.; SALAZAR E., H. M.; ARISTIZÁBAL A., L. F.; MEJÍA M., C. G.; JIMÉNEZ Q., M. 2003. Taller de evaluación de *Beauveria bassiana* con caficultores experimentadores para el control de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Revista Colombiana de Entomología 29 (1): 63-69.
- SALAZAR E., H. M.; ARISTIZÁBAL A., L. F.; MEJÍA M., C. G. 2003. Investigación participativa en relación con el manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) en el proceso de beneficio. Revista Colombiana de Entomología 29 (1): 57-62.
- SALDÍAS B., C. 1996. Experiencias en el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) para el manejo integrado de la broca del café. En: Memorias XXIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Cartagena, julio 17-19 de 1996. p. 163-275.
- VERGARA O., J. D.; OROZCO H., J.; BUSTILLO P., A. E.; CHÁVES C., B. 2001. Dispersión de *Phymastichus coffea* en un lote de café infestado de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 52 (2): 104-110.

Recibido: 01-dic-04 • Aceptado: 12-jul-06

## Inhibidores de $\alpha$ -amilasas de la broca del café *Hypothenemus hampei* en diferentes especies vegetales

$\alpha$ -Amylase inhibitors of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* in different plant species

BEATRIZ ELENA PADILLA H.<sup>1</sup>, JOSÉ RICARDO ACUÑA Z.<sup>2</sup>, CLAUDIA S. VELÁSQUEZ<sup>3</sup>,  
JOSÉ DAVID RUBIO G.<sup>4</sup>

**Resumen.** La antibiosis es uno de los mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de insectos, en el cual están involucradas proteínas de defensa como los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas. Estas se encuentran principalmente en especies vegetales como gramíneas y leguminosas. En *Phaseolus vulgaris* L. var. Radical se ha registrado un inhibidor de  $\alpha$ -amilasas de la broca del café *Hypothenemus hampei*, con más de 80% de inhibición, el cual también inhibe las  $\alpha$ -amilasas de mamíferos. Es necesaria la búsqueda de nuevos inhibidores de  $\alpha$ -amilasas en otras especies vegetales que tengan un efecto similar al de frijol y con especificidad a las  $\alpha$ -amilasas de insectos. Se obtuvieron extractos proteicos de las semillas de ocho especies vegetales de las familias Gramineae y Leguminosae. Con estos extractos y un inhibidor de  $\alpha$ -amilasas comercial de trigo (*Triticum aestivum* L.), se realizaron pruebas de actividad inhibitoria contra las  $\alpha$ -amilasas de la broca, evaluadas con espectrofotometría utilizando el método de Bernfeld y mediante zimogramas de inhibición enzimática. Las especies que mostraron más de 50% de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de broca, fueron: maíz (*Zea mays* L.), *Brachiaria decumbens* Stapf y el inhibidor comercial de trigo, corroborando su actividad mediante los zimogramas de inhibición. Con los extractos de brachiaria y de maíz no se encontró inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de mamíferos, mientras que con el inhibidor comercial de trigo sí se presentó más de 50% de inhibición. Adicionalmente se evaluó el efecto de los extractos de maíz y brachiaria sobre diferentes estadios de la broca en dietas artificiales, encontrándose mortalidades de 40% y 95% de larvas respectivamente. Estas dos especies son promisorias para la identificación de los genes que codifican estas proteínas y para desarrollar una base genética de resistencia contra la broca del café.

**Palabras clave:** Antibiosis. Proteínas de defensa de las plantas.

**Abstract.** Antibiosis is one of the mechanisms of plant resistance to insect attack in which plant defense proteins, like  $\alpha$ -amylase inhibitors, are involved. These inhibitors are found mainly in the seeds of leguminous and graminaceous plant species. In *Phaseolus vulgaris* L. var. Radical, an  $\alpha$ -amylase inhibitor of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari has been reported, with up to 80% inhibition, which also inhibits  $\alpha$ -amylase of mammals. It is necessary to search for new  $\alpha$ -amylase inhibitors in other plant species that have an effect similar to beans and with specificity to insect  $\alpha$ -amylases. Protein extracts were obtained from the seeds of eight plant species from the families Gramineae and Leguminosae. With these extracts and a commercial  $\alpha$ -amylase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum* L.), tests were conducted on the inhibitory activity in the coffee berry borer evaluated with spectrophotometry using the Bernfeld method and zymograms of enzymatic inhibition. The species that showed more than 50% inhibition of  $\alpha$ -amylases in the coffee berry borer were maize (*Zea mays* L.), *Brachiaria decumbens* Stapf and the commercial inhibitor from wheat, their activity corroborated with the inhibition zymograms. While no inhibition of mammal  $\alpha$ -amylases were found for *Brachiaria* or maize, while the commercial inhibitor from wheat  $\alpha$ -amylases showed more than 50% inhibition. In addition, the effect of *Brachiaria* and maize extracts were evaluated on different stages of the coffee berry borer in artificial diets, resulting in larval mortalities of 40 and 95%, respectively. Therefore, these two species are promising for the identification of a promissory source of genes coding that code for such these inhibitory proteins and to develop a genetic base that could confer resistance to the coffee berry borer.

**Key words:** Antibiosis. Plant defense proteins.

### Introducción

La broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculio-

nidae: Scolytinae) es actualmente la plaga más importante para el cultivo del café (*Coffea arabica* L.) en Colombia. Dentro de las estrategias diseñadas para el manejo

integrado de la broca (MIB) se ha incluido el control cultural, biológico y químico. El análisis de la estructura de costos de producción en café muestra que este

1 Investigador Asociado. Bacterióloga Especialista en Biología Molecular y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

2 Investigador Científico III. Mejoramiento Genético y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

3 Auxiliar de Investigación.

4 Investigador Asociado. Ingeniero Agrónomo. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

control puede representar 7,1% del total, es decir, aproximadamente \$ 300.000 (US\$145) por ha/año (Duque 2001). Incorporar una variedad resistente al insecto dentro del MIP haría este manejo más eficiente y reduciría sus costos, pero no se han encontrado aún fuentes de resistencia genética en el género *Coffea*. Por medio de transgénesis es posible obtener tal variedad, con una amplia base genética, la cual tenga incluidos genes que codifiquen proteínas con efecto de antibiosis contra la broca.

Los mecanismos de defensa al ataque de insectos basados en proteínas son manejados por la ingeniería genética para la transformación de plantas con resistencia a insectos (Gatehouse *et al.* 1992). Las principales proteínas empleadas como fuente de resistencia a insectos son los inhibidores de enzimas digestivas, como los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas y proteasas, además de las lectinas, que bloquean glicoproteínas en el intestino del insecto. Los tres grupos ocasionan disminución en la absorción de nutrientes, retardo en el desarrollo del insecto y su muerte (Gatehouse 1999).

Enzimas digestivas como las  $\alpha$ -amilasas constituyen una familia de endo-amilasas, que catalizan la hidrólisis de almidón, componente importante de diversas semillas que son alimento de varios insectos. El grano de café, fuente de alimento para larvas y adultos de la broca del café, *H. hampei*, contiene 10% de almidón en su composición bioquímica total (Siveltz 1977).

Los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas se encuentran en semillas de leguminosas y gramíneas (Richardson 1991) y se han purificado de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.), fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz (*Zea mays* L.) y *Amaranthus* sp., en busca de sus propiedades insecticidas contra coleópteros (Schimoler-O'Rourke *et al.* 2001; Franco *et al.* 2000; Valencia *et al.* 2000; Minney *et al.* 1990 citado por Gatehouse 1999; Ishimoto y Kitamura 1989, citado por Chrispeels 1997; Chagolla-López *et al.* 1994).

Los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas son glicoproteínas de bajo peso molecular que se acumulan en vacuolas especializadas en la fase media de desarrollo de la semilla. Al ser proteínas de semillas, son excelentes candidatos para ser expresadas heterológicamente en tejidos homólogos como la semilla del café, donde ocurre el desarrollo biológico de la broca. Esto es particularmente importante porque inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, como el  $\alpha$ AI

de fríjol, para poder ser activo, es necesario que en la semilla ocurran cambios postraduccionales como la glicosilación y proteólisis, y crear así un sitio de unión a la enzima blanco. Chrispeels (1997) registra que cuando los genes de proteínas de semilla son expresados en plantas heterólogas, los productos de la transgénesis son correctamente procesados y transportados hasta las vacuolas especializadas para la formación de un inhibidor de amilasas activo.

Algunos inhibidores de  $\alpha$ -amilasas inhiben la actividad tanto en insectos como en mamíferos, otros inhiben solamente las  $\alpha$ -amilasas de insectos como los aislados de trigo, maíz y *Amaranthus* spp., entre otros (Franco *et al.* 2002; Gatehouse 1999). También hay especificidad en el género del insecto, ya que la formación del complejo inhibidor más amilasa tiene un pH óptimo de 5.5 y por esta razón inhibe amilasas en el medio ácido del intestino de insectos del orden Coleoptera pero no en el alcalino del orden Lepidoptera (Chrispeels 1997).

Los genes de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas de fríjol ( $\alpha$ AI) han sido identificados y clonados con el propósito de obtener plantas transgénicas. Se han obtenido plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) vía *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Town) que expresan  $\alpha$ AI, acumulándose de forma estable en sus semillas, a niveles de 0,8 -1% de expresión. Estudios en campo y bioensayos con semilla de arveja transgénica ocasionaron 100% de mortalidad de larvas de *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae) (Chrispeels 1997; Schroeder *et al.* 1995).

Igualmente, se han obtenido plantas transgénicas de tabaco que expresan  $\alpha$ AI, afectando insectos del orden Coleoptera (*Tenebrio molitor* L. y *Callosobruchus maculatus* F.) (Altabella y Chrispeels 1990). También, plantas de tabaco transformadas con un inhibidor bifuncional de  $\alpha$  amilasas y proteasas de maíz, adquirieron protección contra los insectos del orden Coleoptera (*Tribolium castaneum* Herbst y *Rhyzopertha dominica* Fabricius) (Franco *et al.* 2000; Sarneer-Masoud *et al.* 1994 citado por Dilawari y Dhaliwal 1996).

Valencia *et al.* (2000) encontraron mediante ensayos espectrofotométricos y zimogramas de inhibición, que inhibidores de  $\alpha$ -amilasas de fríjol (*P. vulgaris* y *Phaseolus coccineus* L.) bloquean la actividad de las  $\alpha$ -amilasas de la broca del café. Estos genes actualmente están siendo clonados y se está evaluando su expresi-

ón en semillas de tabaco transgénico, por ser una especie de rápido desarrollo vegetativo (Acuña 2004, com. per.).

Teniendo en cuenta que estos inhibidores de fríjol también son activos para las  $\alpha$ -amilasas humanas, se hace necesaria la búsqueda de otros inhibidores de amilasas que sean específicos para las amilasas de insectos. Las especies de leguminosas y gramíneas son las principales fuentes de estas proteínas de defensa. Se han evaluado extractos semipuros de semillas de *Brachiaria decumbens* Stapf, *Canavalia ensiformis* L., *Vicia faba* L., *Erythrina rubrinervia* Kunth, *Adenanthera pavonica* L., *Acacia melanoxylum* L. y *Trifolium hybridum* L., adicionados a dietas artificiales, encontrándose efectos adversos en el ciclo de vida de la broca (González 1999). Por tanto, se seleccionaron estas especies y algunas por registros en la literatura, como *T. aestivum* y *Z. mays*, para la búsqueda de especies vegetales que contengan inhibidores de las  $\alpha$ -amilasas de la broca y así ser seleccionadas para la posterior identificación de los genes que codifican estas proteínas y desarrollar una base genética de resistencia contra la broca.

## Materiales y Métodos

**Material Vegetal.** Se utilizaron semillas de *V. faba*, *B. decumbens*, *C. ensiformes*, *T. hybridum*, *A. melanoxylum*, *A. pavonica*, *E. rubrinervia* y *Z. mays*, además un inhibidor comercial purificado de *T. aestivum* (Sigma I-1520).

**Extracción de los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas.** Las semillas molidas se homogenizaron a 4°C con 5 volúmenes de NaCl 100 mM por 3 horas en agitación constante. Posteriormente el extracto se centrifugó a 10.000 rpm durante 30 minutos y los sobrenadantes se dializaron contra agua durante tres noches (tres cambios de agua al día). Los extractos dializados se centrifugaron a 10.000 rpm a 4°C y finalmente se liofilizaron. Los extractos liofilizados se utilizaron posteriormente como fuente de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas.

**Extracción de las  $\alpha$ -amilasas de *H. hampei*.** Se pesaron 2 gramos de insectos y se homogenizaron a 4°C con 5 volúmenes de NaCl 10 mM y CaCl<sub>2</sub> 20 mM. Posteriormente el extracto se centrifugó a 10.000 rpm durante 30 minutos a 4°C. El sobrenadante se congeló a -20°C para ser usado posteriormente como fuente de enzima.

**Identificación de los extractos con inhibidores de  $\alpha$  amilasas.** Para determinar cuáles de los extractos semipuros de las semillas en estudio mostraron actividad inhibitoria, se cuantificó la producción de maltosa en la digestión del almidón con la metodología propuesta por Bernfeld (ácido 3,5 dinitrosalicílico) (Bernfeld 1955).

Previo a la identificación de los extractos semipuros con inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, se cuantificó la proteína total por ml de cada extracto, disuelto en buffer citrato pH 5.0, por el método de Bradford (Bradford 1976).

Para la identificación se realizaron tres repeticiones por especie vegetal. Se evaluaron cuatro cantidades de los extractos 10, 20, 40 y 80  $\mu$ l. Del inhibidor comercial de trigo se evaluó 1  $\mu$ l. A todos los tubos de prueba se les adicionaron 100  $\mu$ l del extracto semipuro de las  $\alpha$ -amilasas de la broca, se incubaron durante una hora a 37°C y se adicionaron 250  $\mu$ l del sustrato almidón a 0,125%.

Para determinar la producción de maltosa se hicieron dos lecturas, al tiempo cero y a la hora de iniciadas, tomando 100  $\mu$ l de la reacción más 100  $\mu$ l del reactivo de Bernfeld. Se detuvieron las reacciones calentándolas en agua hirviendo durante 10 minutos, se adicionó 1 ml de agua y se realizó la lectura en el espectrofotómetro a  $\lambda$  de 490 nm. Además se tuvo un control de la actividad de la enzima proveniente del insecto, sin el extracto proteico. Adicionalmente se hicieron ensayos con amilasa comercial, Pankreoflat® (amilasa pancreática de porcino) como fuente de  $\alpha$ -amilasas de mamíferos.

La variable de respuesta fue el porcentaje de inhibición. Para cada especie se buscó la expresión lineal o cuadrática que describiera el comportamiento del porcentaje de inhibición en función de la concentración, y se determinó la concentración mínima que inhibió 50% de la amilasa de la broca. Para la obtención de los genes de inhibidores de amilasa, se seleccionaron las especies que mostraron 50% o más de inhibición de la actividad de la amilasa en estudio.

Con los extractos que mostraron actividad inhibitoria en el ensayo espectrofotométrico, se hicieron zimogramas de inhibición enzimática, con el fin de implementar la decisión de las especies seleccionadas para la búsqueda de los genes de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, como posibles fuentes de resistencia a la broca. Las proteínas del respectivo extracto se

separaron en gels de poliácridamida nativos (Gradiente 10–15%. Phast-Gel, Amersham-Pharmacia). Cada gel se incubó en una solución de almidón a 1,5% por 30 minutos a 4°C, y luego con 10 ml del extracto semipuro de las  $\alpha$ -amilasas de la broca, disuelto en buffer citrato de sodio 50 mM pH 5.0, por 30 minutos a 30°C. El gel con almidón se reveló con KI/I<sub>2</sub> hasta obtener bandas azules oscuras, que indicaron la presencia del inhibidor. Como control se utilizó frijón (*P. vulgaris*, var. Radical) como fuente de inhibidores de las  $\alpha$ -amilasas de la broca del café (Valencia *et al.* 2000).

**Evaluación de antibiosis contra la broca en dietas artificiales.** Para observar el efecto de antibiosis se evaluaron los extractos de las especies vegetales que mostraron efecto de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca, adicionándolos a dietas merídicas (Portilla *et al.* 2000). Se evaluaron 400 mg de los extractos semipuros liofilizados de *B. decumbens* y *Z. mays* disueltos en 10 ml de agua destilada estéril, a los cuales previamente se les había determinado su concentración de proteína total. Posteriormente estos 10 ml se homogenizaron con 20 ml de dieta y se sirvieron en 10 pozos de una caja multipozos con 2 ml de la mezcla en cada pozo. La dieta se secó hasta obtener una humedad de 50% y se inoculó con 20 huevos de broca por pozo. Para los controles de cada uno de los extractos se adicionó el mismo volumen de la dieta mezclada con 10 ml de agua destilada estéril y se tuvieron las mismas repeticiones y la misma cantidad de huevos inoculados.

Se hicieron tres lecturas, una a los cuatro días, para determinar el porcentaje de eclosión, a los 12 y a los 24 días para determinar el porcentaje de mortalidad de estados de brocas ocasionados por efecto de los extractos evaluados.

## Resultados

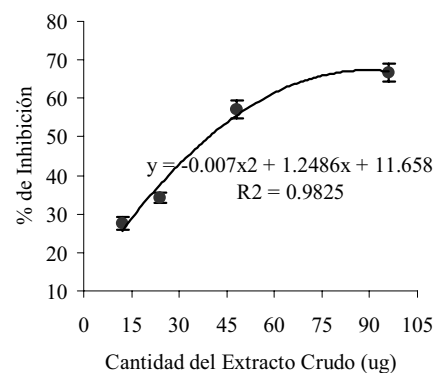
Los extractos de las especies vegetales que mostraron inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca del café con las condiciones evaluadas fueron *B. decumbens*, *Z. mays* y el inhibidor comercial de trigo (*T. aestivum*). Con las otras especies evaluadas en las mismas condiciones no se encontró inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca.

En la figura 1 se observa el porcentaje de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca con diferentes cantidades de extracto semipuro de *Z. mays*, 12, 24, 48 y 96  $\mu$ g

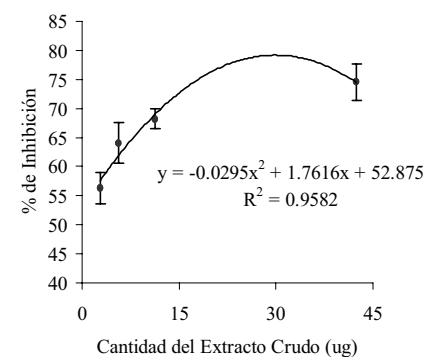
de proteína total. Se observa que entre 24 y 48  $\mu$ g se alcanza 50% de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca. El porcentaje de inhibición se ajusta mejor a un comportamiento cuadrático (Fig. 1) comparado con un comportamiento lineal ( $y = 0.4708x + 25.243$ .  $R^2 = 0.8872$ ).

En la figura 2 se observa el porcentaje de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca con diferentes cantidades de extracto semipuro de *B. decumbens*, 2.86, 5.66, 11.32 y 42.45  $\mu$ g de proteína total. Con la menor cantidad de extracto evaluado se alcanza más de 50% de inhibición. El porcentaje de inhibición se ajusta mejor a un comportamiento cuadrático (Fig. 2) que lineal ( $y = 0.3624x + 60.123$ .  $R^2 = 0,7494$ ).

Para el ensayo de inhibición con el inhibidor comercial purificado trigo se



**Figura 1.** Porcentaje de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca con diferentes cantidades de extracto semipuro de *Zea mays* (12, 24, 48 y 96  $\mu$ g de proteína). Medido como la producción de maltosa utilizando el método de Bernfeld (1955). Cada punto es el promedio de tres medidas y las barras representan el error standard.



**Figura 2.** Porcentaje de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca con diferentes cantidades de extracto semipuro de *Brachiaria decumbens* (2.83, 5.66, 11.32 y 42.45  $\mu$ g de proteína) medido como la producción de maltosa utilizando el método de Bernfeld (1955). Cada punto es el promedio de tres medidas y las barras representan el error standard.

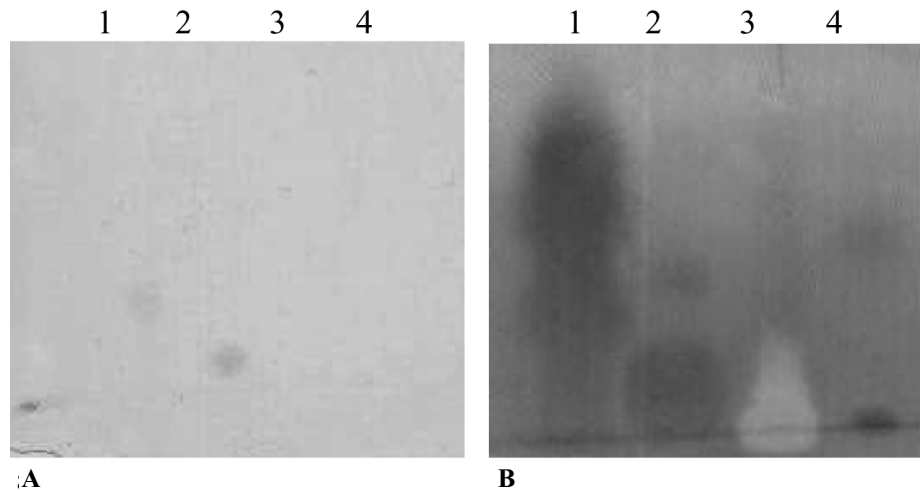
evaluó 1  $\mu$ l del producto (740 unidades  $\text{mg}^{-1}$ ) disuelto en 1 ml de buffer citrato pH 5.0 y se hicieron tres lecturas. Dando un porcentaje de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca de  $80,33 \pm 1,19\%$ .

En la evaluación del efecto inhibitorio de los extractos semipuros de *Z. mays*, *B. decumbens* y el inhibidor comercial de trigo contra las  $\alpha$ -amilasas de mamíferos (amilasas pancreáticas de porcino, Pankreoflat®), se encontró inhibición con trigo de un  $58,13 \pm 3,12\%$ . Con las otras dos especies evaluadas no se encontró efecto de inhibición. Por tanto las especies de *Z. mays* y *B. decumbens* son fuentes promisorias para la búsqueda de genes de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas especialmente contra  $\alpha$ -amilasas de insectos.

### Zimogramas de inhibición enzimática

En la figura 3 se presentan los zimogramas de inhibición enzimática de las amilasas de la broca y de las  $\alpha$ -amilasas pancreáticas de porcino (Pankreoflat®). En el gel incubado con la solución de las  $\alpha$ -amilasas pancreáticas de porcino (Fig. 3A), se observa dos bandas bien definidas, correspondientes al inhibidor purificado de frijol (carril 2) y al inhibidor comercial de trigo (carril 1). En este gel no se observan bandas de inhibición con los extractos de *Z. mays* y *B. decumbens* (carriles 3 y 4), corroborando los resultados espectrofotométricos, en los cuales tampoco se encontró inhibición con estas dos especies. En el gel incubado con las  $\alpha$ -amilasas de la broca (Fig. 3B), se presenta una coloración más oscura, posiblemente porque tienen menor actividad que las amilasas comerciales. Sin embargo, se aprecia un barrido muy fuerte correspondiente al inhibidor comercial de trigo (carril 1). Espectrofotométricamente éste inhibió 80% de las amilasas de la broca y 58% de las amilasas de mamífero, resultados encontrados también en los geles. En la figura 3B también se observan bandas de inhibición con el extracto puro de *P. vulgaris* (carril 2), el extracto semipuro de *Z. mays* (carril 4) y con el extracto semipuro de *B. decumbens* se observa un barrido muy tenue y no se observan bandas definidas de inhibición (carril 3).

El extracto semipuro de *Z. mays* sólo inhibió las  $\alpha$ -amilasas de la broca, tanto en los zimogramas como en los ensayos espectrofotométricos. Esta actividad específica de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de insectos, fue registrada por Franco *et al.* (2002) y por Schimoler *et al.* (2001) para insectos del orden Coleoptera, *T.*



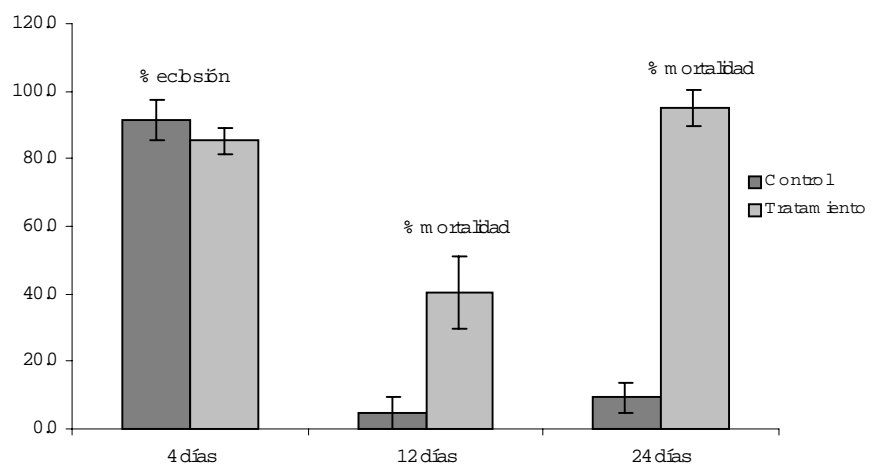
**Figuras 3.** Zimogramas de inhibición de  $\alpha$ -amilasas de broca. **A)** gel incubado con la amilasa pancreática comercial (Pankreoflat®). **B)** gel incubado con la amilasa de la broca. Carril 1. Inhibidor comercial de trigo, carril 2. Extracto purificado de frijol, carril 3. Extracto semipuro de brachiaria, carril 4, extracto semipuro de maíz.

*castaneum* y *R. dominica*. *B. decumbens* también fue específica a las  $\alpha$ -amilasas de la broca. Por lo anterior, estas dos especies son candidatas para la búsqueda de los genes que codifican los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas y hacer parte de la base genética para resistencia a la broca del café.

### Evaluación de antibiosis contra la broca en dietas artificiales

En la figura 4, se observa el efecto del extracto semipuro de *B. decumbens*, contra la broca del café. Previamente se había determinado que los 400 mg del extracto semipuro adicionado a la dieta contenían 2,83 mg de proteína total. El efecto adverso contra la broca se determinó mediante tres evaluaciones. A los cuatro días, se

registró el porcentaje de eclosión de larvas, el cual fue de  $84,3 \pm 4,9\%$ , comparado con el control (tratamiento sin la adición de extracto semipuro de la especie vegetal en estudio), de  $89,5 \pm 6,2\%$ . Con las larvas que eclosionaron se hicieron las siguientes dos lecturas, a los 12 y 24 días después de la inoculación de la dieta. La variable respuesta fue el porcentaje de mortalidad de estados de broca por el efecto del tratamiento. Se obtuvo  $40,4 \pm 10,6\%$  de mortalidad a los 12 días con el tratamiento, comparado con  $4,5 \pm 4,9\%$  en el control. A los 24 días,  $95,1 \pm 5,6\%$  de mortalidad, comparado con  $9,3 \pm 4,2\%$  en el control. Considerando estos resultados y la evidencia bioquímica de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca del café con este



**Figura 4.** Efecto de antibiosis contra la broca del café de 400 mg de extracto semipuro de *Brachiaria decumbens* evaluado en la dieta artificial Cenibroca. Las barras representan el error standard de diez repeticiones.

extracto (resultados mostrados previamente), se reafirmó la decisión de seleccionar la especie *B. decumbens*, como fuente de búsqueda de genes con efectos deletéreos contra la broca, para ser incluidos en futuras variedades con resistencia a esta plaga mediante el mejoramiento genético no convencional.

En la figura 5 se observa el efecto de antibiosis contra la broca del café utilizando el extracto semipuro de *Z. mays*, con una concentración total de proteína de 12 mg en los 400 mg de extracto adicionado a la dieta. A los cuatro días el porcentaje de eclosión encontrado fue  $94,7 \pm 4,2\%$ , comparado con el observado en el control que fue  $94 \pm 3,1\%$ . Respecto al porcentaje de eclosión de larvas, se obtuvo  $8,3 \pm 3,4\%$  de mortalidad a los 12 días con el tratamiento, comparado con  $2,4 \pm 2,7\%$  en el control y  $40 \pm 6,6\%$  de mortalidad a los 24 días, comparado con  $5,5 \pm 3,6$  en el control.

En los ensayos con dietas se observó que con el extracto de *B. decumbens* se logra una evidente mortalidad de larvas, 95%, confirmando los ensayos bioquímicos de inhibición de  $\alpha$ -amilasas, en los cuales con la menor cantidad de extracto evaluado se alcanzó más de 50% de inhibición. Con el extracto de maíz se encontró una menor mortalidad en las evaluaciones en dietas hasta 40%, igualmente confirmando los ensayos bioquímicos, en los cuales se necesitó mayor cantidad

del extracto para alcanzar 50% de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca.

### Discusión

Las plantas han adquirido evolutivamente cierto grado de resistencia a insectos plaga mediante la producción de compuestos de defensa, que pueden ser de naturaleza peptídica o no peptídica. Los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas son proteínas de defensa contra insectos ampliamente estudiadas para el control de diversas plagas en diferentes cultivos importantes en el mundo (Franco *et al.* 2002). De las ocho especies vegetales evaluadas en la presente investigación, se encontraron dos candidatos potenciales como fuente de genes que confieran resistencia a la broca, como son el inhibidor de *B. decumbens* y el de *Z. mays*.

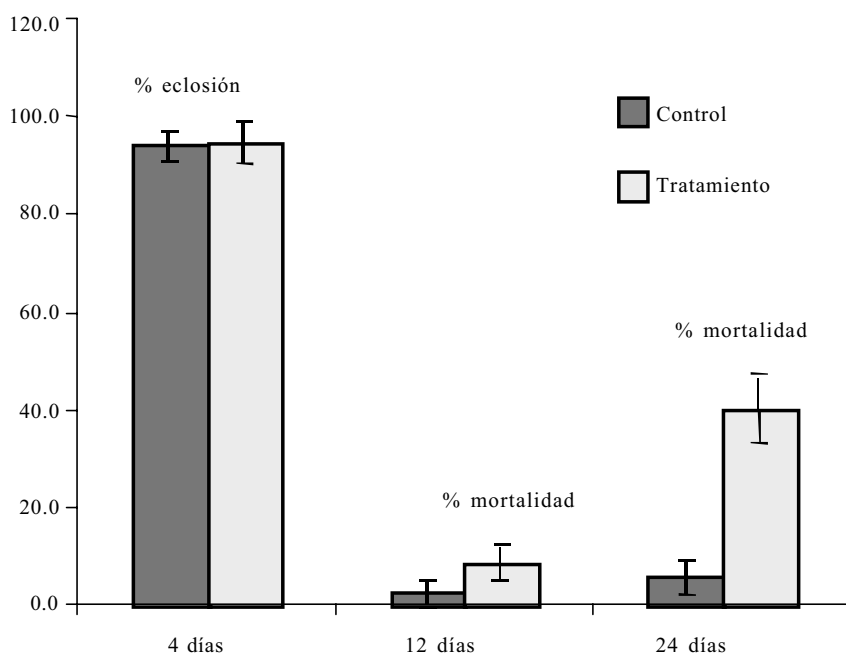
Para introducir genes de inhibidores enzimáticos en una variedad resistente a una plaga por medio de transgénesis, estos deben tener algunas propiedades como son: Inhibir sustancialmente las enzimas de los insectos utilizando bajas concentraciones del inhibidor, como fue el caso de los dos extractos de inhibidores seleccionados en la presente investigación. Comparando los dos extractos seleccionados, utilizando el extracto de *B. decumbens* se necesita menor concentración de proteína en el extracto para alcanzar el 50% de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca.

Otra propiedad importante es la especificidad de inhibición a las amilasas de los insectos, la cual se identificó con los dos extractos vegetales seleccionados de *B. decumbens* y el de *Z. mays*. Con estos dos extractos se encontró inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca de café y no hubo inhibición de las  $\alpha$ -amilasas pancreáticas de mamífero, confirmando así los registros en la literatura del inhibidor de *Z. mays* (Franco *et al.* 2002). El inhibidor de *B. decumbens* es un nuevo registro en la literatura como posible fuente de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, además de mostrar especificidad para la broca del café fue el extracto que se necesitó en menor concentración para obtener más de 50% de inhibición.

En los zimogramas de inhibición de las  $\alpha$ -amilasas de la broca con el extracto de *B. decumbens*, a diferencia de maíz, no se observó una banda de inhibición bien definida, por tanto es importante hacer un análisis de proteómica para esta especie y corroborar que el efecto adverso contra la broca demostrada tanto en los ensayos biológicos y bioquímicos son de tipo peptídico, característica importante para que sean candidatos en el desarrollo de una futura variedad de café con resistencia a la broca por medio de transgénesis.

En los ensayos biológicos utilizando extractos de proteína semipura de maíz y brachiaria en dietas merídicas para la broca, se presentaron mortalidades entre el 40 y el 95%. Debe determinarse si la mortalidad del insecto es ocasionada por los inhibidores enzimáticos presentes en los extractos, los cuales se identificaron por medio de ensayos bioquímicos. Se recomienda entonces realizar pruebas con los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas puros. Debido a los altos costos del proceso de purificación de la proteína y de la obtención de la cantidad necesaria para realizar los ensayos biológicos, la metodología utilizada en esta investigación, evaluando extractos semipuros, es válida para la selección de especies como fuentes genéticas de resistencia vegetal a insectos.

Por tanto, en éste trabajo se dan las herramientas bioquímicas y biológicas para la selección de especies vegetales que contengan compuestos proteicos responsables de antibiosis contra la broca del café. Las especies vegetales que produzcan estos efectos son candidatas potenciales para la búsqueda de los genes que codifican estas proteínas, con el propósito de incluirlos dentro de un plan de mejoramiento para obtener una variedad de café resistente a la broca.



**Figura 5.** Efecto de antibiosis contra la broca del café de 400 mg de extracto semipuro de *Zea mays* evaluado en la dieta artificial Cenibroca. Las barras representan el error standard de diez repeticiones.

### Conclusiones

En los ensayos bioquímicos se encontró un efecto superior al 50% de inhibición de la actividad de las  $\alpha$ -amilasas de la broca, con los extractos semipuros de las semillas de *Z. mays* y *B. decumbens* y el inhibidor comercial de *T. aestivum*. Adicionalmente se encontró especificidad con *B. decumbens* y *Z. mays* para las amilasas de los insectos, por lo que se proponen estas dos especies como fuentes promisorias para la identificación de los genes que codifican estas proteínas.

En los ensayos biológicos, utilizando dietas merídicas, se observó el efecto de antibiosis con porcentajes de mortalidad de larvas de broca de 40 y 95% con los extractos semipuros de las semillas de *Z. mays* y *B. decumbens* respectivamente. Confirmando que estas especies presentan compuestos que tienen un efecto deletéreo contra la broca. Pero es necesario determinar si el efecto de mortalidad es ocasionado a la presencia de inhibidores enzimáticos en estos extractos, mediante evaluaciones en dieta de inhibidores puros.

### Agradecimientos

Al Centro Nacional de Investigaciones del café, Cenicafé, al Programa de Jóvenes Investigadores de Colciencias y al personal de la Disciplina de Mejoramiento Genético y Biotecnología de Cenicafé (Centro Nacional de Investigaciones del Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia).

### Literatura citada

- ALTABELLA, T.; CHRISPEELS, M. J. 1990. Tobacco plants transformed with the bean  $\alpha$  AI gene express an inhibitor of insect  $\alpha$ -amylase in their seeds. *Plant Physiology* 93 (2): 805-810.
- BERNFELD, P. 1955. Amylases  $\alpha$  and  $\beta$  p. 149-158. In: Colowick, S. P.; Kaplan, N. O. (eds.). *Methods in enzymology*. Vol. 1 Academic Press New York.
- BRADFORD, M. 1976 A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- CHAGOLLA-LÓPEZ, A.; BLANCO-LABRA, A.; PATHY, A.; SÁNCHEZ, R.; PONGOR, S. 1994. A novel alpha-amylase inhibitor from amaranth (*Amaranthus hypocondriacus*) seeds. *The Journal of Biological Chemistry* 269 (38): 23675-23680.
- CHRISPEELS, M. J. 1997. Transfer of bruchid resistance from the common bean to other starchy grain legumes by genetic engineering with the  $\alpha$ -amilasa inhibitor gene. p. 139-156. In: Carozzi N., Koziel M. (eds.). *Advances in insect control: the role of trasgenic plants*. London: Taylor and Francis.
- DILAWARI, V. K.; DHALIWAL, G. S. 1996. Biotechnology and host plant resistance to insect Opportunities and achallenges. p. 36-53. In: Ananthakrishnan, T.N. (ed.). *Biotechnological Perspectives in Chemical Ecology of insects*. Oxford IBH Publishing Co. Pvt. Ltd: Nueva Delhi, India.
- DUQUE O., H. 2001. Análisis económico de doce prácticas para mejorar el desempeño de las fincas cafeteras. Cenicafé. Chinchiná (Caldas). 57 p.
- FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J.; MELO, F. R.; BLOCH, JR.; SILVA, C. P.; GROSSI DE SÁ, M. F. 2000. Activity of wheat  $\alpha$  amylase inhibitors towards bruchid  $\alpha$  amylase and structural explanation of observed specificities. *European Journal of Biochemistry* 267 (8): 1466-1473.
- FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J.; MELO, F. R.; GROSSI de SÁ, M. F. 2002. Plant  $\alpha$  amylase inhibitors and their interactions with insect  $\alpha$  amylases structure, function and potential for crop protection. *European Journal of Biochemistry* 269: 397-412.
- GATEHOUSE, A. M. R. 1999. Biotechnological applications of plant genes in the production of insect resistant crops. p. 263-280. In: Clement, S. L.; Quisenberry, S. S. (eds.). *Global Plant Genetic Resources for Insect Resistant Crops*, London, CRC Press.
- GATEHOUSE, A. M. R.; BOULTER, D.; HILDER, V. A. 1992. Potential of plant derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance. p. 155-181. In: Gatehouse, A. M. R.; Hilder, V. A.; Boulter, D. (eds.). *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection* CAB International, Wallingford, UK.
- GONZÁLEZ G., M. T. 1999. Efectos de la concentración y combinación de inhibidores de  $\alpha$ -amilasas y proteasas sobre la sobrevivencia, crecimiento y desarrollo de la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Informe anual de actividades 1998-1999. Cenicafé. Chinchiná (Caldas).
- PORTILLA, M.; MUMFORD, J.; BAKER, P. 2000. Reproductive potential response to continuous rearing of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca-artificial diet. *Revista Colombiana de Entomología* 26 (3-4): 99-105.
- RICHARDSON, M. J. 1991. Seed storage proteins: the enzyme inhibitors. p. 259-305. In: Dey, P. M.; Harborne, J. B. (eds.). *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 5, Academic Press, New York, 259 p.
- SCHIMOLER-O'ROURKE, R.; RICCHARSDON, M.; SELITRENNIKOFF, C. P. 2001. Zeamatin inhibits trypsin and  $\alpha$  amylase activities. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (5): 2365-2366.
- SCHROEDER, H. E.; GOLLASCH, S.; MOORE, A.; TABE L. M.; CRAIG, S.; HARDIE, D.; CHRISPEELS, M. J.; SPENCER, D.; HIGGINS, T. J. V. 1995. Bean  $\alpha$ -amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil, *Bruchus pisorum*, in genetically engineered peas (*Pisum sativum* L.). *Plant Physiology* 107: 1233-1239.
- SIVELTZ, M. 1977. *Coffee and Tea Technology in: Elements of Food Technology*. Norman W Desroesier Avi Publishing Co. Westport connetrant 19: 601-613.
- VALENCIA, 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.



## Cuantificación del daño ocasionado por *Oebalus insularis* (Heteroptera: Pentatomidae) en el cultivo de arroz (Oryzica-1) en Panamá

Quantification of *Oebalus insularis* (Heteroptera: Pentatomidae) damage in rice crop (Oryzica -1) in Panama

PABLO RODRÍGUEZ G.<sup>1</sup>, DIEGO NAVAS<sup>2</sup>, ENRIQUE MEDIANERO<sup>3</sup>, RODRIGO CHANG<sup>4</sup>

**Resumen.** En este trabajo se determinó el efecto de *Oebalus insularis* Stål en el rendimiento de arroz en el campo y a nivel industrial. Se hicieron dos ensayos de campo utilizando el diseño de bloques completamente al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. En el primero, se confinaron diez panículas recién emergidas y se infestaron con cero, una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, y siete chinches hasta la cosecha. El otro ensayo determinó la susceptibilidad de la planta a niveles de infestación de diez chinches en diez panículas de diferentes edades desde la floración. Un chinche por panícula no tiene influencia significativa en el rendimiento de campo. El cultivo es susceptible hasta diez días después de la emergencia de panículas, periodo en que niveles de infestación superiores a 0,7 chinches/panícula tienen influencia directa y negativa en el rendimiento industrial del arroz. Infestaciones tardías son irrelevantes en el rendimiento industrial.

**Palabras clave:** Chinches. Floración. Panícula. Susceptibilidad. Grano.

**Abstract.** In this work, the effect of *Oebalus insularis* Stål on the yield of rough and milled rice was studied. Two field experiments were carried out using a Complete Randomized Block design with eight treatments and four replicates. In the first, groups of ten newly emerged panicles were confined in separate cages with zero, one, two, three, four, five, six, and seven stink bugs until harvest. The second study determined the susceptibility of the plant at infestation levels of ten stink bugs on ten panicles at different ages since flowering. One stink bug per panicle does not have a significant influence on the yield of rough rice. The crop is susceptible up to ten days after panicle emergence, a period in which infestations greater than 0.7 stink bugs/panicle have a direct and negative effect on milled rice. Later infestations are irrelevant to the yield of milled rice.

**Key words:** Bugs. Flowerin. Panicle. Susceptibility. Grain.

### Introducción

Las chinches de la panícula son consideradas entre las plagas de mayor importancia en el cultivo de arroz ya que pueden afectar directamente la cantidad y calidad de los granos cosechados al succionar la savia de éstos cuando están en desarrollo (Pantoja *et al.* 2000, 1995, 1993; Foster *et al.* 1989; Weber 1989; Gutiérrez *et al.* 1987; De Datta 1986; Jones y Cherry 1986). A este grupo pertenecen las especies *Alkindus atratus* Distant (Heteroptera: Coreidae); *Neopamera bilobata* Say, *Paromius longulus* Dallas, *Pseudopachybrachius vinctus* Say (Heteroptera: Lygaeidae); *Oebalus* spp. (=

*Solubea* spp.) incluyendo: *O. insularis* Sailer (= *O. ornatus* Sailer), *O. pugnax* F., *O. poecilus* Dallas, *Mormidea pictiventris* Stål, *Mormidea ypsilon* L., *Euschistus bifibulus* Pal de Beau, *Tribaca limbiventris* Stål, *Proxys punctulatus* Pal de Beau y *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) (Shannon 1989). Además, *Blissus leucopterus* Barber y *Protonellus constrictus* Stål (Heteroptera: Lygaeidae) (Bruner *et al.* 1975).

En América, el género *Oebalus* es considerado el más importante debido al daño que causan sus especies al cultivo de arroz (Pantoja *et al.* 2000; Guharay 1999; Pantoja *et al.* 1995). En Centroamérica y Panamá, *O. insularis* es reportada como

una de las especies más comunes, representando el 95% de las chinches encontrados en algunos campos cultivados de arroz (Rodríguez 1998). Según Portal *et al.* (1978), King y Saunders (1984), Arias y Gutiérrez (1986) y Guharay (1999), esta especie es considerada de importancia secundaria; sin embargo, bajo determinados factores climáticos y un manejo inadecuado, puede causar daños de 30 hasta 50% en la producción de arroz.

El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar el daño ocasionado por *O. insularis*, en las panículas de la variedad de arroz Oryzica-1, a diferentes niveles de infestación. Además, determinar el periodo de susceptibilidad de las panículas al

1 Magíster en Entomología. Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, MIDA-Coclé Panamá. E-mail: rodriguezp@hotmail.com

2 Magíster en ciencias. Programa de Maestría en Entomología, Universidad de Panamá.

3 Magíster en Entomología. Programa de Maestría en Entomología, Universidad de Panamá. E-mail: medianero@yahoo.com

4 Magíster en Entomología. Sección de Sanidad, División de Administración Ambiental. Autoridad del Canal de Panamá. E-mail: rachang@pancanal.com

ataque de esta especie de chinche. Con este trabajo, se pretendió estimar a partir de cuántos chinches por panícula se ve afectado el rendimiento final de las espigas de arroz. Se espera encontrar un mayor daño en los granos de las espigas que son sometidos a un mayor número de individuos y en aquellas que son atacadas durante el inicio del llenado de los granos. Estos aspectos pueden ser de importancia en el diseño y ejecución de Programas de Manejo Integrado de Plagas que conlleven a mejorar los niveles de eficiencia y competitividad de la actividad arrocería en Panamá.

### Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el Centro de Enseñanza e Investigación Agropecuaria de La Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá, ubicado en Tocumen (CEIAT 9°03'N y 79°22'W) donde la temperatura promedio para el periodo de estudio fue de 26,8°C y la precipitación promedio mensual fue de 226 mm. Aquí se establecieron dos ensayos dentro de un campo de arroz con una superficie de cuatro hectáreas sembradas con la variedad Oryzica-1.

Los ensayos consistieron en el aislamiento de panículas de arroz en jaulas. El primer ensayo evaluó el daño causado por las chinches a los granos de arroz, exponiendo las panículas a siete niveles de infestación del insecto, desde la floración hasta la cosecha. El otro ensayo tuvo por finalidad evaluar la susceptibilidad de los granos de arroz, realizando infestaciones con insectos en panículas de diferentes edades desde la floración. Para los dos ensayos (y con el objeto de poder realizar comparaciones con otros experimentos de la literatura pero, aumentando el número de tratamientos y replicas) se utilizó un diseño experimental completamente al azar que consistió en ocho tratamientos incluyendo un testigo, cada tratamiento con cuatro repeticiones.

Las jaulas empleadas en el aislamiento eran cilíndricas con un diámetro de 18 cm y una altura de 34 cm, compuestas por un armazón de alambre galvanizado de 0,5 cm de espesor unido con soldadura. Las jaulas a su vez estaban cubiertas con una bolsa de tela de tul de igual forma, pero con una longitud de 56 cm. Estas se encontraban abiertas en su parte inferior para permitir la introducción y amarre de las panículas a utilizar en el experimento y la introducción de los in-

sectos para las infestaciones. Estas estructuras estaban sujetas mediante alambre a estacas de madera de 1,5 m de longitud.

Una vez se inició la emergencia de las panículas se seleccionaron dos áreas contiguas en los contornos de la parcela para montar los ensayos, estas áreas presentaban características homogéneas en la apariencia física de las plantas. La instalación de ambos ensayos se efectuó el 31 de octubre de 1997.

**Ensayo 1.** Para la instalación de este ensayo se utilizó un área de 40 m<sup>2</sup> cuadrados, en la cual se ubicaron los siete tratamientos y el testigo, cada uno con cuatro réplicas. Diez panículas provenientes de dos, tres o cuatro plantas aledañas entre sí fueron seleccionadas e introducidas en cada jaula. Las panículas fueron unidas, cubiertas en su extremo inferior con la bolsa de tul y aseguradas por fuera con un alambre plastificado para evitar el escape de los insectos.

Cada jaula con diez panículas se infestó con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis y siete individuos; hubo un testigo sin infestación. Los tratamientos fueron revisados cada dos días para verificar la presencia de los insectos y reponer aquellos que habían muerto o escapado.

**Ensayo 2.** Para evaluar la susceptibilidad del grano a la infestación de panículas de diferentes edades, se utilizó el esquema de trabajo empleado en el ensayo No.1, con la diferencia que en las jaulas se introdujeron diez chinches, excepto en el testigo no infestado. Las infestaciones se hicieron a intervalos sucesivos de cuatro días a partir de la floración hasta la cosecha. El aislamiento de las espigas en cada jaula se realizó el mismo día en que se estableció el ensayo. En el testigo, las diez panículas fueron introducidas a las jaulas (sin chinches) desde el momento de su emergencia. Con el propósito de tener mayor potencia estadística y siguiendo modelos encontrados en la literatura, los tratamientos fueron 10 chinches/ 10 panículas en distintos momentos así: cuando ocurrió la emergencia de espigas, a los 4, 8, 12, 16, 20 y 24 días después.

Para todas las infestaciones y reposiciones realizadas en la ejecución de estos ensayos, los insectos fueron colectados en las parcelas de investigación del CEIAT mediante una red entomológica.

**Cosecha de los ensayos.** El levantamiento de ambos ensayos se efectuó seis semanas después de su instalación (3 de diciembre de 1997). Cada tratamiento se cosechó individualmente utilizando tijeras podadoras. Las panículas se introdujeron en bolsas de papel manila de 4.535 gr selladas e identificadas apropiadamente. Este material se trasladó al laboratorio, donde las panículas de cada tratamiento fueron desgranadas manualmente separando todo material extraño a fin de dejar los granos lo más limpio posible. Los granos de cada tratamiento fueron pesados en una balanza analítica y regresados a sus respectivas bolsas, sellados nuevamente y expuestos al sol durante varios días para reducir su humedad al 13%.

**Procesamiento de los granos cosechados.** Para efectos de evaluar el daño ocasionado por *O. insularis* a los granos de arroz, se consideró el rendimiento de campo (arroz en cáscara) y el rendimiento industrial (arroz descascarado o pilado). En el caso del rendimiento de campo, el procesamiento de los granos se circunscribió al desgrane manual, pesado, secado y limpieza de los mismos. Con respecto al efecto que tuvieron las chinches en el rendimiento industrial, basándose en el peso final del arroz pilado por tratamiento, los granos se descascararon manualmente ya que no poseían el peso mínimo requerido por la máquina piladora o molinillo.

Para el descascarado manual se pesaron los granos de cada tratamiento en la balanza analítica y se revisó grano por grano. Según su apariencia y condición, los granos se ubicaron en una de cuatro categorías así: granos sanos, granos picados, granos manchados y granos vanos.

Una vez separados por categoría, cada grupo de granos se colocó en platos de Petri y revisados en su conjunto para luego contarlos y pesarlos en la balanza analítica. Esta segunda revisión y el recuento de granos por categoría, permitió reubicar todos aquellos mal clasificados. Para extraer las cariósides (granos descascarados) manualmente cada grano fue separado de la lema y la pálea. Siendo a su vez clasificados en cariósides sanas y cariósides dañadas.

Las cariósides sanas y dañadas se contaron y pesaron para cada categoría por tratamiento. Esto permitió obtener datos más completos y exactos en cuanto a los totales de granos y peso de los mismos por tratamiento y categoría establecida.

Además, de permitir una mejor apreciación de los diferentes tipos de daño ocasionados por los insectos y otros agentes.

**Análisis estadístico.** Para determinar el efecto de los diferentes niveles de infestación de chinches sobre el rendimiento final de granos, los valores por tratamiento correspondientes al número total de granos, número de carióspsides sanas (granos descascarados) y número de carióspsides dañadas por tratamiento fueron sometidos al análisis de varianza correspondiente al diseño completamente al azar. En los casos donde se encontraron diferencias se utilizó la prueba de post comparación de medias de Duncan. Para analizar si existía diferencia entre las carióspsides sanas y dañadas luego de descascarar se utilizó la prueba *t* de Student para dos muestras. Para realizar los análisis se utilizó el Software Statistic ® (Statistica for Windows 1994).

### Resultados y Discusión

**Ensayo 1.** Rendimiento de campo (arroz en cáscara): Los resultados indican que no existen diferencias en los pesos obtenidos de los granos de arroz en campo ni en el número total de granos obtenidos entre tratamientos y testigo ( $F = 1.2$ ;  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 24$  y  $F = 1.1$ ;  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 24$ ) (Tabla 1).

Rendimiento industrial (arroz descascarado o pilado): Posterior al descascarado de los granos por tratamiento y categoría, se sumaron todos los granos cuyas carióspsides estaban sanas e igualmente se sumaron sus respectivos pesos. Ambas variables no mostraron diferencias significativas ( $F = 1.4$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 24$  y  $F = 1.2$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 24$ ) (Tabla 2).

El descascarado manual permitió determinar que no existen diferencias entre el número de carióspsides sanas y dañadas ( $t = 0.6$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 4$ ). La apariencia externa de los granos no es un indicativo exacto de su condición interna ya que el 11,2 % de los granos que aparentemente estaban sanos se encontraron afectados por los insectos y, por el contrario, el 38,27 % de los granos con evidentes puntos o marcas que se asociaron con la acción alimentaria de las chinches estaban sanos internamente. Por otro lado, granos categorizados como manchados aportaron 27% de carióspsides sanas y el porcentaje restante en carióspsides dañadas (Tabla 3).

**Tabla 1.** Número (N) y peso (P) de los granos en 10 panículas de arroz sometidas a diferentes niveles de infestación de *Oebalus insularis*. No existen diferencias en ninguna de las dos variables entre tratamientos y testigo ( $F = 1.22$ ;  $p = 0.3270$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 8, 35$  y  $F = 1.08$ ;  $p = 0.4019$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 3$ ).

Niveles de infestación (chinches/jaula)	Réplicas									
	I		II		III		IV		Medias±D.S.	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
1	737	10.6	867	14.7	977	17.5	1,194	16.4	944±194	14.8±3.0
2	1,066	17.8	1,151	20.2	1,070	16.5	1,026	17.9	1,078±53	18.1±1.5
3	878	14.7	789	12.5	882	20.2	1,170	14.6	930±166	15.5±3.3
4	958	16.0	1,313	16.4	1,060	12.9	891	16.3	1,056±185	15.4±1.7
5	1,022	15.4	1,061	19.0	1,048	24.9	1,491	15.2	1,156±224	18.6±4.5
6	1,339	19.7	926	14.6	1,177	14.7	1,016	18.7	1,114±182	16.9±2.6
7	995	16.8	1,190	12.0	1,057	13.7	966	16.4	1,052±99	14.7±2.3
Control	884	16.8	1,127	16.8	817	16.7	957	18.3	946±133	17.1±0.8

**Tabla 2.** Número (N) y peso (P) en gramos de carióspsides sanas en 10 panículas de arroz sometidas a diferentes niveles de infestación de *Oebalus insularis*. Ambas variables no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento y el testigo ( $F = 1.41$ ,  $p = 0.2465$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 31$  y  $F = 1.175$ ,  $p = 0.3530$ ,  $p > 0.05$ ,  $gl = 7, 31$ ).

Niveles de infestación (chinches/jaula)	Réplicas									
	I		II		III		IV		Medias	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
1	288	5.8	402	7.9	490	9.9	605	11.2	446±134.3	8.7±2.4
2	464	9.6	619	12.9	459	9.5	449	9.3	498±81	10.3±1.7
3	343	8.1	351	6.9	391	8.1	665	13.3	438±153.1	9.1±2.9
4	426	9.5	275	5.6	458	9.4	319	6.7	370±86.6	7.8±1.9
5	433	8.8	575	11.6	425	8.5	686	14.3	530±124.9	10.8±2.7
6	540	11.4	287	5.9	502	10.2	309	6.3	410±130	8.5±2.8
7	435	9.2	270	5.5	396	8.5	305	6.6	352±77	7.5±1.7
Control	518	10.9	425	8.1	513	10.1	606	11.8	516±74	10.2±1.6

**Tabla 3.** Total de granos por categoría antes del descascarado y la relación de carióspsides sanas y dañadas luego de descascarar. No existen diferencias entre el número de carióspsides sanas y dañadas ( $t = 0.571$ ,  $P = 0.598$ ,  $P > 0.05$ ,  $gl = 4$ ).

Categorías	Total de granos	Granos después del descascarado	
	antes de descascarar	Carióspsides Sanas	Carióspsides Dañadas
Sanos	11,975	10,632 (88,78%)	1,343 (11,22%)
Manchados	8,516	2,300 (27,00%)	6,216 (73,00%)
Picados	2,101	1,297 (61,73%)	804 (38,27%)
Vanos	10,510	-	-
Total	33,102	14,229 (62,98%)	8,363 (37,02%)

Con relación al número de granos dañados (Tabla 4), se totalizaron todos aquellos granos que resultaron realmente afectados por tratamiento, los resultados mostraron diferencias significativas entre testigo y tratamientos ( $F = 2.9$ ,  $p < 0.05$ ,  $gl = 7, 24$ ). La prueba de comparación múltiple de Duncan indica que la exposición de siete individuos en 10 panículas provoca una diferencia significativa de granos dañados con respecto al tratamiento ( $\alpha = 0.05$ ).

Los resultados, indican que niveles de infestación de hasta 0,7 chinches/ panícula no influyen significativamente en el ren-

dimiento de arroz en cáscara ni en el pilado. Sin embargo, a este nivel de infestación el número de carióspsides dañadas por espiga resulta significativamente mayor. Esto sugiere que para el área de estudio niveles de infestaciones mayores de 0,7 chinches/panícula pueden ser un indicativo de poblaciones capaces de provocar una reducción en la calidad y cantidad de los granos. Estos resultados son similares a los encontrados por Pantoja *et al.* (1993), quienes no encontraron diferencias significativas en el efecto de uno, dos, y tres parejas de *O. ornatus* y *O. insularis* sobre 100 granos de arroz. De igual manera, Odglen y

Warren (1962), no encontraron diferencias en el peso de los granos al exponer panículas de arroz a 20, 40 y 80 chinches de *O. pugnax*. Sin embargo, estos datos difieren con los registrados por Gutiérrez *et al.* (1983, 1985) al evaluar el efecto producido por *O. insularis* en arroz de riego utilizando niveles de infestación de 0.3, 0.7 y 1.1 chinches por panícula, ellos encontraron que a partir de índices poblacionales de 0,3 insectos/panícula se producen efectos en los rendimientos de hasta 27% y que cuando estos índices eran de 1,1 insectos/panícula, las pérdidas se incrementaron hasta el 65%.

Es importante señalar que el establecimiento de los niveles poblacionales sobre los cuales se debe tomar la decisión de aplicar un tratamiento químico de control son producto de observaciones e investigaciones que se han efectuado en diversas áreas arroceras, y es de esperarse que existan diferencias de zona a zona y de país a país, por toda una serie de factores que deben considerarse como: las condiciones climáticas, la hora en que se realizan los muestreos, la proporción relativa de insectos por panícula, la estabilidad de la población, el efecto de parasitoides sobre los huevos, la presencia o ausencia de varios tipos de hongos y el tamaño del grano (Bowling 1967). Además de los factores antes descritos, es obvio que la especie en estudio es un factor fundamental, debido a las variaciones que las mismas pueden tener en su comportamiento.

**Ensayo 2.** Rendimiento en campo. Los resultados indican que no existen diferencias en el peso ni en el número de granos obtenidos de las panículas de arroz infestadas a diferentes edades (Tabla 5) ( $F = 0.7, p > 0.05, gl = 7, 24$  y  $F = 0.4, p > 0.05, gl = 7, 24$ ). Lo que indica que a niveles de infestación, tan altos, como un chinche por panícula, desde la aparición de la inflorescencia y con infestaciones progresivas cada cuatro días hasta los 24 días posteriores a la floración, no se afecta en el número ni el peso de los granos producidos en cada panícula.

Al igual que en el experimento anterior, se observó que la apariencia externa de los granos no es un indicativo de la condición interna de las carióspsides ya que el 9,4% de los granos que aparentemente se clasificaron como sanos, al descascararlos presentaron carióspsides afectadas por los insectos. El 63,90% de los granos clasificados como picados resultaron con

**Tabla 4.** Número de granos dañados en 10 panículas de arroz sometidas a diferentes niveles de infestación de *Oebalus insularis*. Los resultados mostraron diferencias significativas entre testigo y tratamientos ( $F = 2.97, p = 0.02158, p < 0.05, gl = 7,31$ ), medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí ( $p = 0.05$ ) significativamente (prueba de Duncan).

Niveles de infestación (chinches/jaula)	Réplicas				Medias
	I	II	III	IV	
1	148	223	205	154	183±37.2 a
2	218	253	294	244	252±31.5 ab
3	210	209	264	265	237±31.8 ab
4	175	497	312	297	320±132.9 b
5	215	185	255	381	259±86.2 ab
6	292	295	350	422	340± 61 b
7	256	478	310	347	348± 94.5 b
Control	113	329	83	84	152± 18.7 a

**Tabla 5.** Número (N) y peso (P) de las panículas de arroz de diferentes edades después de infestaciones con *Oebalus insularis*. Ambas variables no mostraron diferencias significativas entre el tratamiento y el testigo ( $F = 0.746155, p = 0.636, p > 0.05, gl = 7,31$  y  $F = 0.4382, p = 0.868, p > 0.05, gl = 7,31$ ).

Edad de infección de panícula en días	Réplicas									
	I		II		III		IV		Medias±Ds	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
1	1,020	13	1,251	17.0	1,048	14.8	1,062	13.7	1,095±105	14.6±1.8
4	713	9.5	1,070	15.7	1,210	21	1,228	22	1,055±239	17±5.7
8	1,061	10.9	1,726	22.6	1,328	21.6	958	13.5	1,268±343	17.1±5.8
12	1,014	16.4	1,510	26.1	1,093	20.1	873	13.7	1,123±274	19.1±5.3
16	1,013	14.7	1,355	18.4	1,135	19.9	807	13.5	1,078±229	16.6±3
20	1,060	16.2	1,099	17.2	1,226	22.4	1,362	20.6	1,187±137	19.1±2.9
24	1,228	20.1	1,247	23.5	1,201	21.3	1,023	16.3	1,175±103	20.3±3
33 (Control)	983	13.5	1,255	21	1,176	23.8	987	17.8	1,100±137	19±4.4

**Tabla 6.** Peso promedio y número promedio de carióspsides sanas, después de infestaciones con *Oebalus insularis* en panículas de arroz de diferentes edades. Ambas variables mostraron diferencias significativas ( $F = 4.04, p = 0.00059, p < 0.05, gl = 7,3$ ) y ( $F = 3.92, p = 0.0069, p < 0.05, gl = 7,3$ ). Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí ( $p = 0.05$ ) significativamente (prueba de Duncan).

Edad de infección de panículas en días	Número de granos sanos descascarados (media)	Peso (gr.) de granos sanos descascarados (media)
1	315 c	6.4c
4	398 bc	8.3 bc
8	396 bc	7.9 bc
12	523 ab	10.9 ab
16	470 abc	9.5 abc
20	569 ab	11.6 ab
24	638 a	13.3 a
33 (control)	652 a	12.6 a

carióspsides sanas y el 27,40 % de los manchados resultaron con carióspsides sanas.

Con respecto al rendimiento industrial ambas variables mostraron diferencias significativas en relación al total de granos y peso de granos sanos después del descascarado (Tabla 6) ( $F = 4, p < 0.05, gl = 7,24$ ) y ( $F = 3.9, p < 0.05, gl = 7,24$ ).

La prueba de comparación múltiple de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ) determinó que los tra-

tamientos en los que los insectos fueron introducidos a los 12, 16, 20 y 24 días después de la emergencia de panículas no mostraron diferencias con el testigo y estos a su vez son significativamente diferentes a los tratamientos en que las chinches fueron introducidos en la etapa inicial de la formación de los granos, correspondiendo al momento de la emergencia de panículas, 4 y 8 días posteriores a la misma.

Los resultados sustentan la hipótesis de que la etapa de susceptibilidad del cultivo de arroz Orizica-1 a *O. insularis* ocurre durante los primeros diez días desde la floración, lo cual corresponde al estado en formación de los granos. Pasado este período, infestaciones de hasta 1 chinche por panícula no tendrán efecto significativo en el rendimiento del arroz en cáscara ni en el pilado. Estos resultados son similares a los obtenidos por Viator *et al.* (1983) y Gutiérrez *et al.* (1983), quienes trabajaron con *N. viridula* y *O. pugnax* determinaron el efecto de la alimentación de estos insectos sobre el peso de semillas, germinación y calidad culinaria, al realizar infestaciones de cero, uno, dos, tres y seis parejas (macho y hembra) de insectos adultos sobre diez panículas aisladas en dos estados de maduración del grano (lechoso y pastoso).

### Conclusiones

Los resultados indican que niveles de infestación de hasta 0,7 chinches/ panícula de *O. insularis* no influyen significativamente en el rendimiento de arroz en cáscara ni en el pilado. Sin embargo, a este nivel de infestación el número de carióspsides dañadas por espiga resulta significativamente mayor. Lo que sugiere que niveles de infestaciones mayores a 0,7 chinches/panícula pueden ser considerados como un umbral para la aplicación de tratamientos químicos.

Se puede señalar que la etapa de susceptibilidad del cultivo de arroz Orizica-1 a *O. insularis* ocurre durante los primeros diez días desde la floración, que corresponde al estado en formación de los granos. Pasado este período, infestaciones de hasta un chinche por panícula no tendrán efecto significativo en el rendimiento del arroz en cáscara ni en el pilado.

Las aplicaciones de insecticidas efectuadas en los campos comerciales de arroz para el control de "chinches de las espigas" son, por lo general, injustificadas, puesto que el nivel económico de daños encontrado para *O. insularis* es muy ele-

vado e improbable que se de en condiciones naturales.

### Literatura citada

- ARIAS, E.; GUTIÉRREZ, A. 1986. *Oebalus insularis* (Heteroptera: Pentatomidae), plaga importante en el cultivo de arroz (*Oryza sativa*) en Cuba. Centro de Información y Documentación Agropecuaria. La Habana. Cuba. 37 p.
- BOWLING, C. C. 1967. The rice stink bug. Insect pests on rice in the United States. Proceedings International Rice-Research Institute. 55-558.
- BRUNER, S.; SCARAMUZA, L. C.; OTERO, A. 1975. Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. La Habana. Academia de Ciencias de Cuba. Instituto de Zoología. 399 p.
- De DATTA, S. K. 1986. Producción de arroz, fundamentos y práctica. Primera edición. Editorial Limusa S. A. México. 477 p.
- FOSTER, R. E.; CHERRY, R.H.; JONES, D. B. 1989. Spatial distribution of the rice stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in Florida Rice. Journal of Economic Entomology 82 (2): 507-509.
- GUHARAY, F. 1999. Biología, daño y manejo de *Oebalus insularis*, la chinche de la espiga del arroz. Manejo Integrado de Plaga. Hoja técnica. 51: 1-4.
- GUTIÉRREZ, A.; ARIAS, E.; GARCÍA, A.; CORONA, R. 1983. Evaluación de las afectaciones producidas por *Oebalus insularis* en el cultivo del arroz de riego, bajo la influencia de diferentes índices poblacionales del insecto. Ciencia Técnica Agrícola 6 (2): 33-44.
- GUTIÉRREZ, A.; ARIAS, E.; GARCÍA, A.; CORONA, R. 1985. Evaluación del nivel de daño causado por diferentes índices de población de *Oebalus insularis* en el cultivo de arroz. Ciencia Técnica Agrícola 8 (1): 63-74.
- GUTIÉRREZ, A.; MENESES, R.; ARIAS, E.; GARCÍA, R. A.; HERNÁNDEZ, H.; AMADOR, M. 1987. Estimaciones de las poblaciones de *Oebalus insularis* en el cultivo de arroz. Ciencia y Técnica Agrícola 10 (1): 43-54.
- JONES, D. B.; CHERRY, R. H. 1986. Species composition and seasonal, abundance of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in Southern Florida rice. Journal of Economic Entomology 79 (5): 1226-1229.
- KING, A. B.; SAUNDERS, J. L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE). Costa Rica. 182 p.
- ODGLEN, G. E.; WARREN, L. O. 1962. The rice stink bug *Oebalus pugnax* F. in Arkansas. Agricultural Experiment Station. University of Arkansas. 23 p.
- PANTOJA, A.; DAZA, E.; DUQUE, M. C. 1993. Efecto de *Oebalus ornatus* (Sailer) y *Oebalus insularis* Stal (Heteroptera: Pentomidae) sobre el arroz: una comparación entre especies. Manejo Integrado de Plagas 26: 31-33.
- PANTOJA, A.; DANZA, E.; GARCÍA, C.; MEJÍA, O.; RIDER, D. 1995. Relative abundance of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in South-western Colombia Rice fields. Journal of Entomological Science 30: 463-467.
- PANTOJA, A.; GARCÍA, C.; DUQUE, M. C. 2000. Population dynamics and effects of *Oebalus insularis* (Hemiptera: Pentatomidae) on rice yield and quality in South-western Colombia. Ecology and Behavior 93 (2): 276-279.
- PORTAL, M. Del C.; CASTILLO, T. D.; PAMPIN, G. H. 1978. Algunas observaciones sobre *Solubea insularis* (Chinche) y sus efectos sobre el grano de arroz. Ciencia Técnica Agrícola 1 (2): 75-83.
- RODRÍGUEZ, P. 1998. Biología y cuantificación del daño ocasionado por *Oebalus insularis* Stal (Heteroptera: Pentatomidae) en el cultivo de arroz. Tesis de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. 63 p.
- SHANNON, P. 1989. Arroz. p 567-586. En: Keith, L.; Quezada, J. (eds.). Manejo integrado de plagas en la agricultura. Estado actual y futuro. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano. Honduras. 623 p.
- Statistica for Windows. 1994. General Conventions and Statistics I. StatSoft, Inc. USA. 1873 p.
- VIATOR, H. P.; PANTOJA, A.; SMITH, C. M. 1983. Damage to wheat seed quality and yield by the rice stink bug and Southern Green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). Journal of Economic Entomology 76 (6): 1410-1413.
- WEBER, G. 1989. Desarrollo del manejo integrado de plagas en el cultivo de arroz: Guía de estudio. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 69 p.

## Hymenoptera parasitoides asociados a *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) en Cerro Jefe y Altos de Pacora, Panamá

Hymenoptera parasitoids associated with *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) at Cerro Jefe and Altos de Pacora, Panama.

ENRIQUE MEDIANERO<sup>1</sup>, CHESLAVO A. KORYTKOWSKI<sup>2</sup>, CARLOS CAMPO<sup>3</sup>, CESAR DE LEÓN<sup>4</sup>

**Resumen.** Con el propósito de identificar los parasitoides que atacan moscas del género *Anastrepha* Schiner y establecer las asociaciones de estos y sus hospederos en condiciones naturales, se realizaron muestreos cada 14 días de noviembre de 2003 a julio de 2005 en Cerro Jefe y Altos de Pacora, Panamá. Se identificaron seis especies de parasitoides: *Doryctobracon zeteki* (Muesebeck), *D. crawfordi* (Viereck), *D. areolatus* (Szépligeti), *D. capsicola* (Muesebeck), *D. auripennis* (Muesebeck) y *Opius bellus* Gahan. Cinco especies de *Anastrepha* criadas de cinco familias de plantas fueron parasitadas. El parasitoide más abundante fue *D. zeteki* que representó el 49% de los individuos, *D. crawfordi* el 19,48% y *D. areolatus* fue el menos abundante con 2,59%. *A. serpentina* (Wiedemann) y *A. anomala* Stone fueron los hospederos con mayor número de parasitoides en frutos de *Pouteria buenaventurensis* (Aubr év.) Pilz y *Lacmellea panamensis* (Woodson) Markgr. *D. capsicola* fue criado de *A. serpentina* y *A. anomala* además, *D. auripennis* de *A. serpentina*; todos son nuevos registros de hospedero. Hay dependencia entre las especies de parasitoides y las especies de *Anastrepha* ( $\chi^2 = 80, p < 0.05, gl = 20$ ). *P. buenaventurensis* es reportado como nueva planta hospedera para *A. serpentina*.

**Palabras clave:** Braconidae. *Doryctobracon*. Hospederos. Opiinae. *Opius*.

**Abstract.** In order to identify the parasitoids that attack fruit flies of the genus *Anastrepha* Schiner and to establish the associations between them and their hosts in natural conditions, biweekly sampling was conducted from November 2003 to July 2005 in Cerro Jefe and Altos de Pacora, Panama. Six species of parasitoids was identified: *Doryctobracon zeteki* (Muesebeck), *D. crawfordi* (Viereck), *D. areolatus* (Szépligeti), *D. capsicola* (Muesebeck), *D. auripennis* (Muesebeck) and *Opius bellus* Gahan. Five *Anastrepha* species reared from five plant families were parasitized. The most abundant parasitoid was *D. zeteki* which represented 49% of total individuals; *D. crawfordi* with 19.48% and *D. areolatus* was the least abundant with 2.59%. *A. serpentina* (Wiedemann) and *A. anomala* Stone were the hosts with the highest number of parasitoids in fruits of *Pouteria buenaventurensis* (Aubr év.) Pilz and *Lacmellea panamensis* (Woodson) Markgr. *D. capsicola* was reared from *A. serpentina* and *A. anomala*, as well as *D. auripennis* from *A. serpentina*; all are new host records. There is a dependent relationship between parasitoid species and *Anastrepha* species ( $\chi^2 = 80, p < 0.05, gl = 20$ ). *P. buenaventurensis* is a new host plant record for *A. serpentina*.

**Key words:** Braconidae. *Doryctobracon*. Host. Opiinae. *Opius*.

### Introducción

Durante las últimas décadas el uso de enemigos naturales para el control de moscas del género *Anastrepha* Schiner ha tenido un notable resurgimiento en varios países de América (Ovruski *et al.* 2000). Debido a que las especies de este género tienen un alto potencial biótico, utilizan frutos hospedantes de gran tamaño y epicarpio grueso además, de mantener umbrales económicos altos por razones cuarentenarias (Sivinski 1996), el control clásico ha sido considerado inadecuado

para mantener las poblaciones de cualquier especie de *Anastrepha* por debajo del umbral económico para la exportación de frutas (Wharton 1989 en: Ovruski *et al.* 1999). Por lo que la búsqueda de nuevos parasitoides que puedan ser potencialmente usados en la reducción de las poblaciones de moscas del género *Anastrepha* que infestan cultivos es altamente deseable y la región Neotropical representa un importante recurso para encontrar especies (Ovruski *et al.* 2000). En México, Argentina, Brasil, Venezuela, Colombia y los Estados Unidos (Ovruski 2003; Aluja *et al.* 2003, 1990;

Aguiar-Menezes *et al.* 2001; Zucchi 2000; Carrejo y González 1999; López *et al.* 1999; Canal *et al.* 1995; Katiyar *et al.* 1995) se ha estudiado la fauna de parasitoides para solucionar este vacío de información de la región. Sin embargo, en áreas de Centro y Sur América, los Tephritidae nativos no han sido estudiados y sus parasitoides son desconocidos, existiendo una ausencia de datos de la asociación con hospederos. Particularmente con aquellas especies de *Anastrepha* que no son consideradas plagas (Ovruski *et al.* 2000) pero cuyas interacciones representan un cono-

1 Magister en Entomología. Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. Dirección actual: Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Museo Nacional de Ciencias Naturales. c/José Gutiérrez Abascal, 2. 28006. Madrid, España. E-mail: mcnem823@mncn.csic.es / medianero@yahoo.com

2 Doctor en Entomología. Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. Apartado Postal 0824. E-mail: Cheslavok@yahoo.com

3 Ingeniero Agrónomo. Ministerio de Desarrollo Agropecuario, Dirección de Sanidad Vegetal, Panamá. E-mail: ccampo25@yahoo.es

4 Técnico en Entomología. Programa Centroamericano de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. Apartado Postal 0824.

cimiento fundamental para entender el comportamiento de la mosca y el parasitoide y poder aplicarlo en programas de control biológico.

El objetivo del presente trabajo fue identificar las especies de parasitoides que afectan moscas del género *Anastrepha* en áreas de bosques y establecer las posibles asociaciones entre parasitoide-planta-mosca. Debido a que el género *Anastrepha* es de origen Neotropical debe existir un conjunto de especies de parasitoides que sirven como controladores de las poblaciones en condiciones naturales. Con este trabajo se pretende aportar al conocimiento de las relaciones que se dan entre parasitoides y moscas en bosques neotropicales.

### Materiales y Métodos

**Área de estudio.** El estudio forma parte del Programa de “Dinámica Poblacional de Mosca de la Fruta” que durante 15 años se desarrolla en Cerro Jefe y Altos de Pacora, Panamá. El área se encuentra en la parte Este de la ciudad de Panamá (79°02'W y 9°15'N) en los límites del Parque Natural Chagres, a una altitud de 200 a 1.000 msnm (Fig.1). En una zona de vida de Bosque Húmedo tropical donde la temperatura anual está entre 20 y 30°C y la precipitación anual está entre 3.000 y 4.000 mm. La vegetación corresponde a un bosque perennifolio ombrófilo tropical latifoliado submontano poco intervenido. En la zona se reconocen una época seca de diciembre a abril y una lluviosa de mayo a noviembre. Esta es el área más heterogénea de la cuenca del canal de Panamá y con el mayor índice de asociación arbórea (Mayo y Correa 1994), la zona es de alto endemismo de plantas y en la misma se han capturado 81 especies del género *Anastrepha*, siendo 14 nuevos reportes para Panamá y 16 son especies nuevas para la ciencia, que están siendo descritas (Korytkowski 2002). Por lo que el área representa de enorme potencial para la búsqueda de parasitoides y estudiar las asociaciones de estos en condiciones naturales.

Las colectas se efectuaron cada 14 días en un trayecto de 18 km en el cual se encuentran instaladas 82 trampas tipo MacPhail distribuidas en 16 sitios. Alrededor de cada sitio se colectaron los frutos de las especies de plantas observadas entre noviembre de 2003 y julio de 2005. Los frutos fueron colocados en bolsas plásticas rotuladas con la altitud del lugar, fecha, nombre del sitio, ubicación geográfica (UTM) y trasladados al laboratorio de cría del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá. De cada planta con frutos se colectó una muestra botánica para su identifica-

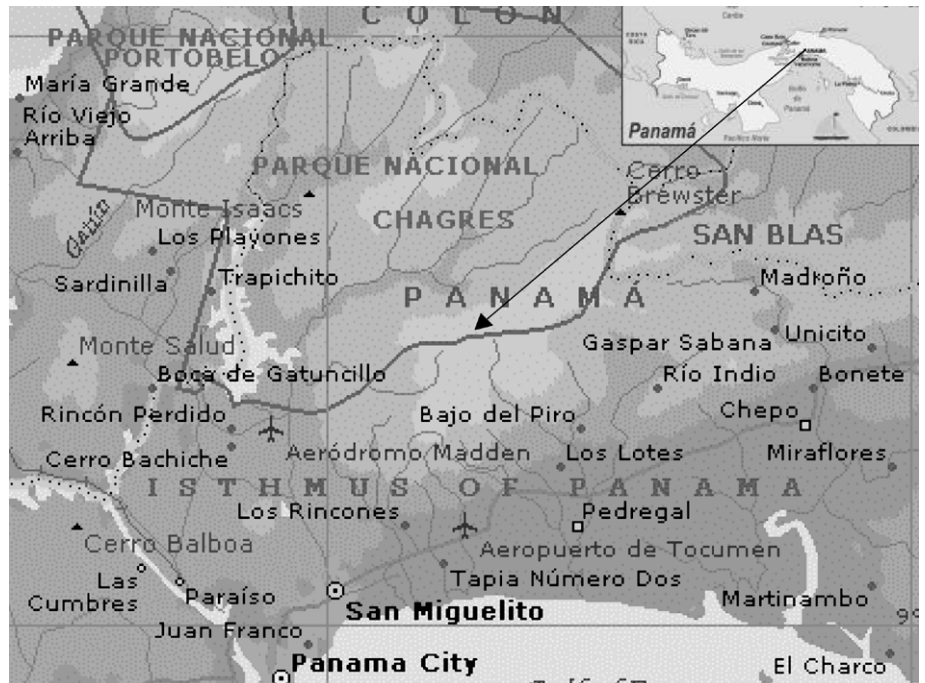


Figura 1. Área de muestreo.

ción en el herbario de la Universidad de Panamá. En el laboratorio los frutos fueron acondicionados en vasijas plásticas con aserrín de madera y cubiertos con malla de tul. Semanalmente estos fueron revisados y los puparios encontrados se colocaron en frascos individuales de 200 g hasta la emergencia de los adultos de moscas o parasitoides. Los parasitoides que emergieron fueron identificados con las claves de Wharton y Marsh (1978) y Wharton (2005). Las especies de *Anastrepha* fueron identificadas por uno de los autores del presente trabajo.

Los especímenes emergidos se encuentran depositados en la “Colección de insectos del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá” (MEUP).

**Análisis estadístico.** Con la información de campo se organizó una base de datos donde se incluyó la especie de parasitoide, la especie de *Anastrepha*, el orden, familia y especie de la planta además, la altitud a la que se encontró el parasitoide. Para establecer si en condiciones naturales existen preferencias de las especies de parasitoide por las especies de *Anastrepha* se utilizó la prueba de Ji Cuadrada basada en tablas de contingencia.

### Resultados y Discusión

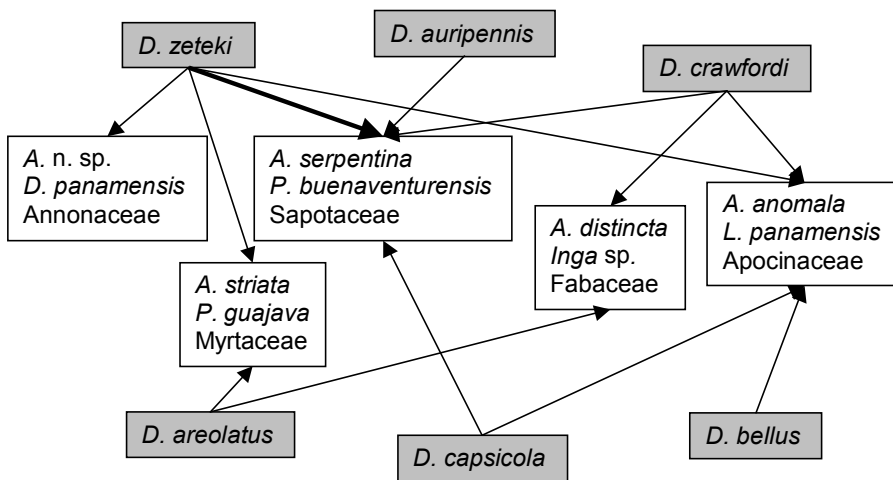
Se colectaron frutos de 52 especies de plantas correspondientes a 21 familias, de

las cuales ocho (15,38%) estuvieron infestadas por *Anastrepha*, en cinco de ellas se recuperaron parasitoides. Se obtuvieron seis especies y 179 individuos parasitoides larva-pupa de la subfamilia Opiinae (Braconidae). La especie de parasitoide más abundante en Cerro Jefe-Altos de Pacora fue *Doryctobracon zeteki* (Muesebeck) con 38 individuos (49%) seguido de *D. crawfordi* con 15 individuos (19,48%), *D. auripennis* 10 individuos (12,98%) y *O. bellus* ocho individuos (10,39%). Las especies con menos individuos fueron *D. capsicola* con cuatro (5,19%) y *D. areolatus* con dos (2,59%). *D. zeteki* y *D. crawfordi* fueron las especies con mayor rango de moscas hospedadoras con cuatro y tres respectivamente. *D. auripennis* se recuperó de *A. serpentina* en frutos de *Pouteria buenaventurensis* (Sapotaceae) y *O. bellus* de *A. anomala* en frutos de *Lacmellea panamensis* (Apocynaceae) (Fig. 2). Las especies de *Anastrepha* con mayor grado de parasitoidismo fueron *A. serpentina* y *A. anomala* con cuatro parasitoides cada una, la primera en frutos de *P. buenaventurensis* y la segunda en *L. panamensis* (Tabla 1).

Los resultados sugieren que en el área muestreada existe una fuerte dominancia de parasitoides nativos afectando las poblaciones de *Anastrepha*. La mayor presencia de *D. zeteki* y la escasa de *D. areolatus* resultan interesantes ya que esta última es considerada junto con *D.*

**Tabla 1.** Especie de *Anastrepha* con su planta hospedera y número de parasitoides emergidos de cada una de ellas. El análisis indica que existe una relación entre las especies de parasitoides y las de *Anastrepha* ( $\chi^2 = 80$ ,  $p < 0.05$ ,  $gl = 20$ ).

Especie de <i>Anastrepha</i>	Familia de Planta	Especie de planta hospedera	Especie de Parasitoide	Individuos emergidos	♀	♂
<i>A. anomala</i>	Apocynaceae	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>D. zeteki</i>	7	6	1
<i>A. anomala</i>	Apocynaceae	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>D. crawfordi</i>	9	3	6
<i>A. anomala</i>	Apocynaceae	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>D. capsicola</i>	1	1	0
<i>A. anomala</i>	Apocynaceae	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>O. bellus</i>	8	5	3
<i>A. distincta</i>	Fabaceae	<i>Inga</i> sp.	<i>D. crawfordi</i>	4	2	2
<i>A. distincta</i>	Fabaceae	<i>Inga</i> sp.	<i>D. areolatus</i>	1	1	0
<i>A. n. sp.</i>	Annonaceae	<i>Duguetia panamensis</i>	<i>D. zeteki</i>	11	9	2
<i>A. serpentina</i>	Sapotaceae	<i>Pouteria buenaventurensis</i>	<i>D. zeteki</i>	18	11	7
<i>A. serpentina</i>	Sapotaceae	<i>Pouteria buenaventurensis</i>	<i>D. auripennis</i>	10	1	9
<i>A. serpentina</i>	Sapotaceae	<i>Pouteria buenaventurensis</i>	<i>D. crawfordi</i>	2	2	0
<i>A. serpentina</i>	Sapotaceae	<i>Pouteria buenaventurensis</i>	<i>D. capsicola</i>	3	3	0
<i>A. striata</i>	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	<i>D. areolatus</i>	1	1	0
<i>A. striata</i>	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	<i>D. zeteki</i>	2	2	0



**Figura 2.** Especies de parasitoides y su asociación con especies de *Anastrepha* en Cerro Azul y Altos de Pacora, Panamá.

*crawfordi*, las especies de distribución más amplia del género (Sivinski *et al.* 2000; López *et al.* 1999). En Panamá *D. areolatus* es reportado por Tapia (1989) sobre *A. obliqua* (Macquart) en frutos de *Mangifera indica* L. y por Navarro (1996) sobre *A. serpentina* en frutos de *Chrysophyllum cainito* L. en áreas con fuerte presencia antropogénica. Con pocas excepciones (Carrejo y González 1999), *D. zeteki* ha sido reportado como el parasitoide más abundante de un área, lo que nos indica la particularidad de la zona de muestro. Los resultados también indican que en condiciones naturales, al menos, las poblaciones de *D. crawfordi* sobre *A. serpentina* en *P. buenaventurensis* siguen un patrón denso dependiente.

El análisis con tablas de contingencias indica que existe una relación entre las especies de parasitoides y las de *Anas-*

*trepha* ( $\chi^2 = 80$ ,  $p < 0.05$ ,  $gl = 20$ ). Estas son las asociaciones que se dan en Cerro Jefe y Altos de Pacora, Panamá; *D. areolatus* parece estar más asociado con *A. striata* Schiner y *A. distincta* Greene en frutos de Myrtaceae y Fabaceae, respectivamente. *D. auripennis* y *D. capsicola* con *A. serpentina* en frutos de Sapotaceae. *D. zeteki* se encontró asociado a *Anastrepha* n. sp. y *A. serpentina* en frutos de Annonaceae y Sapotaceae. *O. bellus* y *D. crawfordi* se asocian a *A. anomala* en frutos de Apocynaceae.

Al parecer bajo condiciones naturales se producen asociaciones especie de planta-especie de *Anastrepha* que son más fáciles de reconocer para un mayor número de parasitoides ya que en este estudio la relación *P. buenaventurensis*-*A. serpentina* y *L. panamensis*-*A. anomala* resultaron ser más afectadas

por parasitoides. Es interesante si consideramos que otra especie de Sapotaceae (*Manilkara zapota* L.) fue infestada por *A. serpentina* pero no presentó parasitoides durante el muestro. De igual manera, en frutos de dos especies de *Pouteria* sp. (Sapotaceae) infestados por *A. leptozona* Hendel no hubo recuperación de parasitoides. Los mecanismos de reconocimiento que utilizan los parasitoides para ovipositar una vez han localizado los frutos infestados han sido caracterizados para algunas especies, según estos, parece haber una relación entre tamaño del fruto, longitud del ovipositor y número de parasitoides que emergen (Sivinski y Aluja 2003; Sivinski *et al.* 2001; Sivinski 1991). Sin embargo, los mecanismos primarios de búsqueda que conducen al parasitoide a encontrar el hábitat donde están los frutos infestados, han sido objeto de estudio durante décadas (Eben *et al.* 2000). Factores químicos, visuales, las plantas de las que se alimentan y el hábitat donde se encuentran los herbívoros juegan un papel importante en las condiciones de búsqueda de las avispas parasitoides (Vinson 1984). En algunos casos se observó que sustancias volátiles son usadas por las plantas afectadas para atraer a los parasitoides (Vinson 1984). Se debe señalar que en ambientes naturales, a diferencia de áreas de cultivo, las plantas hospederas de moscas de la fruta se encuentran esparcidas por varios metros o aun kilómetros. En consecuencia, los mecanismos que utilizan los parasitoides para encontrar plantas en producción que albergan a sus hospederos son probablemente variables.

En cuanto a la altitud Sivinski *et al.* (2000), indican que este es un factor que afecta significativamente la distribución



de los parasitoides de *Anastrepha*, sin embargo, el poco cubrimiento altitudinal en este estudio impide un buen análisis de la variable.

La distribución de parasitoides de larvas de *Anastrepha* es afectada por factores abióticos y bióticos que incluyen temperatura, humedad, abundancia de hospederos y presencia de competidores. Otro factor que juega un papel fundamental en la presencia de determinada especie de parasitoides son los disturbios procedentes de las actividades agrícolas (Sivinski *et al.* 2000).

### Conclusiones

La recuperación de seis especies de parasitoides en una franja de 18 km a los márgenes del camino y las asociaciones establecidas en este trabajo sugieren que debe existir una considerable fauna de parasitoides por descubrir y estudiar en los bosques tropicales de Panamá. Debido a que gran parte de la fauna de Norte y Sur América convergen es este país donde existen áreas en la que conviven una elevada diversidad de organismos entre ellos especies de *Anastrepha* y sus enemigos naturales.

### Agradecimientos

Al Dr. Robert Wharton por su ayuda en la identificación de dos de las especies de parasitoides.

### Literatura citada

- AGUIAR-MENEZES, E.; MENEZES, E.; SILVA, P.; BITTAR, C.; CASINO, P. 2001. Native hymenopteran parasitoids associated with *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Seropedica city, Río de Janeiro, Brazil. *Florida Entomologist* 84 (4): 706-711.
- ALUJA, M.; GUILLEN, J.; LIEDO, P.; CABRERA, M.; RIOS, E.; DE LA ROSA, G.; CELEDONIO, H.; MOTA, D. 1990. Fruit infesting tephritids (Diptera: Tephritidae) and associated parasitoids in Chiapas, Mexico. *Entomophaga* 35: 39-48.
- ALUJA, M.; RULL, J.; SIVINSKI, J.; NORBOM, A. 2003. Fruit flies on the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) and associated native parasitoids (Hymenoptera) in the tropical Rainforest Biosphere Reserve of Montes Azules, Chiapas Mexico. *Environmental Entomology* 32 (6): 1377-1385.
- CANAL, N.; ZUCCHI, R. A.; SILVA, N.; NETO, S. 1995. Análise faunística dos parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) em Manaus e Iranduba, estado do Amazonas. *Acta Amazonica Manaus* 25: 235-246.
- CARREJO, N.; GONZÁLEZ, R. 1999. Parasitoids reared from species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) in Valle del Cauca Colombia. *Florida Entomologist* 82 (1): 113-118.
- EBEN, A.; BENREY, J.; SIVINSKI, J.; ALUJA, M. 2000. Host species and host plant effects on preference and performance of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 29 (1): 87-94.
- KATIYAR, K.; CAMACHO, J.; GERAUD, F.; METHEUS, R. 1995. Parasitoides himenópteros [sic] de mosca de las frutas (Diptera Tephritidae) en la región occidental de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (Luz)* 12: 303-312.
- KORYTKOWSKI, C. A. 2002. Diversidad de especies del género *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) en Cerro Azul-Altos de Pacora. p. 66. En: Resúmenes. 21º Congreso científico Nacional. Universidad de Panamá. 105 p.
- LÓPEZ, M.; ALUJA, M.; SIVINSKI, J. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Biological Control* 15: 119-129.
- MAYO, E.; CORREA, M. 1994. El inventario biológico del Canal de Panamá. III Flora. Scientia. Número especial III. 451p.
- NAVARRO, A. J. 1996. Eficiencia hospedera del caimito *Chrysophyllum cainito* L. para *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) en Burunga, Arraiján, Panamá. Tesis de Maestría. Programa de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. 55 p.
- OVRUSKI, S.; CANCINO, J.; FIDALGO, P.; LIEDO, P. 1999. Perspectivas para la aplicación del control biológico de las moscas de la fruta en Argentina. *Manejo Integrado de Plagas* 54: 1-12.
- OVRUSKI, S.; ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; WHARTON, R. 2000. Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: Diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. *Integrated Pest Management Reviews* 5: 81-107.
- OVRUSKI, S. 2003. Nuevos aportes a la taxonomía de las especies de Opiinae (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) en la provincia de Tucumán, Argentina. *Acta Zoológica Lilloana* 47: 15-44.
- SIVINSKI, J. 1991. The influence of host fruit morphology on parasitization rates in the Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa*. *Entomophaga* 36 (3): 447-454.
- SIVINSKI, J. M. 1996. The past and potential of biological control of fruit flies. p. 369-375. In: MacPherson, A. B.; Steck, G. J. (eds.). *Fruit Fly Pest, world assessment of their biology and management*. St. Lucie Press. USA. 608 p.
- SIVINSKI, J.; PIÑEIRO, J.; ALUJA, M. 2000. The distribution of parasitoids (Hymenoptera) along an altitudinal gradient in Veracruz, Mexico. *Biological Control* 18: 258-269.
- SIVINSKI, J.; VULINEC, K.; ALUJA, M. 2001. Ovipositor length in a guild of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) in southern Mexico. *Annals of the Entomological Society of America* 94: 887-895.
- SIVINSKI, J.; ALUJA, M. 2003. The evolution of ovipositor length in the parasitic Hymenoptera and the search for predictability in biological control. *Florida Entomologist* 86 (2): 143-150.
- TAPIA, G. 1989. Relación del estado fenológico del mango papayo e infestaciones por moscas de la fruta en Capira. Tesis de Maestría. Programa de Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. 264 p.
- VINSON, S. B. 1984. Parasit-host. p. 205-233. En: Bell, W. J.; Carde, R. T. (eds.). *Chemical Ecology of Insect*. Sinauer Associates, Inc. USA. 524 p.
- WHARTON, R. A.; MARSH, P. M. 1978. New world Opiinae (Hymenoptera: Braconidae) parasitic on Tephritidae (Diptera). *Journal of the Washington Academy of Sciences* 68: 147-167.
- WHARTON, R. 2005. Parasitoids of Fruit-Infesting Tephritidae. Web site: <http://hymenoptera.tamu.edu/paroffit/>. Fecha última revisión: 4 febrero de 2005. Fecha último acceso: 9 de febrero de 2006.
- ZUCCHI, R. A. 2000. Especies de *Anastrepha*, sinonimias, plantas hospedeiras e parasitoides. p. 41-48. En: Malavasi, A.; Zucchi, R. A. (eds.). *Moscas-das frutas de importancia economica no Brasil. Conhecimento basico e aplicado*. Holar Editora. Riberáo Prieto. Brasil. 320 p.

## Tasa intrínseca de crecimiento de *Aleurotrachelus socialis* (Hemiptera: Aleyrodidae) en yuca *Manihot esculenta*

Intrinsic rate of population increase of *Aleurotrachelus socialis* (Hemiptera:Aleyrodidae) in cassava *Manihot esculenta*

CLAUDIA MARÍA HOLGUÍN A.<sup>1</sup>, ARTURO CARABALI<sup>1</sup>, ANTHONY C. BELLOTTI<sup>2</sup>

**Resumen.** La mosca blanca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las plagas más importantes en el cultivo de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en el Neotrópico. En Colombia, es el principal limitante del cultivo en los departamentos del Cauca, Valle del Cauca y Tolima ocasionando pérdidas en rendimiento en campos experimentales hasta del 79%. En 1995 esta especie ha colonizado e incrementado sus poblaciones en nuevas variedades y áreas donde anteriormente era una plaga secundaria. Con el objetivo de conocer el potencial de *A. socialis* para desarrollar poblaciones en nuevos materiales de yuca, se estimaron los parámetros biológicos y los principales estadísticos vitales de este insecto plaga, realizando bioensayos bajo condiciones controladas (25± 2° C, 70±5% HR, 12L:12D) sobre las variedades Chiroso (MCO 2066), Ica Armenia (HMC1) y CMC 40. Los resultados mostraron que las hembras de *A. socialis* vivieron más tiempo (6,4 días) sobre el genotipo CMC-40 y presentaron un alto potencial reproductivo (33,8 huevos por hembra). Por el contrario el menor tiempo de desarrollo (32,72 días) se obtuvo en el genotipo HMC1. Los tres genotipos presentaron altas tasas de supervivencia, siendo mayor en HMC1 (89%). El mayor incremento de las poblaciones ( $r_m$ ) se presentó en los genotipos HMC1 (0,167 día<sup>-1</sup>) y CMC40 (0,079 día<sup>-1</sup>). Los parámetros biológicos y poblacionales obtenidos constituyen una herramienta básica para elaborar estrategias de control de *A. socialis*.

**Palabras clave:** Parámetros demográficos. Longevidad. Fecundidad. Mosca blanca.

**Abstract.** The whitefly *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hemiptera: Aleyrodidae) is one of the most important pests in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) crops in the Neotropics. In Colombia, this is the major pest to the crop in the departments of Cauca, Valle del Cauca and Tolima, causing yield losses in experimental fields of up to 79%. Since 1995, this species has colonized and increased its populations in new varieties and areas where it was a secondary pest before. To estimate the potential of *A. socialis* to develop populations in new cassava varieties, the biological parameters and the main vital statistics of this pest were evaluated under controlled conditions (25± 2° C, 70±5% HR, 12L:12D) on the varieties Chiroso (Mcol 2066), Ica Armenia (HMC1) and CMC 40. The results indicated that *A. socialis* females lived for a longer time (6,4 days) on the genotype CMC-40 and showed a higher reproductive potential (33.8 eggs per female). On the contrary, the lowest developmental time (32,72 days) was obtained on the genotype HMC1. The three genotypes showed high survival rates, being highest on HMC1 (89%). The greatest population increase ( $r_m$ ) was found on HMC1 (0,167 day<sup>-1</sup>) and CMC40 (0,079 day<sup>-1</sup>). The biological and population parameters obtained constitute a basic tool to elaborate control strategies for *A. socialis*.

**Key words:** Demographic parameters. Longevity. Fecundity. Whitefly.

### Introducción

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es una de las principales fuentes de energía en las regiones tropicales del mundo (Ceballos 2002). En continentes como América, África y Asia el cultivo de yuca es de gran importancia por su gran contribución a la seguridad alimentaria de pequeños agricultores de zonas marginadas. Si bien el principal produc-

to económico son sus raíces, las hojas de la yuca también tienen un excelente potencial y son extensivamente utilizadas en África y Asia, ya sea para alimentación humana o animal (FAO/FIDA 2000).

Este cultivo es originario del neotrópico, por esta razón según Bellotti *et al.* (1994), una gran diversidad de artrópodos atacan la yuca en las Américas, ocasionando daño en las hojas, tallos, material de siembra y

raíces, lo que disminuye su rendimiento. Observaciones indican que las plagas que atacan la planta durante un período prolongado reducen el rendimiento en mayor grado que aquellas que hacen el daño en un periodo corto (Bellotti *et al.* 2002). Las “moscas blancas” *Trialeurodes variabilis* Quaintance, *Bemisia tuberculata* Bondar y *Aleurotrachelus socialis* Bondar, consiguen afectar la producción del material de siembra, el rendimiento

1 Asistentes de Investigación. Manejo de la Sanidad de Cultivos y Agroecosistemas. Entomología de Yuca, CIAT. E-mail: claudia\_holguin@hotmail.com, a\_carabali@yahoo.com

2 Autor para correspondencia: Líder del proyecto Entomología de Yuca, CIAT. A. A. 6713, Cali, Colombia. E-mail: a.bellotti@cgiar.org.

del cultivo y la calidad de las raíces cosechadas, cuando inician los ataques en edad temprana del cultivo y duran hasta etapas muy avanzadas del periodo vegetativo (Bellotti y Arias 2001).

De once especies de moscas blancas presentes en el cultivo de yuca, la especie más importante en Colombia es *A. socialis*, por las altas poblaciones y los daños que ocasiona al cultivo llegando a reducir el rendimiento hasta el 79% (CIAT 1986). El daño de esta plaga lo realizan tanto los adultos como los estados inmaduros al alimentarse del floema de la planta. Los adultos se ubican en las hojas apicales, produciendo una clorosis y "encartuchamiento" del cogollo (Bellotti *et al.* 2002). Las ninfas se ubican en las hojas intermedias e inferiores, producen abundante miel que cubre la superficie de la hoja, permitiendo el desarrollo de hongos como la fumagina. En infestaciones altas causan debilitamiento de la planta, caída de las hojas y reducción en el crecimiento (Castillo 1996), lo cual da como resultado una disminución en la producción de raíces si se prolonga la alimentación (Bellotti 2000).

En los últimos años, la población de *A. socialis* ha incrementado y se ha vuelto endémica en los departamentos de Cauca y Valle del Cauca (Bellotti *et al.* 2002), lo que conllevó a que muchos agricultores dejaran de cultivar yuca en estas zonas. Actualmente, la plaga ha colonizado áreas en las que anteriormente era secundaria y desconocida para los cultivadores de yuca.

La reacción inicial de los agricultores para manejar el problema ha sido la aplicación indiscriminada de insecticidas. Este hecho unido a la capacidad de dispersión de las moscas blancas (Byrne *et al.* 1990), han favorecido su emigración a nuevas áreas de siembra. Es el caso de la zona cafetera de Colombia (Norte del Valle del Cauca y el Quindío) donde en el último año, la mosca blanca está ocasionando grandes pérdidas en los cultivos de yuca de estos departamentos.

El potencial de una plaga para desarrollar poblaciones se deriva en primera instancia de la relación con la planta hospedera. La supervivencia, duración del desarrollo y fecundidad son indicadores de esa relación y sirven para calcular la velocidad con la cual puede aumentar la población bajo ciertas condiciones. Así mismo, con base en estos indicadores, es posible determinar los efectos de los manejos y racionalizarlos (Geraud-Pouey *et al.* 1996).

En la literatura científica, existe amplia información sobre la biología y demografía de las especies de mosca blanca de importancia económica en diversos cultivos (Manzano *et al.* 2000; van Lenteren *et al.* 1989); sin embargo, con *A. socialis* no se han realizado estudios sobre su demografía. Por esta razón, en la presente investigación, se estimaron la biología y parámetros poblacionales de *A. socialis* con un clon susceptible y dos materiales comerciales de yuca, con el propósito de conocer el potencial de *A. socialis* para desarrollar poblaciones en nuevos materiales de yuca y zonas productoras, además para buscar medidas futuras de control para esta plaga como el control biológico y la resistencia de variedades.

### Materiales y Métodos

Esta investigación se realizó durante el primer semestre de 2005 en el invernadero de Entomología de yuca del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado en el municipio de Palmira, Departamento del Valle del Cauca a 1.000 msnm.

El material vegetal utilizado correspondió a plantas de yuca de 30-40 días de siembra de la variedad CMC 40, chirosa (Mcol 2066) e Ica Armenia (HMC1), sembradas en recipientes plásticos con suelo estéril de 1.0 kg, los cuales se mantuvieron en casa de malla a una temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de 50-60%. Los adultos de *A. socialis* fueron tomados de la colonia establecida en CIAT desde 1992 sobre plantas de yuca de la variedad CMC 40 mantenidas en invernadero a una temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de 60-70%.

**Longevidad y fecundidad.** Se individualizaron cuarenta hembras de *A. socialis*, recién emergidas y previamente sexadas de acuerdo con la técnica descrita por Eichelkraut y Cardona (1989), en jaulas pinza (diámetro = 2,5cm; profundidad = 2cm) y se ubicaron en el envés de las hojas de Chirosa (MCOL 2066), Ica Armenia (HMC1) y CMC-40. Cada 48 horas se removieron los adultos a una nueva área de la hoja hasta la muerte natural de las hembras. Para estimar la fecundidad se contó el número de huevos colocados por hembra cada 48 horas y la longevidad se estimó como el máximo tiempo (días) que una hembra vive.

**Tiempo de desarrollo, tasa de supervivencia y proporción de sexos.** De la colonia de *A. socialis* previamente establecida en CIAT, se tomaron con la ayu-

da de un aspirador bucal cincuenta adultos (machos y hembras) de dos días de emergidos. Posteriormente se ubicaron en jaulas pinza (diámetro = 2,5 cm; profundidad = 2 cm) sobre el envés de las hojas de CMC-40, Ica Armenia (HMC1) y Chirosa (MCOL 2066). Se retiraron los adultos después de seis horas y se seleccionaron 200 huevos al azar. Se registró el tiempo de desarrollo de huevo-adulto, la tasa de supervivencia de los estados inmaduros y la proporción de sexos.

**Parámetros demográficos.** Se combinaron los datos del tiempo de desarrollo y la reproducción ' $l_x-m_x$ ' para generar tablas de vida, las cuales se utilizaron en el cálculo de los parámetros demográficos definidos por Price (1975) tales como: 1) Tasa de reproducción neta ( $R_0$ ) o número promedio de descendientes que una hembra deja en una generación; 2) Tiempo generacional (T), equivalente al periodo comprendido entre el nacimiento de los padres y el de la progenie y 3) Tasa intrínseca de crecimiento de la población ( $r_m$ ), estimada mediante la ecuación de Carey (1993):

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

Donde:

$X$ , Edad de la hembra;

$l_x$ , Edad de supervivencia específica

$m_x$ , La proporción de hembras de la progenie de una hembra con edad  $x$ .

Para estimar los días necesarios para duplicar en número la población (Carey 1993), se utilizó la edad corregida  $X+0.5$  y la ecuación  $\ln 2 / r_m$ , en los cálculos de los valores de  $r_m$ .

**Análisis estadístico.** Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute 1999). Los valores promedios de longevidad, fecundidad, tasa de oviposición y tiempo de desarrollo, se analizaron utilizando ANOVA. Se realizaron comparaciones múltiples utilizando el método de Tukey. Los valores de las tasas de supervivencia se compararon mediante Ji cuadrado.

### Resultados

**Longevidad y fecundidad.** El rango de longevidad más amplio de *A. socialis* se presentó en el genotipo CMC-40. La longevidad media de las hembras de *A. socialis* fue significativamente más alta cuando se desarrollaron sobre CMC-40 ( $P < 0.0001$ , seguido por Tukey  $P < 0.05$ ) (Tabla 1), excediendo en 2,6 días en pro-

medio a MCol-2066 y HMC1. Estas diferencias se pueden observar en las curvas de supervivencia (Fig. 1), donde, al sexto día la proporción de hembras vivas se redujo 50,25 y 22,5% sobre CMC-40, MCol-2066 y HMC1, respectivamente.

El rango de huevos por hembra fue amplio en CMC-40 y MCol 2066, siendo mayor para el segundo (1-154 huevos). Los promedios de fecundidad fueron diferentes ( $P < 0.0001$ , seguido por Tukey  $P < 0.05$ ), siendo 1,6 y 1,7 veces mayor sobre CMC-40 comparado con MCol-2066 y HMC1, respectivamente (Tabla 1). La tasa de oviposición más alta se obtuvo sobre CMC-40 ( $P < 0.0001$ , seguido por Tukey  $P < 0.05$ ).

Todas las hembras de *A. socialis* iniciaron la oviposición en las primeras 48 horas (Fig. 2). Durante este periodo se obtuvo el 36,26 y 18% de la descendencia total sobre HMC1, MCol 2066 y CMC-40, respectivamente. Así mismo, no se presentó variabilidad en el día máximo de oviposición entre los genotipos HMC1 y MCol 2066 (cuarto día), comparado con CMC-40 (octavo día) (Fig. 2).

Las tasas de oviposición presentan patrones diferentes en los tres genotipos variando con la edad de las hembras. Las curvas de la tasa de oviposición en HMC1 y MCol 2066 muestran una culminación temprana de la oviposición comparada con la de *A. socialis* en CMC 40, la cual exhibe un patrón normal con un mayor número de posturas en el día ocho.

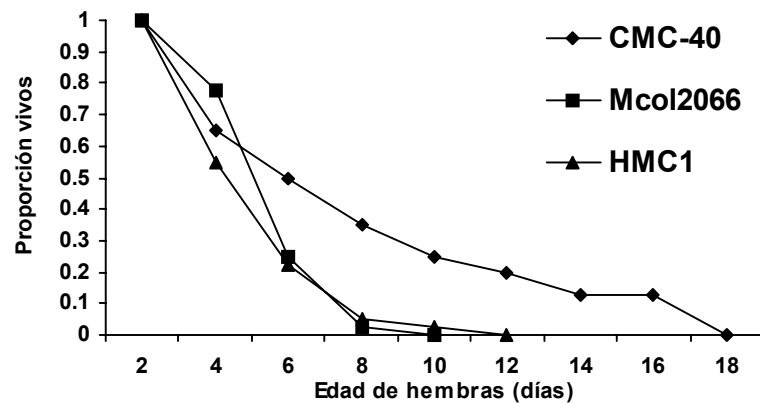
Los valores de fecundidad obtenidos en CMC-40 (33,8 huevos/hembra) fueron similares a los obtenidos por Bellotti y Arias (2001) sobre el mismo genotipo (35,5 huevos/hembra). Estos resultados unidos a un mayor valor de longevidad, sugieren, que cuando las poblaciones de *A. socialis* se desarrollan sobre el genotipo CMC-40 exhiben una mayor capacidad reproductiva que cuando se establecen sobre HMC1 y MCol 2066.

**Tiempo de desarrollo, supervivencia de los estados inmaduros y proporción de hembras.** El tiempo de desarrollo de *A. socialis* fue dos días menor sobre HMC1 comparado con el genotipo MCol 2066. Estos valores fueron diferentes al obtenido sobre CMC-40 ( $P < 0.0001$ , seguido por Tukey  $P < 0.05$ ) (Tabla 2). Al comparar los resultados del tiempo de desarrollo sobre los tres genotipos es posible plantear que *A. socialis* presenta una mayor adaptación biológica cuando sus

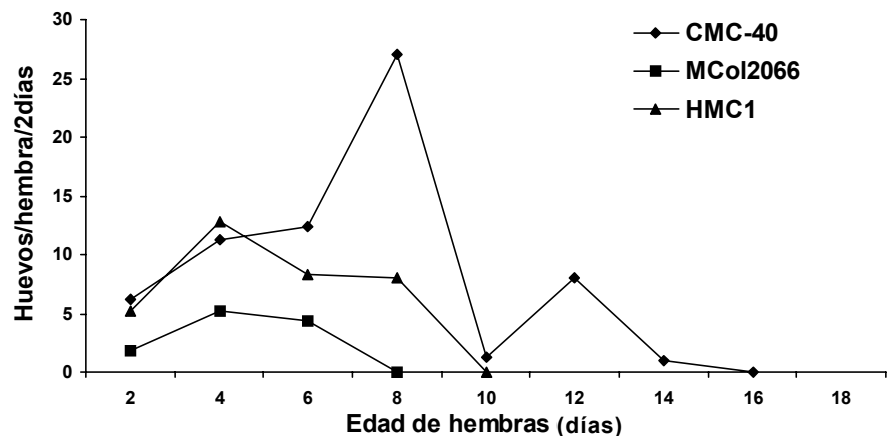
**Tabla 1.** Longevidad, fecundidad y tasa de oviposición de *Aleurotrachelus socialis* sobre genotipos de *M. esculenta* (CMC-40, MCol 2066 y HMC1) (n= 40).

Parámetro	CMC-40	Mcol 2066	HMC1
Longevidad media (d)	6.4 a	3.9 b	3.7b
Rango	2 – 16	2 – 8	2-10
Fecundidad media (h)	33.8 a	7c	14.5b
Rango	1 – 125	1 - 154	1-63
Tasa de oviposición media $\phi$ (h/h/2d <sup>o</sup> )	5.3 a	1.8 c	3.9b
	0-11.6	0-6.75	0-11.5

Cifras seguidas por letras diferentes a través de las columnas indican diferencias significativas.  $\phi$  ANOVA – Una vía.  $P < 0.0001$ , GL:1, Tukey  $P < 0.05$ .



**Figura 1.** Curvas de supervivencia de *A. socialis* sobre genotipos de *M. esculenta* (CMC-40; MCol 2066 y HMC1).



**Figura 2.** Curva de oviposición de *A. socialis* sobre genotipos de *M. esculenta* (CMC-40; MCol 2066 y HMC1).

poblaciones se desarrollan en HMC1. Los resultados del tiempo de desarrollo de *A. socialis* en CMC-40 encontrados en este estudio difieren en siete días aproximadamente con los registrados por Bellotti y Arias (2001).

Por otro lado, las más altas tasas de supervivencia de los estados inmaduros fueron encontradas sobre los genotipos HMC1 y MCol 2066, siendo diferentes

( $\chi^2=3.56$ , 2 df,  $P=0.0593$ ) al compararse con CMC-40 (Tabla 2). No obstante las diferencias encontradas en los tres hospederos, *A. socialis* presentó bajas tasas de mortalidad de los estados inmaduros sobre los tres genotipos. Los resultados de este parámetro son un buen indicador de la capacidad de *A. socialis* para el desarrollo e incremento de sus poblaciones sobre los genotipos comerciales HMC1

**Tabla 2.** Tiempo de desarrollo, tasa de supervivencia, proporción de hembras y parámetros demográficos de *A. socialis* sobre genotipos de *M. esculenta* (CMC-40; MCol 2066 y HMC1).

Parámetro	CMC-40	Mcol 2066	HMC1
Tiempo de desarrollo (d)	39.7 b	34.7 a	32.72
No. de Insectos	160	174	178
Tasa de supervivencia (%)	80	87	89
No. de Insectos	200	200	200
Proporción hembras (%)	50	50	50
No. de insectos	160	174	178
Tasa reproducción neta (Ro)	33.74	6.2	14.51
Tiempo generacional (T <sub>g</sub> )	44.23	36.71	23.72
Tasa intrínseca crecimiento (r <sub>m</sub> )	0.0796	0.0495	0.1678
DDP ln2/r <sub>m</sub>	8.7	14	4.1

Tiempo desarrollo, diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas.

ANOVA Tukey método  $p < 0.05$ . Tasa supervivencia de estados inmaduros ( $\chi^2=3.56$ ,  $gI=1$ ,  $p=0.0593$ ).

y Mcol 2066 y, evidencian el riesgo que representan al ser hospederos convenientes. Los resultados de mortalidad sobre CMC-40 fueron 14% menos comparados con los resultados obtenidos por Bellotti y Arias (2001). La proporción de sexos (relación 1:1) de *A. socialis* no fue afectada durante su desarrollo en los tres hospederos.

**Parámetros demográficos.** Los resultados de la tasa de reproducción neta (Ro) permitieron estimar que en promedio, al cabo de una generación, las poblaciones de *A. socialis* podrían multiplicarse 33,7 veces en 44 días sobre CMC-40; siendo 14 y dos veces mayor comparado con HMC1 y MCol 2066, respectivamente (Tabla 2). Es decir, el incremento de *A. socialis* en CMC-40 con respecto a HMC1 fue dos veces mayor en un tiempo más amplio (dos veces aproximadamente). Las diferencias pueden explicarse por la mayor tasa de fecundidad obtenida sobre CMC-40. Así mismo, los resultados del tiempo generacional (T) indican que las poblaciones de *A. socialis* necesitan aproximadamente 23,7 días para completar una generación sobre HMC1, mientras que en MCol 2066 y CMC-40 necesitan 36,7 y 44,2 días, respectivamente (Tabla 2). Lo cual permite predecir que las poblaciones de *A. socialis* pueden desarrollar hasta 15 generaciones por ciclo de cultivo sobre HMC1, cinco y siete generaciones más que en MCol 2066 y CMC-40. Estos resultados son consistentes con las observaciones realizadas en el campo, a la vez que sugieren una explicación de la irrupción y continuo traslape de las poblaciones de *A. socialis* sobre los genotipos comerciales HMC1 y Mcol 2066.

Así mismo, los resultados muestran una tendencia similar al comparar las tasas intrínsecas de crecimiento (r<sub>m</sub>). El análisis

revela un mayor crecimiento de la población de *A. socialis* sobre el genotipo HMC1, el cual fue mayor en un 52 y 70% sobre CMC-40 y Mcol 2066, respectivamente. El menor crecimiento de la población sobre Mcol 2066, estuvo influenciado por el menor valor de fecundidad de *A. socialis*. Los valores más altos de la fecundidad de las hembras de la mosca blanca en CMC-40 y HMC1 estuvieron inversamente relacionados con los valores más altos de (r<sub>m</sub>) (0,076 día<sup>-1</sup> y 0,167 día<sup>-1</sup>) respectivamente, mientras decrecieron directamente en MCol 2066. En términos poblacionales esto sugiere que el crecimiento de las poblaciones (r<sub>m</sub>) de *A. socialis* sobre el genotipo HMC1 no fue sensible a los cambios en la fecundidad y al parecer el parámetro que más afecta su crecimiento es el tiempo de desarrollo. Como resultado de estos parámetros, *A. socialis* necesita solamente 4.1 días para duplicar en número su población sobre HMC1, mientras en CMC-40 y Mcol 2066 requiere 4 y 10 días más, respectivamente (Tabla 2).

La tasa intrínseca de crecimiento (r<sub>m</sub>) de *A. socialis*, permitió definir que esta especie presenta un alto potencial para desarrollar poblaciones sobre diferentes genotipos de yuca. Los materiales chirosa (Mcol 2066) e Ica Armenia (HMC1) ampliamente sembrados en el departamento del Quindío son hospederos convenientes para que la mosca blanca continúe incrementando sus poblaciones.

Los parámetros demográficos de un insecto plaga, además de servir como herramientas básicas para determinar la capacidad reproductiva de una especie, permiten entender los efectos de los manejos y racionalizarlos (Geraud-Pouey *et al.* 1996), así como visualizar el efecto

que tienen los factores reguladores (especialmente enemigos naturales) para aprovecharlos al máximo en programas de manejo integrado de plagas (Geraud-Pouey *et al.* 1997). Dicha visualización se logra comparando el potencial para desarrollar poblaciones (simulaciones de desarrollo poblacional sin limitaciones) con las observadas en el campo, sobre las cuales influyen otros factores como enemigos naturales (Chirinos *et al.* 2003)

Los resultados de esta investigación, plantean la necesidad de implementar estrategias para reducir las poblaciones de *A. socialis* en un corto y mediano plazo. Estas medidas deben hacer parte de un programa de manejo integrado, basado en el control biológico y resistencia de variedades. Otro tipo de control como el químico resulta antieconómico en este cultivo (Holguín y Bellotti 2004).

### Literatura citada

- BELLOTTI, A. C.; BRAUN, A. R.; ARIAS, B.; CASTILLO, J. A.; GUERRERO, J. M. 1994. Origin and management of Neotropical Cassava arthropod pests. *African Crop Science Journal* 2 (4): 407-417.
- BELLOTTI, A. C. 2000. El manejo integrado de las principales plagas de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). p. 210-248. En: Memorias. Primer Curso - Taller Internacional sobre control biológico. Bogotá.
- BELLOTTI, A.C.; ARIAS, B. 2001. Host plant resistance to whiteflies with emphasis on cassava as a case study. *Crop Protection* 20: 813-823.
- BELLOTTI, A. C.; ARIAS, B.; VARGAS, O.; REYES, J. A.; GUERRERO, J. M. 2002. Insectos y ácaros dañinos a la yuca y su control. p. 160-203. En: Ospina, B.; Ceballos, H. (eds.). La yuca en el tercer milenio. Sistemas de producción, procesamiento, utilización y comercialización. CIAT. Palmira. Colombia. 586 p.
- BYRNE, D; BELLOWS. T.; PARRELLA, M. 1990. Whiteflies in agricultural systems. p. 227-262. En: Gerling, D. (ed.). Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept Ltd. Hants. United Kingdom. 348 p.
- CAREY, J. R. 1993. Applied demography for biologists. Oxford University Press, New York. 206 p.
- CASTILLO, J. 1996. Moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) y sus enemigos naturales sobre cultivos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en Colombia. Trabajo de Maestría. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Colombia. 174 p.
- CEBALLOS, H. 2002. La yuca en Colombia y el mundo: nuevas perspectivas para un cultivo milenario. p. 1-13. En: Ospina, B.; Ceballos, H. (eds.). La yuca en el tercer

- milenio. Sistemas de producción, procesamiento, utilización y comercialización. CIAT. Palmira. Colombia. 586 p.
- CHIRINOS, D.; GERAUD-POUEY, F.; ROMAY, G. 2003. Duración del desarrollo y estadísticos poblacionales de *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* von Ihering (Hemiptera: Eriococcidae) sobre varias especies de *Psidium*. Entomotropica 18 (1): 7-20.
- CIAT, 1986. Mosca blanca en el cultivo de la yuca: biología y control. Serie 045C-0405. Auditorial. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 34 p.
- EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. 1989. Biología, cria masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), una plaga de frijol común. Turrialba 39: 55-62.
- FAO/FIDA (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola/Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2000. La economía mundial de la yuca: hechos, tendencias y perspectivas. Roma, Italia. 59 p.
- GERAUD-POUEY, F.; SÁNCHEZ, B.; CHIRINOS, D. T. 1996. Biología del minador del tomate, *Keiferia lycopersicella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y potencial para desarrollar sus poblaciones. Revista Facultad de Agronomía LUZ 14: 329-339.
- GERAUD-POUEY, F.; SÁNCHEZ, B.; CHIRINOS, D. T. 1997. Biología del minador del tomate, *Keiferia lycopersicella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y potencial para desarrollar sus poblaciones. Revista Facultad de Agronomía LUZ 14: 329-339.
- HOLGUÍN, C. M.; BELLOTTI, A. C. 2004. Efecto de la aplicación de insecticidas químicos en el control de la mosca blanca *Aleurotrachelus socialis* Bondar en el cultivo de yuca *Manihot esculenta* Crantz. Revista Colombiana de Entomología 30 (1): 37-42.
- MANZANO, M. R.; VAN LENTEREN, J. C.; CARDONA, C.; DROST, Y. C. 2000. Development time, sex ratio and longevity of *Amitus fuscipennis* MacGown & Nebeker (Hymenoptera: Platygasteridae) on the greenhouse whitefly. Biological Control 18: 94-100.
- PRICE, P. 1975. Insect ecology. Wiley & Sons. New York. 514 p.
- VAN LENTEREN, J. C.; VIANEN, A. V.; HATALA-ZSELLER, I.; BUDAI, C. 1989. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae), XXIX: Suitability of two cultivars of sweet pepper, *Capsicum annum* L., for two different strains of whiteflies. Journal of Applied Entomology 108: 113-130.

Recibido: 13-jun-06 • Aceptado: 10-sep-06

## Parámetros poblacionales de *Zulia carbonaria* (Hemiptera: Cercopidae) sobre *Brachiaria ruziziensis*

Population parameters of *Zulia carbonaria* (Hemiptera: Cercopidae) on *Brachiaria ruziziensis*

JAIRO RODRÍGUEZ CH.<sup>1</sup>, DANIEL C. PECK<sup>2</sup>

**Resumen.** Como un complemento a los estudios biológicos desarrollados en el CIAT sobre el salivazo de los pastos (Hemiptera: Cercopidae), se estableció una tabla de vida específica para el caso de *Zulia carbonaria* (Lallemand). La tabla de esperanza de vida se desarrolló en laboratorio (27°C, 100% HR, oscuridad total) para los huevos, y en casa de malla (19,5/29,5°C min./max., HR mínima del 56,3%) para ninfas y adultos. La supervivencia exhibida por *Z. carbonaria* fue de 53,4% (huevo-adulto). La mortalidad total exhibida por los estados inmaduros de *Z. carbonaria* fue del 46,4% dividida en 10.1 y 36,3% para huevos y ninfas, respectivamente, con un poder de mortalidad ( $kx$ ) de 0,27. Para la tabla de fertilidad, la longevidad promedio para las hembras fue de 29,3 días, con una fecundidad promedio de  $125,8 \pm 82,9$  huevos/hembra y una fertilidad del 97,9%. El tiempo generacional ( $T$ ) fue de 67,4 días, con una tasa neta reproductiva ( $R_0$ ) para ( $T$ ) de 33,6 veces. La tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r_m$ ) mostró que *Z. carbonaria* puede aportar 0,05 hembras/día a lo largo del tiempo generacional. Adicionalmente se determinó que las hembras presentaron una tasa finita de multiplicación lambda ( $\lambda$ ) de 1,05 hembras/día. Esta información es la primera de este tipo para especies de salivazo en Colombia, y se constituye en una herramienta apropiada para determinar la calidad de poblaciones obtenidas mediante crías artificiales o bajo diferentes condiciones de hábitat u hospedero.

**Palabras clave:** Ecología. Tabla de vida. Salivazo de los pastos.

**Abstract.** To complement biological studies developed at CIAT on grass-feeding spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae), a life table was established for the specific case of *Zulia carbonaria* (Lallemand). The cohort life table was conducted in the laboratory (27°C, 100% RH, continual darkness) for the eggs and in the greenhouse (19.5/29.5°C min./max., RH min. 56.3%) for the nymphs and adults. The survival exhibited by *Z. carbonaria* was 53.4% (egg-adult). The total mortality exhibited by the immature stages of *Z. carbonaria* was 46.4% divided in 10.1 and 36.3% for the eggs and nymphs, respectively, with a "killing-power" ( $kx$ ) of 0.27. For the fertility table, the mean longevity of females was 29.3 days, with a mean fecundity of  $125.8 \pm 82.9$  eggs/female and a fertility of 97.9%. The generational time ( $T$ ) was 67.4 days, with a net reproductive rate ( $R_0$ ) for ( $T$ ) of 33.6 times. The intrinsic rate of natural increase ( $r_m$ ) showed that *Z. carbonaria* produces 0.05 females/day during the generational time. In addition, it was determined that the females presented a finite rate of multiplication ( $\lambda$ ) of 1.05 females/day. This information is the first of its kind for spittlebug species in Colombia, and constitutes an appropriate tool to determine the quality of populations obtained from artificial colonies or under different habitat and host plant conditions.

**Key words:** Ecology. Life table. Grass-feeding spittlebugs.

### Introducción

Según Lapointe y Miles (1992) el salivazo de los pastos es considerada la plaga más limitante en la actividad ganadera en América Tropical. A pesar de esta connotación es notoria la falta de estudios básicos sobre la biología y comportamiento del insecto que permitan entender su comportamiento en el campo, comprometiendo la efectividad de cualquier táctica de control. En el CIAT en los últimos años se han desarrollado investigaciones sobre la biología comparada del salivazo de los

pastos. Estos estudios han cuantificado la variación a través del complejo en ciertos componentes biológicos. Por ejemplo, entre las especies predominantes en Colombia, el ciclo de vida varía entre 45 y 75 días (Peck *et al.* 2002a; Rodríguez *et al.* en preparación), y dependiendo de la región geográfica, el salivazo logra de dos hasta seis generaciones al año (Castro *et al.* 2005; Peck *et al.* 2002a; 2002b). Además, aunque la literatura reporta al suelo como el sustrato de oviposición más común para este grupo de insectos, algunas especies logran colocar hasta el 83% de

huevos en otros sustratos como debajo la vaina o en la hojarasca (Rodríguez *et al.* 2003). Esta variación es obviamente relevante, al momento de implementar tácticas de manejo tendientes a disminuir el impacto del insecto en los diversos hábitats.

Los parámetros biológicos, así como los principales estadísticos vitales de una población de un insecto plaga, estimados con base en tablas de vida desarrolladas en condiciones de laboratorio, se constituyen en una herramienta básica para la implementación de estrategias de

1 Asistente de Investigación, Manejo Integrado de Plagas, CIAT, A.A. 6713 Cali, Valle. Email: j.chalarca@cgiar.org

2 Assistant Professor, Department of Entomology, New York State Agricultural Experiment Station, Cornell University, Ithaca, NY, EEUU. Email: dp25@cornell.edu

control (Carey 1993; Southwood 1978). Estas estimaciones han sido empleadas en estudios tendientes a evaluar resistencia de plantas (Trichilo y Leigh 1985) y además como un patrón para la selección de enemigos naturales (Janssen & Sabelis 1992). Las tablas de vida suministran información válida para la comprensión de la dinámica poblacional de una especie en particular (Sharov 1996; Carey 1993); éstas resumen la información esencial de una población con respecto a la tasa de mortalidad, supervivencia y esperanza de vida de la especie (Silveira *et al.* 1976). Según Carey (1993), las tablas de vida pueden ser completas o abreviadas; en una tabla de vida completa las funciones se computan para cada día de la vida.

Con base en lo anterior se planteó el presente trabajo con el propósito de establecer una tabla de vida específica para el caso de *Zulia carbonaria* (Lallemand) como un complemento a los estudios biológicos desarrollados en el CIAT para la misma especie (Rodríguez *et al.* 2002; Arango y Calderón 1981).

*Zulia carbonaria* es una de las 16 especies de salivazo de los pastos reportados hasta la fecha en Colombia asociadas con gramíneas forrajeras (Peck *et al.* 2004; Peck 2001). Actualmente esta especie se encuentra registrada en seis departamentos de Colombia asociada con *Andropogon gayanus* Kunth, *Brachiaria brizanta* (A. Rich.) Stapf, *Brachiaria decumbens* (Stapf), *Brachiaria dictyoneura* (Fig. & De Not.) Stapf, *Brachiaria humidicola* Stapf, *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc., *Brachiaria* sp., *Cynodon* sp., *Oryza sativa* L., *Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov., y *Saccharum officinarum* L. *Z. carbonaria* es un insecto chupador que extrae su alimento del xilema (Fewkes 1969). Al igual que los otros miembros de la familia Cercopidae las ninfas se caracterizan principalmente por la construcción de una masa de espuma. Esta masa sirve de defensa contra enemigos naturales y protección contra microclima adverso (Whittaker 1970). Los adultos no poseen la capacidad de producir la masa de espuma; emplean como mecanismo de defensa colores aposemáticos, y apoyados por una defensa secundaria denominada autohemorragia (Peck 2000).

Debido a la carencia de estudios relacionados con parámetros poblacionales en especies de salivazo, y para evaluar protocolos y empezar a establecer estos fundamentos para este grupo en Colombia, se escogió trabajar con una especie mo-

delo *Z. carbonaria*. La biología básica y fluctuación poblacional de esta especie han sido descritas en una serie de estudios conducidos en el CIAT en el valle geográfico del Río Cauca (Castro *et al.* 2005; Rodríguez *et al.* 2002; Peck 2001; CIAT 1999; Castro *et al.* 1999). Esta información ofrece nuevas bases para el establecimiento de tácticas de manejo tendientes a disminuir el impacto del insecto en campo y adicionalmente, como una medida de control de calidad para las colonias implementadas para llevar a cabo estudios de resistencia por el CIAT.

### Materiales y Métodos

El trabajo se realizó durante el primer semestre del 2002 en condiciones de laboratorio y casa de malla (temperatura mínima promedio de 19,5°C, máxima promedio de 29,5°C, y humedad relativa mínima del 56,3%), en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado a 3°31'N y 76°22'W, altura de 965 msnm y precipitación anual de 1.000 mm. La colonia para estos estudios se estableció a partir de hembras recolectadas en el Mpio. Santander de Quilichao, Departamento del Cauca a 1.060 msnm. *Brachiaria ruziziensis* CIAT 654 fue el material vegetal usado en cada fase de los estudios.

**Tabla de esperanza de vida.** Hembras adultas fueron confinadas en cajas de petri de 150 x 25 mm de diámetro con papel filtro doble humedecido con agua destilada. En cada una de las 10 cajas petri se confinaron seis hembras y tres machos (Figura 1a) para asegurar un buen número de huevos, provenientes de diferentes hembras para una mayor representatividad. Como alimento se suministraron tallos de *B. ruziziensis* con sus bases dentro de un microvial con agua. Luego de 24 horas las hembras se retira-

ron de las cajas y se procedió a recuperar los huevos para ser almacenados para su observación en cajas plásticas reticuladas (Figura 1b). Las cajas fueron almacenadas bajo condiciones de incubación (27°C, 100% HR y oscuridad total). Mediante evaluación diaria se determinó la supervivencia y mortalidad de los huevos en cada una de sus cuatro fases de desarrollo (S1, S2, S3 y S4 según Rodríguez *et al.* 2002).

Mediante la observación diaria de los huevos se pudo determinar la emergencia de las ninfas (<12 horas de edad). Se retiraron de las cajas reticuladas para llevarlas al invernadero, donde fueron depositadas en potes plantados con el hospedero. Los potes fueron cubiertos con una tapa provista de un orificio para darle paso al material vegetal y contener a la ninfa. Esta metodología permitió determinar la supervivencia y mortalidad para cada uno de los instares ninfales (Rodríguez *et al.* 2002; Lapointe *et al.* 1992).

Basados en una cohorte inicial de 118 huevos se calcularon los parámetros de la tabla de esperanza de vida: ( $ax$ ) número de individuos al inicio de cada grupo de edad, ( $lx$ ) proporción de la cohorte que sobrevive a cada grupo de edad, ( $dx$ ) número de individuos muertos durante cada grupo de edad, ( $qx$ ) tasa de mortalidad específica por etapa de desarrollo y ( $kx$ ) poder de mortalidad (Begon *et al.* 1990). Los datos demográficos se resumieron en una tabla de esperanza de vida, con los valores promedios de los datos observados. Para la configuración de la tabla de esperanza de vida de *Z. carbonaria* se empleó una estructura utilizada en otros estudios, pero adicionalmente se incluyó el poder de mortalidad ( $kx$ ) como una medida más de la mortalidad para los estados inmaduros que a diferencia del ( $qx$ ) pueden ser sumados y permitir compara-



**Figura 1.** (A) Hembras de *Z. carbonaria* confinadas para la obtención de huevos. (B) Montaje para la observación del desarrollo de los huevos (cohorte inicial).



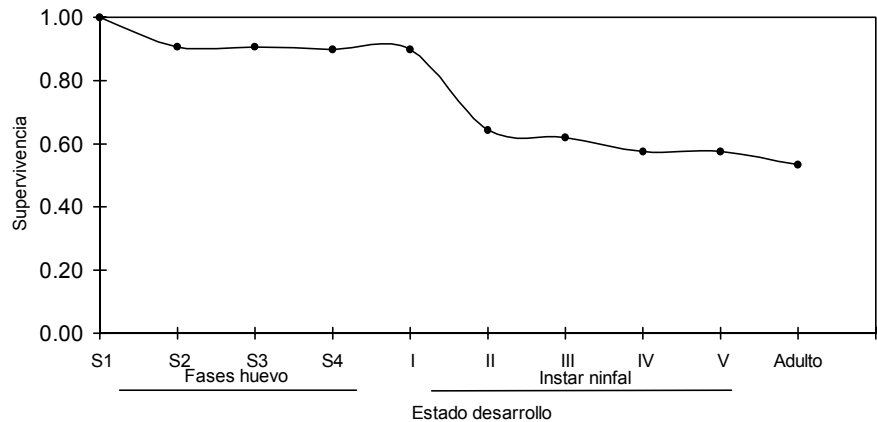
ciones entre los distintos valores en las etapas de desarrollo del mismo ciclo (Manrique *et al.* 1998; Dent y Walton 1997; Sharov 1996).

**Tabla de fertilidad.** Una vez los individuos provenientes de la cohorte inicial llegaron al estado adulto, se procedió con la tabla de fertilidad para las hembras (Manzano *et al.* 2002; Silveira *et al.* 1976) bajo condiciones de casa de malla. Los potes con el hospedero fueron acondicionados con una tapa invertida sobre la cual se colocó una capa de suelo de 2,0 cm de espesor (Fig. 2a). Para evitar el escape de los adultos cada pote fue cubierto con un cilindro de acetato, en cuya parte superior se colocó un trozo de muselina sujeta mediante un caucho (Fig. 2b). Cada pote se infestó con una sola hembra y dos machos que eran sustituidos al morir, asegurando de esta forma la presencia de machos mientras la hembra permanecía viva. La unidad de tiempo determinada para la evaluación de oviposición fue de tres días, al cabo de los cuales los adultos eran retirados y llevados a una nueva unidad. Este procedimiento se repitió a lo largo de todo el ensayo hasta que las hembras murieran. Basados en el hábito de oviposición de *Z. carbonaria*, la capa de suelo de cada unidad fue retirada y llevada al laboratorio para la recuperación y conteo de los huevos, empleando para esto una solución salina al 35% que facilita la flotación y separación de los huevos de las impurezas (Rodríguez *et al.* 2002; Lapointe *et al.* 1989; Sotelo *et al.* 1988). Luego de ser contados, los huevos fueron almacenados bajo condiciones de incubación (27°C, 100% HR y oscuridad total) hasta la eclosión de la ninfa.

Los cálculos se basaron en los valores promedios para una cohorte inicial de 30 hembras. Se determinó la fecundidad y la fertilidad de las hembras basados en el número total de huevos colocados por la cohorte. De igual forma se determinó la relación de sexos apoyados en evaluaciones y observaciones en estudios anteriores realizados por el CIAT. Con los valores promedios de la longevidad de las hembras, la tasa de oviposición y la proporción de sexos, se construyó la tabla de fertilidad basado en lo descrito por Birch (1948). Construida la tabla de fertilidad, se determinaron los siguientes parámetros demográficos. El tiempo generacional ( $T$ ), fue entendido como el período medio entre el nacimiento de los padres y el nacimiento de los descendientes. La tasa neta de reproducción ( $R_0$ ),



**Figura 2.** (A) Montaje empleado para establecer la mortalidad y supervivencia de ninfas de *Z. carbonaria*. (B) Montaje para establecer la fecundidad de las hembras *Z. carbonaria*.



**Figura 3.** Curva de supervivencia de *Z. carbonaria* alimentadas sobre el hospedero *B. ruziziensis* CIAT 654 bajo condiciones de estudio.

representó el número promedio de los descendientes que una hembra dejó en una generación, resumiendo la supervivencia y la fecundidad. La tasa intrínseca de crecimiento natural de la población, o capacidad innata de crecimiento ( $r_m$ ), fue entendida como el desarrollo potencial de una población de acuerdo con la cohorte inicial. Adicionalmente se calculó la tasa finita de multiplicación lambda ( $\lambda$ ).

**Análisis.** La tabla de esperanza de vida se calculó con la metodología empleada por Manrique *et al.* (1998). Para realizar el análisis estadístico de los parámetros poblacionales ( $R_0$ ,  $r_m$ ,  $T$  y  $\lambda$ ) que reúnen la información para el desarrollo de estados inmaduros, reproducción y supervivencia en un solo valor, no se puede llevar a cabo un análisis de varianzas. Para este caso, la varianza puede ser determinada empleando el método Monte Carlo, como la prueba Jackknife (Maia *et al.* 2000). La técnica Jackknife, es un procedimiento paramétrico para reducir el sesgo en la estimación de un parámetro estadístico dentro de una población y de su error estándar. La técnica Jackknife se empleó usando el paquete estadístico SAS (SAS

Institute 1990). Para determinar la longevidad media para las hembras bajo las condiciones del ensayo, se empleó la distribución de Weibull (Pinder *et al.* 1978).

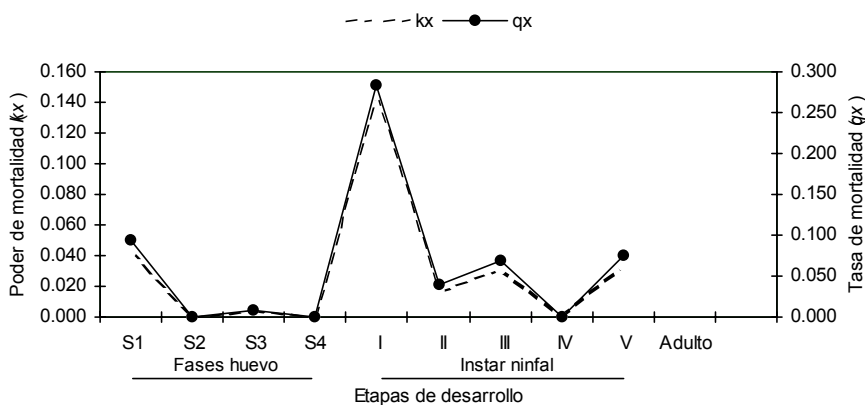
## Resultados

**Tabla de esperanza de vida.** La supervivencia exhibida por *Z. carbonaria* para las condiciones del ensayo huevo-adulto fue de 53,4%, es decir de una cohorte inicial de 118 huevos, se recuperaron 63 insectos adultos (Tabla 1). Para el estado de huevo, *Z. carbonaria* exhibió una tasa de supervivencia ( $lx$ ) del 89,9%, con un número de individuos muertos ( $dx$ ) mayor en la fase S1, representando el 9,3% de la mortalidad durante esta fase de desarrollo. La fase ninfal, por su parte presentó una tasa de supervivencia ( $lx$ ) del 64,2%, siendo el instar I, el grupo de edad con mayor mortalidad ( $dx$ ) 25,4%. La mortalidad total exhibida por los estados inmaduros de *Z. carbonaria* fue del 46,4% dividida en 10,1 y 36,3% para huevos y ninfas, respectivamente (Fig. 3; Tabla 1). El poder de mortalidad ( $kx$ ) para los estados inmaduros de *Z. carbonaria* bajo las condiciones del ensayo fue de 0,27 representada por un 0,05 y 0,22 para

**Tabla 1.** Tabla de vida para valores promedios de los estados inmaduros de *Z. carbonaria* sobre *B. ruziziensis*.

Huevo S1	118	1.000	0.093	0.093	0.042
Huevo S2	107	0.907	0.000	0.000	0.000
Huevo S3	107	0.907	0.008	0.009	0.004
Huevo S4	106	0.898	0.000	0.000	0.000
Ninfa I	106	0.898	0.254	0.283	0.144
Ninfa II	76	0.644	0.025	0.039	0.017
Ninfa III	73	0.619	0.042	0.068	0.031
Ninfa IV	68	0.576	0.000	0.000	0.000
Ninfa V	68	0.576	0.042	0.074	0.033
Adulto	63	0.534			
Suma			0.466		0.271

$a_x$  = número de individuos al inicio de cada grupo de edad,  $l_x$  = proporción de la cohorte que sobrevive a cada grupo de edad,  $d_x$  = número de individuos muertos durante cada grupo de edad,  $q_x$  = tasa de mortalidad,  $k_x$  = poder de mortalidad.

**Figura 4.** Tasa de mortalidad ( $q_x = dx/x$ ) y poder de mortalidad ( $k_x = \ln x - \ln x + 1$ ) para los estados inmaduros de *Z. carbonaria* bajo condiciones de estudio.

el estado de huevo y ninfa, respectivamente (Tabla 1; Fig. 4).

**Tabla de fertilidad.** La longevidad promedio para las hembras de *Z. carbonaria* bajo las condiciones del ensayo fue de 29,3 días. Las hembras de *Z. carbonaria* exhibieron una fecundidad promedio de  $125,8 \pm 82,9$  huevos/hembra, con una fertilidad del 97,9% y un pico de oviposición del 16,6% del total de los huevos recuperados 15 días después de iniciada la oviposición. La tasa máxima de aumento para el caso de *Z. carbonaria* se estableció al día 74 del ciclo del insecto (Fig. 5). El tiempo generacional ( $T$ ) se completó en 67,4 días, con una tasa neta reproductiva ( $R_0$ ) para este tiempo generacional de 33,6 veces. La tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r_m$ ) fue

de 0,05 individuos/hembra/días y una tasa finita de multiplicación lambda ( $\lambda$ ) de 1,05 individuos/hembras/días.

### Discusión

La tabla de vida de *Z. carbonaria*, exhibió la fase ninfal como la más susceptible en términos de supervivencia. Esta fase de desarrollo presentó 3,6 veces más mortalidad por grupo de edad ( $d_x$ ) que la fase de huevo. Para *Z. carbonaria*, la tasa de supervivencia ( $l_x$ ) fue 1,4 veces mayor en la fase de huevo, siendo la fase S1 la más susceptible con 11,6 veces más mortalidad por grupo de edad ( $d_x$ ) que la fase S3. El poder de mortalidad ( $k_x$ ) establecido para *Z. carbonaria* bajo las condiciones del estudio fue 2,1 veces menor al valor de la tasa de mortalidad. Esto confirma la utilidad del poder de morta-

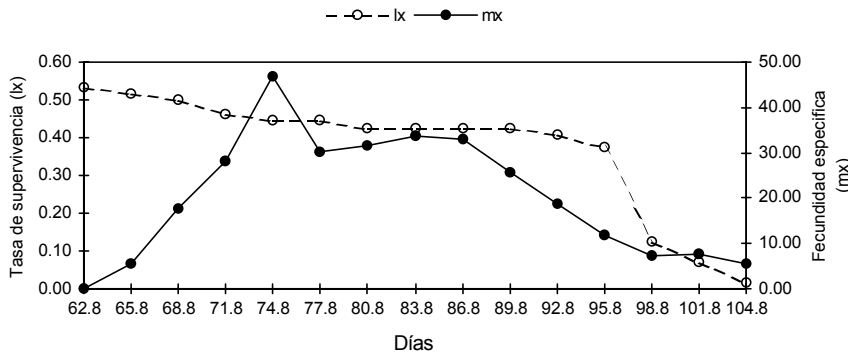
lidad ( $k_x$ ) al ser un valor aditivo entre estados de desarrollo en un mismo ciclo de vida.

La longevidad exhibida por las hembras de *Z. carbonaria*, superó en 13,8 días la longevidad reportada para las hembras de esta especie en estudios biológicos anteriores (Rodríguez *et al.* 2002). Esta diferencia pone de manifiesto un posible efecto del ajuste en los métodos, representado por el suministro de material vegetal fresco cada tres días.

La fertilidad exhibida por las hembras de *Z. carbonaria* durante este estudio, fue igual a la observada para hembras traídas directamente de campo (Rodríguez observación personal). Esto confirma que los métodos implementados para el establecimiento de la tabla de vida de *Z. carbonaria* no tienen ningún efecto negativo sobre la primera generación, aunque se deba retomar la información para determinar el posible efecto sobre generaciones sucesivas.

La tasa neta reproductiva ( $R_0$ ) conocida como tasa de reemplazo, muestra para las condiciones del ensayo, que *Z. carbonaria* multiplicó su población 33,6 veces en un tiempo generacional ( $T$ ) de 67,4 días. El valor que pueda exhibir ( $R_0$ ) en generaciones sucesivas, nos permite determinar la calidad de las condiciones artificiales empleadas para la cría de insectos, teniendo en cuenta que este parámetro es una característica innata de la población (García 2002; Nascimient 1996; Parra *et al.* 1995; Magrini 1993).

El tiempo generacional ( $T$ ) para *Z. carbonaria*, fue muy parecido al establecido en condiciones de campo y laboratorio de 66,0 y 69,6 días de adulto-adulto, respectivamente (Castro *et al.* 2005; Rodríguez *et al.* 2002). A diferencia de  $R_0$ , la variación en los valores del tiempo generacional no son indicadores de la calidad de las condiciones de cría, debido a las variaciones que este parámetro puede sufrir por condiciones abióticas. El valor positivo de la tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) indica un aumento en la población de *Z. carbonaria* bajo las condiciones del ensayo, confirmándose que estas son adecuadas para el mantenimiento de una cría de *Z. carbonaria*. Adicionalmente, la tasa finita de multiplicación ( $\lambda$ ) está relacionada directamente con la tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), y se interpreta como el número de individuos que se adicionan a una población por individuo y por unidad de tiempo (individuo/hembra/día).



**Figura 5.** Curva de supervivencia de hembras ( $lx$ ) y fecundidad específica ( $mx$ ) de *Z. carbonaria*, alimentadas sobre *B. ruziziensis* CIAT 654 bajo condiciones de estudio.

El valor ( $R_0$ ) para *Z. carbonaria* bajo las condiciones del presente estudio, fue 3,9 veces menor a lo reportado para *Mahanarva fimbriolata* (García 2002). De igual forma, la tasa finita de multiplicación ( $\lambda$ ) fue 1,3% veces menor que la reportada para *M. fimbriolata* (García 2002). Al comparar los resultados obtenidos con *Z. carbonaria* con estudios preliminares, se logra establecer que la supervivencia de *Z. carbonaria* huevo-adulto fue 1,5 veces menor a la determinada para *Prosapia simulans* (Walker) bajo las mismas condiciones de estudio (CIAT 2003). El poder de mortalidad ( $kx$ ) exhibido por *Z. carbonaria*, fue 2,5 veces superior al establecido para *P. simulans*. Además, el poder de mortalidad ( $kx$ ) en *Z. carbonaria* fue superior para el estado ninfal, en contraposición a lo observado para el caso de *P. simulans* donde este valor fue mayor para el estado de huevo (CIAT 2003).

La fertilidad de *Z. carbonaria* determinada durante el estudio, fue similar a la de otras especies de salivazo estudiadas en Colombia como *Mahanarva andigena* y *P. simulans* con el 94,3 y 95,1%, respectivamente (CIAT 2002).

### Conclusiones

Comparado con la fase de huevo y adulto, la fase ninfal sufre la mayor mortalidad, siendo el instar I el más susceptible. Subraya lo apropiado de tácticas culturales dirigidas a disminuir la calidad del hábitat para el desarrollo del insecto en el cultivo, en particular al momento de la eclosión de los huevos cuando el instar I establece en su sitio de alimentación.

Las variables evaluadas – fecundidad, fertilidad, tiempo generacional, tasa neta reproductiva, tasa intrínseca de crecimiento y tasa finita de multiplicación–

son parámetros fundamentales para cuantificar la biología de *Zulia carbonaria* mediante una tabla de esperanza de vida y una tabla de fertilidad. Los valores obtenidos son comparables con los datos obtenidos en otros estudios de campo y cría. El éxito del protocolo abre perspectivas para conseguir y comparar datos cuantitativos entre diferentes especies de cercópidos a través de agroecosistemas contrastantes.

La construcción de una tabla de vida se constituye en una herramienta apropiada para evaluar la calidad de las crías de *Z. carbonaria*, tanto como otras especies plaga de salivazo, bajo condiciones semicontroladas.

### Agradecimientos

Se agradece a Anuar Morales, Ulises Castro, Rosalba Tobón y Oscar Yela, por el apoyo para el desarrollo de este trabajo. Este trabajo se realizó gracias al apoyo financiero de la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República.

### Literatura citada

- ARANGO, G.; CALDERÓN, M. 1981. Biología y comportamiento de *Zulia colombiana* (Lallemand) plaga del pasto *Brachiaria* spp. Revista Colombiana de Entomología 7 (1/2): 3-11.
- BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C. R. 1990. Ecology: individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications. 945 p.
- BIRCH, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. Journal of Animal Ecology 17: 15-26.
- CAREY, J. R. 1993. Applied demography for biologists, with special emphasis on insects. Oxford University Press. 206 p.
- CASTRO, U.; MORALES, A.; PECK, D. C. 1999. Fenología del mión de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en el Valle del río Cauca. En: Resúmenes, del XXVI Con-

greso de la Sociedad Colombiana de Entomología, Bogotá, Colombia.

- CASTRO, U.; MORALES, A.; PECK, D. C. 2005. Dinámica poblacional y fenología del salivazo de los pastos *Zulia carbonaria* (Lallemand) (Homoptera: Cercopidae) en el Valle Geográfico del Río Cauca, Colombia. Neotropical Entomology 34 (3): 459-470.
- CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 1999. Annual Report 1999, Project IP-5, Tropical grasses and legumes: optimizing genetic diversity for multipurpose use. CIAT, Cali, Colombia. p. 22-43.
- CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 2002. Annual Report 1999, Project IP-5, Tropical grasses and legumes: optimizing genetic diversity for multipurpose use. CIAT, Cali, Colombia. p. 183-189.
- CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 2003. Caracterización del salivazo de los pastos *Prosapia simulans* (Homoptera: Cercopidae), nueva plaga de gramíneas forrajeras en Colombia. Informe Final, Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología. p. 32.
- DENT, D. R.; WALTON, M. P. 1997. Methods in ecological and agricultural entomology. CAB International, Wallingford. 387 p.
- FEWKES, D. W. 1969. The biology of sugar cane froghoppers. p. 283-307. En: Williams, J.R.; Metcalfe, J.R.; Mngomery R.W.; Mathes, R. (eds.). Pests of sugar cane. Elsevier, Amsterdam.
- GARCIA, F. J. 2002. Técnica de criação e tabela de vida de *Mahanarva fimbriolata* (Stal., 1854) (Hemiptera: Cercopidae). Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil. 59 p.
- JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. 1992. Phytoseiid life-histories, local predator-prey dynamics, and strategies for control of tetranichid mites. Experimental Applied Acarology 14: 233-250.
- LAPOINTE, S. L.; SOTELO, G.; SERRANO, M. S.; ARANGO, G. 1989. Cría masiva de especies de cercópidos en invernadero. Pasturas Tropicales 11: 25-28.
- LAPOINTE, S. L.; MILES, J. W. 1992. Germplasm case study: *Brachiaria* species. En: Pastures for the Tropical Lowlands, CIAT, Cali, Colombia. p. 43-55.
- LAPOINTE, S. L.; SERRANO, M. S.; ARANGO, G.; SOTELO, G.; CORDOBA, F. 1992. Antibiosis to spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in accessions of *Brachiaria* spp. Journal of Economic Entomology 85 (4): 1485-1490.
- MAGRINI, E. A. 1993. Tabela de vida para *Anticarsia gemmatilis* Hubner 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. Estado de São Paulo Brasil. 77 p.

- MAIA, A. DE H. N.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. 2000. Statistical inference on associated fertility life table parameters using Jackknife technique: Computational aspects. *Journal of Economic Entomology* 93 (2): 511-518.
- MANRIQUE, S. P.; DELFÍN, G. H.; PARRA, T. V.; IBÁÑEZ, B. S. 1998. Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumáticos. *Revista Biomédica* 9: 84-91.
- MANZANO, M. R.; VAN LENTEREN, J. C.; CARDONA, C. 2002. Intrinsic rate of population increase of *Amitus fuscipennis* MacGown and Nebeker (Hym., Platygastridae) according to climatic conditions and bean cultivar. *Journal of Applied Entomology* 126: 34-39.
- NASCIMIENTO, M. L. 1996. Efeito de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* sobre *Podisus nigrispinus* Dallas, 1851 (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae) em laboratório. Dissertação (Mestrado) – Universidad Federal de Lavras. Lavras. 56 p.
- PARRA, J. R. P.; HADAD, M. L.; SILVEIRA NETO, S. 1995. Tabela de vida de fertilidade de *Perileucoptera coffella* (Guérin-Ménéville, 1842) (Lepidoptera, Lyonetiidae) em tres temperaturas. *Revista Brasileira de Entomologia* 39 (1): 125-129.
- PECK, D. C. 2000. Reflex bleeding in froghoppers (Homoptera: Cercopidae): variation in behavior and taxonomic distribution. *Annals of the Entomological Society of America* 93 (5): 1118-1194.
- PECK, D. C. 2001. Diversidad y distribución geográfica del salivazo (Homoptera: Cercopidae) asociado con gramíneas en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (3/4): 129-136.
- PECK, D. C.; PÉREZ, A. M.; MEDINA, J. W. 2002a. Biología y hábitos de *Aeneolamia reducta* y *A. lepidior* en la Costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24 (1): 16-26.
- PECK, D. C.; PÉREZ, A. M.; MEDINA, J. W.; BARRIOS, M.; ROJAS, J. 2002b. Fenología de *Aeneolamia reducta* en la Costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24 (1): 39-54.
- PECK, D. C.; RODRÍGUEZ, CH., J.; GÓMEZ, L. A. 2004. Identity and first record of the spittlebug *Mahanarva bipars* (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cercopidae) on sugarcane in Colombia. *Florida Entomologist* 87 (1): 82-84.
- PINDER, J. E.; WIENER, J. G.; SMITH, M. H. 1978. The Weibull distribution: a new method of summarizing survivorship data. *Ecology* 59: 175-179.
- RODRÍGUEZ, CH. J.; PECK, D.; CANAL, N. 2002. Biología comparada de tres especies de salivazo de los pastos del género *Zulia* (Homoptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología* 28 (1): 17-25.
- RODRÍGUEZ, CH. J.; CASTRO, U.; MORALES, A.; PECK, D. C. 2003. Biología del salivazo *Prosapia simulans* (Walker) (Homoptera: Cercopidae), nueva plaga de gramíneas cultivadas en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 29 (2): 149-155.
- RODRÍGUEZ, CH. J.; CASTRO, U.; MORALES, A.; PECK, D. C. Fluctuación poblacional de *Prosapia simulans* (Homoptera: Cercopidae), para las condiciones del Valle del Cauca, Colombia. En preparación.
- SAS Institute. 1990. SAS language: reference. Version 6. 3<sup>rd</sup> ed. SAS Institute, SAS Institute, Cary, NC.
- SHAROV, A. A. Quantitative population ecology. on-line lectures. Sitio web: <http://www.gypsymoth.ento.vt.edu/~sharov/alexei.html>. Fecha última revisión: 14 enero 2001. Fecha último acceso: 02 junio 2006.
- SILVEIRA, N. S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA, N. N. A. 1976. Manual de ecología dos insetos. Agronomia Ceres Ltda. São Paulo, Brasil. 419 p.
- SOTELO, G.; CARDONA, C.; ARANGO, G. 1988. Nueva técnica de cría de salivazo de los pastos en invernadero (Homoptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología* 14: 3-6.
- SOUTHWOOD, T. R. E. 1978. Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations. Chapman and Hall. London. 524 p.
- TRICHILO, P. J.; LEIGH, T. F. 1985. The use of life tables to assess varietal resistance of cotton to spider mites. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 39: 27-33.
- WHITTAKER, J. B. 1970. Cercopid spittle as microhabitat. *Oikos* 21: 59-64.

## Caracterización de nidos de la hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) en Cali (Colombia)

Characterization of the nests of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) in Cali (Colombia)

JAMES MONTOYA LERMA<sup>1</sup>, PATRICIA CHACÓN DE ULLOA<sup>2</sup>, MARIA DEL ROSARIO MANZANO<sup>3</sup>

**Resumen.** Se determinó la proporción de zonas verdes con presencia de nidos y el nivel de infestación de la hormiga arriera, *Atta cephalotes*, en tres comunas del municipio de Cali. Entre marzo y abril de 2002, se evaluaron 143 zonas verdes entre parques, separadores de calle, jarillones y polideportivos, cubriendo un área de 1.276.131 m<sup>2</sup>. La mayor proporción (89%) de las zonas verdes tuvo una intensidad de infestación baja-media; es decir que la mitad ó menos de su área total estaba ocupada por nidos de hormigas. El restante (11%) presentó infestación alta, en la cual más de la mitad del área fue colonizada por arriera. El 68% de los nidos se ubicó en terrenos planos naturales, seguido de zonas planas inclinadas como jarillones (27%) y algunos nidos localizados cercanos a estructuras construidas por el hombre. El área de los nidos varió entre 1 y 211 m<sup>2</sup>. Se encontró una correlación positiva entre el número de cuadrantes que permitieron conocer el 50% de las bocas y el área del nido ( $r=0,70$ ). Basados en esta metodología, es posible realizar una estimación rápida y confiable del grado de infestación de las áreas afectadas por la hormiga arriera, como medida previa para su manejo o control.

**Palabras clave:** Hormigas cortadoras de hojas. Infestación. Tamaño de nidos. Entomología urbana.

**Abstract.** The proportion of green zones with the presence of nests and the level of infestation of the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*, were determined in three urban areas of Cali. Between March and April 2002, a total of 143 green zones was evaluated, consisting of parks, traffic islands, verges and other open spaces occupying a total of 1.276.131 m<sup>2</sup>. The highest proportion (89%) of the green areas had low/medium infestations, i.e. less than half of the area was occupied by ant nests. The remainder (11%) showed high infestations, with more than half of the area colonized by leaf-cutting ants. Most (68%) of the nests were found on naturally level terrain, followed by steep terrain such as verges (27%) and some nests located near human dwellings. Area of the nests ranged from 1-211 m<sup>2</sup>. A direct correlation was found between the number of quadrants needed to enclose 50% of the nest entrances and the total nest area ( $r=0,70$ ). Based on this methodology, it is possible to carry out a rapid and reliable estimate of the degree of infestation of areas affected by leaf-cutting ants as a preventive measure for their control or management.

**Key words:** Leaf-cutting ants. Infestation. Nest size. Urban entomology.

### Introducción

En Colombia, se han registrado once especies de hormigas cortadoras de hojas pertenecientes a la tribu Attini, cuatro de ellas corresponden al género *Atta*: *A. cephalotes* (L.), *A. colombica* Guérin, *A. laevigata* (F. Smith) y *A. sexdens* (L.) (Mackay y Mackay 1986) y siete al género *Acromyrmex*: *Ac. landolti* Forel, *Ac. octospinosus* (Reich), *Ac. balzani* Emery, *Ac. coronatus* (Fabricius), *Ac. hystrix* Latreille, *Ac. subterraneus* Forel, *Ac. rugosus* (F. Smith) y *Ac. aspersus* (F. Smith) (Fernández *et al.* 1996; Mackay y Mackay 1986).

*Atta cephalotes*, la especie de mayor distribución en el Neotrópico (Fernández

y Sendoya 2004), fue registrada por Mackay y Mackay (1986) como la única especie del género en el Departamento del Valle del Cauca. Actualmente esta hormiga, conocida localmente como "Arriera", constituye uno de los problemas principales al afectar aproximadamente el 60% de zonas verdes de la ciudad de Cali anidando en los alrededores de casas y edificios (Chacón de Ulloa 2003). Más aún su influencia en Cali se extiende a zonas de recreación, jarillones y bordes de los ríos (Manzano *et al.* 2003).

La hormiga arriera se incluye dentro del grupo de insectos sociales con mayor grado de desarrollo y organización (Hölldobler y Wilson 1990). Sus colonias están

formadas por una reina fértil y fecunda la cual, con un tamaño varias veces mayor que el de sus obreras, es la encargada de la reproducción y puede vivir por muchos años; por ejemplo, 14 o 15 años en *A. sexdens* (Hölldobler y Wilson 1990). La vida de un hormiguero está determinada por la longevidad de la reina. Su muerte trae consigo la desaparición de la colonia (Hölldobler y Wilson 1990). El cuidado de la reina y mantenimiento de la colonia es llevado a cabo por un grupo de obreras estériles y polimórficas que incluyen jardineras, nodrizas, cortadoras, cargadoras, colectoras y soldados. El alimento de las colonias de *Atta* lo constituyen diferentes especies de hongos siendo *Attamyces* sp. la reportada en co-

1 Biólogo, Grupo de investigaciones entomológicas. Departamento de Biología. Universidad del Valle. A.A 25360 Cali. jamesmon@univalle.edu.co

2 Bióloga, Grupo de investigación en biología, ecología y manejo de hormigas. Departamento de Biología. Universidad del Valle. A.A 25360 Cali. hormigas@univalle.edu.co

3 Bióloga, Profesora. Departamento de Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional de Colombia, Palmira. mrmanzanom@palmira.unal.edu.co

lonias de Antioquia y Valle del Cauca (Alcaldía de Cali - CVC 2001; Ortiz *et al.* 1999). Este hongo es cultivado en el interior del nido en jardines formados a partir de pedazos pequeños de hojas, cortados y transportados por obreras desde la vegetación que rodea el hormiguero. La hormiga contribuye al crecimiento del jardín del hongo macerando la hoja y adicionando secreciones labiales y anales que contienen enzimas digestivas (quitinasas,  $\alpha$ -amilasa y proteinasas) (Hölldobler y Wilson 1990). Este hábito alimenticio trae consecuencias positivas y negativas para los ecosistemas donde la hormiga habita.

**Remoción de tierra.** Uno de los efectos notables causados por la colonización de *Atta* es la aparición de nidos u hormigueros que se distinguen por la presencia de montículos de tierra suelta, producto de excavaciones en el suelo para construir subterráneamente el nido. Este sistema de anidamiento tiene efectos positivos, generalmente, en ambientes naturales. Por ejemplo, algunos árboles crecen preferiblemente en nidos abandonados de la hormiga arriera (Hölldobler y Wilson 1990) debido a que ésta, al excavar, promueve cambios favorables en las condiciones nutritivas del suelo, como son incremento en los niveles de N, P, K, Mg, Ca, Na, humedad y materia orgánica (Farji-Brener y Silva 1995). Así, Cortés-Pérez y León-Sicard (2003) comprobaron un aumento de nutrientes en suelos de sabanas en la Orinoquía colombiana donde *A. laevigata* está presente. En contraste, la presencia de nidos en áreas urbanas tiene un efecto negativo como es el desmejoramiento del paisaje. Los montículos de tierra además de desentonar con el color del prado, causan irregularidad en la superficie del área verde. Adicionalmente, la remoción del suelo por la arriera causa inestabilidad en el piso que soporta paredes, muros, postes de energía y juegos infantiles, entre otros, pudiendo causar su caída. Este tipo de estructuras son comunes en zonas verdes que son utilizadas como parques y áreas de esparcimiento familiar.

**Pérdida de follaje de la vegetación.** Varias especies de *Atta* están incluidas entre las principales plagas de América del Sur (Della Lucia 2003; Fowler *et al.* 1990) sin embargo, el estimativo económico de sus daños, especialmente en sistemas productivos, no está por lo general, disponible (Della Lucia 2003) En Colombia, Madrigal (2003) registra que las arrieras atacan tanto especies cultivadas como forestales, malezas y plantas ornamenta-

les. *A. cephalotes* es una de las especies que limita el cultivo de forestales, al atacar las plántulas (C. Rodas, com. pers.). En Brasil, Vasconcelos (1989) encontró que la hormiga arriera causa un daño enorme a plántulas entre 3 a 9 meses de edad, obstaculiza la regeneración natural de las áreas verdes. Aunque las hormigas cortadoras de hojas son especies ampliamente polífagas, muestran preferencias por algunas especies de plantas (Vasconcelos y Fowler 1990; Hubbell y Wiemer 1983). En áreas urbanas, además de invadir las zonas verdes, causando gran defoliación de la vegetación (hojas, flores y semillas) situada en los alrededores del nido (Chacón de Ulloa 2003) ocasionan desestabilización y hundimiento de cimientos de construcciones. Según Bondar (1927) (citado por Cherret 1986) en Bahía, Brasil, se reparaban entre 300 a 500 edificios por año atribuidos al colapso de nidos de esta hormiga. Dada la abundancia de la hormiga arriera en la zona urbana del Municipio de Cali resulta de interés determinar el grado de infestación, área de sus nidos y patrón de distribución en las zonas verdes de la ciudad que son más atacadas.

El presente estudio, estuvo encaminado a determinar la proporción de zonas verdes con presencia de nidos de hormiga arriera en tres comunas del municipio de Cali, a la vez que se estimó cualitativamente el nivel de infestación, en términos de densidad de nidos, producido por la hormiga en dichas zonas. En particular, se caracterizaron los nidos con base en variables tanto cualitativas (sustrato de localización en zonas planas o inclinadas, especies de árboles de sombrío) como cuantitativas (área superficial, número de bocas, área de la boca principal, volumen del mayor montículo de tierra excavada, ancho y largo de pistas de forrajeo y actividad de obreras). Finalmente, se obtuvo un método rápido y confiable para estimar el tamaño de los nidos, el cual puede ser útil al implementar medidas de control.

#### Materiales y Métodos

**Área de estudio.** La investigación se desarrolló en las zonas verdes de las comunas 17, 18 y 19 del Municipio de Santiago de Cali, Departamento del Valle del Cauca (3°24'56"N; 76°30'10"W, Fig. 1). Estas comunas son divisiones políticas de la ciudad. Aunque cada comuna seleccionada presenta características propias en cuanto a su panorama urbanístico y arquitectónico, generando

condiciones ambientales muy variables (Arévalo 1998), también exhiben características comunes. Entre éstas la irrigación por parte de los ríos Meléndez, Lili, Cañaveralejo y Pance (Arévalo 1998) los cuales en sus orillas poseen los denominados jarillones, elevaciones artificiales de tierra con las que se busca evitar los desbordamientos. Estos jarillones, sin embargo, están amenazados por la anidación de hormiga arriera (R. Caicedo, com. pers.).

Las zonas verdes de las tres comunas han sido arborizadas con especies ornamentales pero algunas áreas aún conservan parte de la vegetación natural del bosque seco tropical (Arévalo 1998). En su conjunto proporcionan un ambiente fresco y sombreado que a la vez, ofrece alimento y condiciones adecuadas para el establecimiento y diseminación de poblaciones de *Atta*. Asimismo, algunas zonas del área de estudio presentan conjuntos residenciales, comerciales y recreativos donde se dan condiciones artificiales (pedazos de metal, grietas de cemento y tejas apiladas) favorables para el establecimiento de la arriera (Manzano *et al.* 2003).

**Intensidad de infestación.** Con el objeto de determinar el grado de infestación con *Atta* sp. en las zonas verdes de las tres comunas, se realizaron recorridos en cada una de ellas registrando la presencia o ausencia de nidos de arriera. Fueron considerados positivos todos aquellos sitios con presencia de nidos activos (i.e. donde las hormigas entraban y salían o había presencia de soldados). A su vez, cada sitio positivo se categorizó cualitativamente para medir la intensidad de infestación, según el área ocupada por los nidos con respecto al área total de la zona verde en cuestión. Se consideró infestación "Baja-Media" cuando el área ocupada por los nidos fue igual o menor al 50% de la zona verde y como "Alta" cuando estuvo por encima de este porcentaje.

Para determinar si existían diferentes especies de *Atta*, se tomaron muestras de hormigas de todos los nidos visitados, colectando los diferentes tamaños de obreras (pequeñas, medianas y soldados). Las muestras se coleccionaron en frascos con alcohol al 70% hasta su identificación específica utilizando un estereoscopio y la clave taxonómica de Mackay y Mackay (1986).

**Selección y caracterización de nidos.** Dadas las grandes extensiones de las zonas verdes, se seleccionó, en forma aleatoria, aproximadamente el 30% del

área total de zonas verdes positivas a la infestación de hormiga arriera pero garantizando una inclusión equitativa (15%) de cada una de las áreas de zonas con infestaciones Baja-Media y Alta.

Cada nido se marcó con una estaca de madera (35 cm x 4 cm x 4 cm) a la cual se le asignaba un código con datos de la comuna, zona verde y número consecutivo del nido. En tablas de datos, se registraron las siguientes variables:

**Presencia de árboles:** permitió identificar aquellas especies que dan sombra al nido y/o son consumidas por la hormiga arriera. Esto fue verificado por la presencia de las hormigas en el árbol y por los característicos cortes que ellas dejan en el follaje y flores. Para estimar el tamaño del árbol de sombrero, se calculó su altura con la ayuda de un clinómetro, se midió su diámetro a la altura del pecho DAP y la cobertura vegetal de su copa con un densiómetro cóncavo (Forestry Suppliers Inc).

**Área total de la superficie externa del nido ( $m^2$ ):** estimada al multiplicar las mayores medidas (largo y ancho) del nido, tomando los orificios de entrada al nido (bocas) más externos como puntos de referencia.

**Conteo de bocas:** para facilitar la cuantificación de las bocas de cada nido, se elaboró un cuadrante de 1 m x 1 m subdividido en 25 cuadrículas de 400  $cm^2$  cada una. Utilizando el cuadrante, se contó el número de bocas en toda la superficie externa del nido empezando por el punto en el cual se observó la mayor cantidad de bocas. Al mismo tiempo, se contabilizó el número de veces que fue necesario colocar el cuadrante para cubrir la totalidad del nido. Con base en estos resultados y con el fin de implementar un método rápido y seguro del conteo de bocas, se estimó el número de cuadrantes necesarios para conocer el 50% de las bocas de un nido y éste dato se relacionó con el área superficial del nido.

**Tamaño del montículo de tierra excavada:** una vez identificado el mayor montículo de tierra excavada en el cual se ubica la boca principal, se tomaron medidas de su largo, ancho y alto para obtener un estimado de su volumen.

**Área de la boca principal ( $cm^2$ ):** generalmente la de mayor tamaño y que presenta, en más de las veces, el mayor flujo de hormigas. Se tomaron medidas de su largo y ancho.

**Área del respiradero ( $cm^2$ ):** se seleccionó uno de los orificios de menor tama-

ño y se tomaron medidas de su largo y ancho.

**Largo y ancho de pistas:** se identificó el principal camino utilizado por las obreras para forrajeo y se midió su longitud, en metros, desde su origen en el nido hasta la base de las plantas de forrajeo. Con ayuda de un flexómetro se midió también el ancho de la pista en un punto cercano al nido.

**Actividad del nido:** se definió como el número de hormigas (contabilizado) que pasan hacia el nido, durante un minuto, por un punto de referencia situado en la pista de forrajeo. Se usó un contador manual Safesport y se tomaron dos medidas por cada nido en horas diurnas.

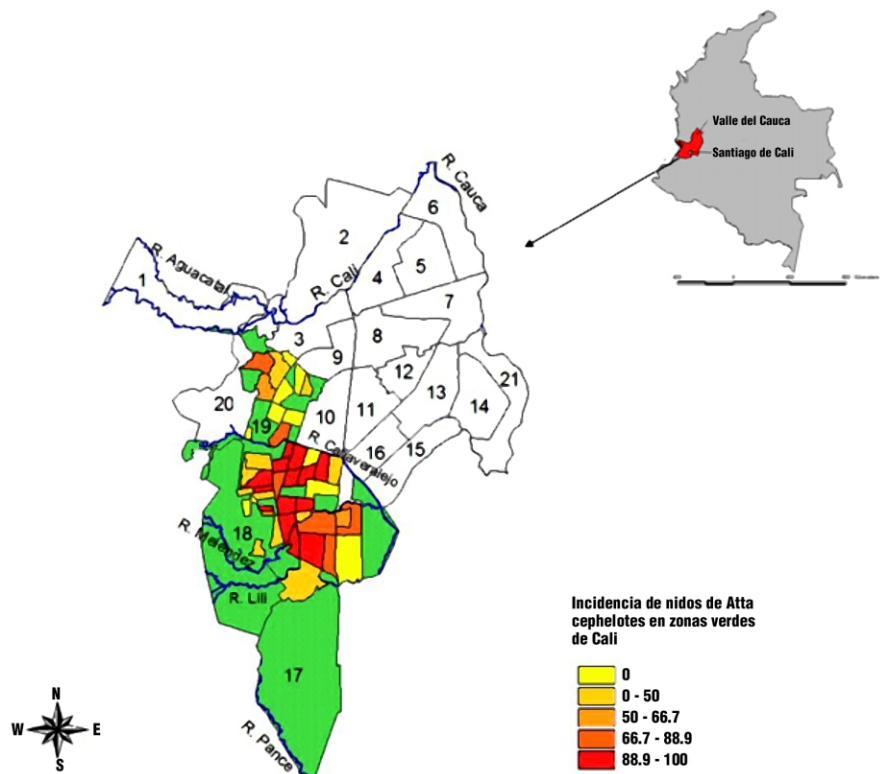
**Análisis de datos.** Las observaciones se organizaron en una hoja de cálculo electrónica. Se construyeron tablas de frecuencia para seleccionar las zonas verdes a muestrear y agrupar los nidos por categorías de tamaño. Se calculó la matriz de correlación entre todas las variables descritas utilizando el coeficiente de Pearson ( $r$ ) con corrección de Bonferroni. Seguidamente, se obtuvo la regresión lineal simple entre la variable área superficial de los nidos y las variables dependientes número total de bocas y número de cuadrantes necesarios para conocer el 50%

de las bocas de un nido. Para efectuar todos los análisis estadísticos se siguió a Zar (1996) y se utilizó el programa Statistica 6.0 (StatSoft 2001).

Por otra parte se elaboraron mapas superponiendo a la cobertura del perímetro urbano de Santiago de Cali, una cobertura de ríos y otra de barrios. Se calculó para cada barrio el porcentaje de zonas verdes con nidos de *Atta cephalotes* (Total de sitios con nidos de arriera en el barrio / Total de sitios muestreados en el barrio seleccionado) obteniendo finalmente una cobertura en colores graduados para los barrios visitados, indicando con colores más oscuros las áreas de mayor infestación (Fig. 1).

## Resultados y Discusión

**Intensidad de Infestación.** *A. cephalotes* fue la única especie de arriera presente en las tres comunas, lo cual corrobora los hallazgos previos de Mackay y Mackay (1986). Sus nidos fueron identificados en un total de 143 zonas verdes que equivalen a una extensión de 1'276.131  $m^2$ . Del total de zonas verdes infestadas, el 57% correspondió a la comuna 17 con 82 sitios, el 9% (13 sitios) a la comuna 18 y el 34% (48 sitios) a la comuna 19. En cuanto a intensidad general de infestación, el 89% (127) de los sitios se ubicó en la



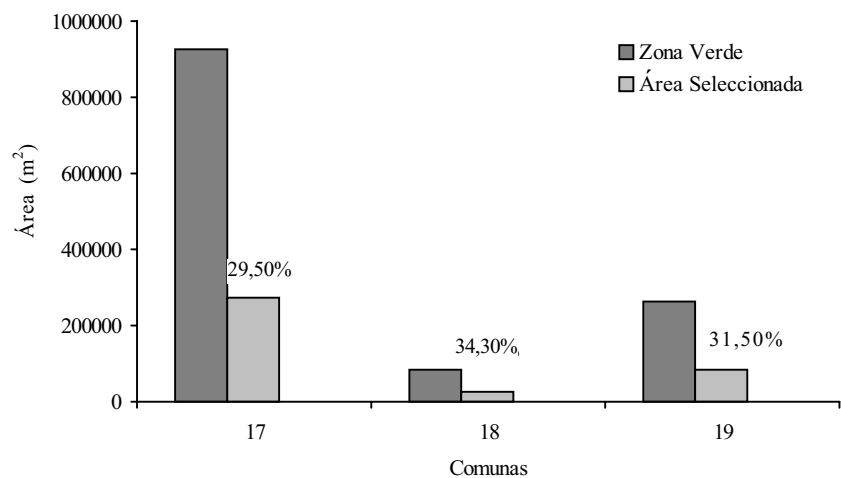
**Figura 1.** Perímetro urbano de Santiago de Cali, mostrando en detalle el área de estudio. Dentro del área de estudio en colores graduados se representa el porcentaje de ocurrencia de nidos de *Atta cephalotes* para cada barrio muestreado.

**Tabla 1.** Número, áreas y categorización de zonas infestadas y proporción de las mismas, seleccionadas para la caracterización de nidos en tres comunas de Cali

Comuna	Intensidad de infestación	Zonas verdes infestadas			Zonas verdes seleccionadas		
		No. sitios	Área (m <sup>2</sup> )	%	No. sitios	Área (m <sup>2</sup> )	%
17	Baja/Media	70	819.845	88,3	14	247.001	90,1
	Alta	12	108.270	11,7	2	27.128	9,9
18	Baja/Media	12	75.384	89,7	4	28.866	100
	Alta	1	8.671	10,3	0	0	0
19	Baja/Media	45	250.066	94,7	10	74.632	89,6
	Alta	3	13.895	5,3	1	8.671	10,4

categoría Baja-Media y el restante 11% (16) presentó una infestación alta (Fig. 1). En la tabla 1 se discrimina para cada comuna, el número, área y proporción de las zonas verdes afectadas según los dos niveles de infestación. También se describen las zonas verdes seleccionadas (31) en las cuales se hizo la caracterización de los nidos y cuya extensión acumulada (386.298 m<sup>2</sup>) correspondió al 30,3% del área total infestada en las tres comunas.

En la figura 2, se observa para cada comuna, el área total de las zonas verdes con presencia de hormiga arriera y la proporción seleccionada para la caracterización de los nidos. Es plausible pensar que la comuna 17 representa un fuente permanente de propagación de la hormiga arriera (Fig. 2; Tabla 2). Esto es particularmente válido si se tiene en cuenta que en 16 sitios de esta comuna se caracterizaron 41 nidos, distribuidos en nueve barrios, equivalentes a 2.024,6 m<sup>2</sup>, arrojando que, en promedio, 127 m<sup>2</sup> de cada zona verde está infestada con nidos activos de la hormiga. Con respecto a la comuna 19, las áreas aledañas al río Cañaveralejo fueron las más afectadas. Las zonas verdes en esta comuna son de gran extensión y de ellas 1018,6 m<sup>2</sup>, agrupadas en 11 sitios de siete barrios, estuvieron invadidas lo que representa en promedio 93 m<sup>2</sup> cubiertos por nidos de la arriera. Finalmente, en la comuna 18, la de menor extensión, con cuatro zonas verdes seleccionadas que correspondieron a un

**Figura 2.** Relación entre zonas verdes infestadas y zonas verdes seleccionadas para la caracterización de nidos.

total de 27.264 m<sup>2</sup> y, en promedio, 23 m<sup>2</sup> de cada zona verde presentaron nidos de arrieras. En esta comuna posiblemente la reducción de zonas verdes, como consecuencia de la frecuente invasión humana, determina la menor densidad de nidos.

La mayoría de las zonas verde en las tres comunas (84%) presentaron de uno a tres nidos de hormiga, el 13% presentó entre 4 y 7 nidos y solamente una zona verde (3%) de la comuna 17, presentó 12 nidos.

**Caracterización de nidos.** Los nidos estudiados se caracterizaron por estar ubicados en tres sustratos o zonas claramente diferenciados: planas naturales, pla-

nas artificiales y verdes inclinadas junto a ríos y canales (jarillones). Los nidos se distribuyeron en hábitats naturales y artificiales como andenes, viviendas humanas, juegos infantiles, postes de energía o bancas de parques. La mayor parte de los nidos estudiados se ubicaron en terrenos planos seguidos de zonas inclinadas (Fig. 3). En la comuna 17 donde hay más ríos y canales, se observó una proporción importante de nidos (27%) construidos en jarillones (Fig. 4a). Aunque en menor proporción, la presencia de nidos cercanos a sustratos como andenes, muros, postes de energía, juegos infantiles (Fig. 4b) es un indicativo del alto grado de adaptabilidad de esta hormiga ante cambios en sus hábitats naturales. En estos casos es importante considerar que la remoción de tierra, debida a la actividad de los nidos, cerca a construcciones, conlleva al deterioro de sus estructuras como lo informa Bondar (1927) (citado por Cherret 1986) y como ocurrió, años atrás en algunas edificaciones del Campus de la Universidad del Valle en Meléndez (obs. personal autores).

**Tabla 2.** Área total y promedios de las zonas verdes seleccionadas y sus respectivos nidos en las tres comunas. Los valores promedio van seguidos de la desviación estándar.

Comuna		Área zonas verdes (m <sup>2</sup> )	No. Nidos	Área nidos (m <sup>2</sup> )
17	Total	274.129	41	2024,6
	Promedio/sitio	17.133 ± 31.638	2,6 ± 3,0	127 (181)
18	Total	28.866	8	87,8
	Promedio/sitio	7.216 ± 6.547	2,0 ± 1,4	22 (24)
19	Total	83.303	23	1018,7
	Promedio/sitio	7.573 ± 6.458	2,1 ± 1,3	93 (110)



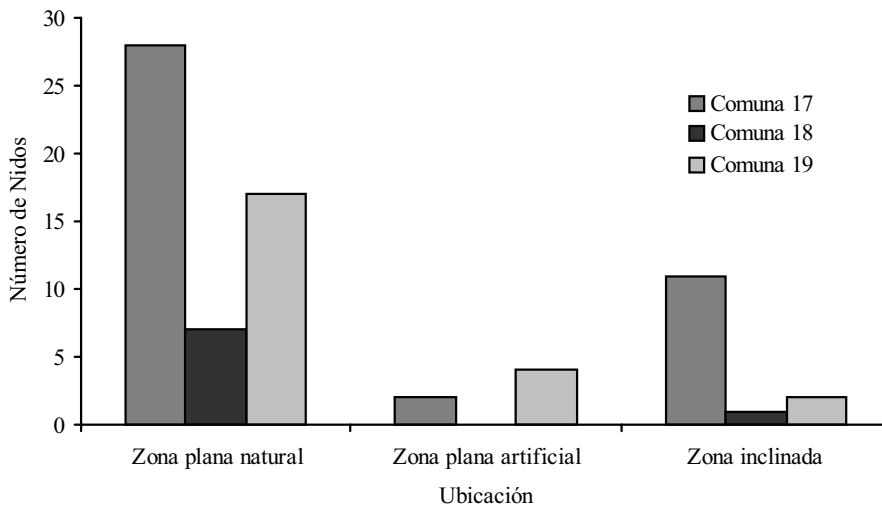


Figura 3. Ubicación de nidos de arriera para cada comuna en zonas planas o inclinadas.

**Árboles de sombrío.** Al igual que lo registrado por Della Lucia y Moreira (1993) en Brasil, *A. cephalotes* manifestó una tendencia marcada a construir sus nidos en lugares con sombrío, registrándose en un total de 16 especies arbóreas cuya frecuencia de ocurrencia se describe en la Tabla 3. Los árboles (N=58) presentaron una altura promedio de  $13,5 \pm D.E. 7,1$  m (mínimo: 5,2; máximo: 41,7 y un DAP promedio de 1,49 m hasta un máximo de 12 m, tabla 4). La sombra proporcionada por las copas de estos árboles representa un promedio de cobertura vegetal del 60,24% ( $\pm 20,07$ ) es decir, más de la mitad del área de los nidos estaba cubierta. Anidar bajo el sombrío de estos árboles es, posiblemente, una estrategia utilizada por la hormiga para evitar la pérdida de humedad por evaporación



Figura 4a. Nido en jarrillón ubicado en el margen del Río Meléndez.



Figura 4b. Nido ubicado junto a muro de vivienda en el sur de Cali.

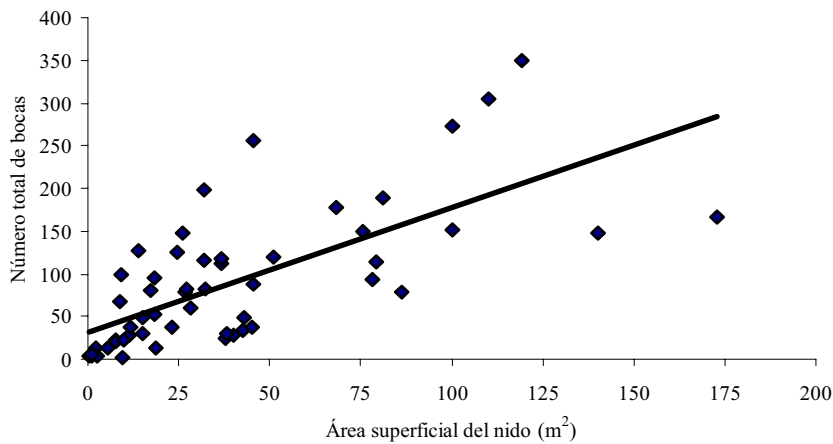
**Tabla 3.** Árboles que ofrecen sombra a 58 nidos de hormiga arriera en tres comunas del sur de la ciudad de Cali. Las cifras representan las respectivas frecuencias de observación.

Nombre común	Nombre científico	Comunas			Total (%)
		17	18	19	
Caucho	<i>Ficus</i> sp.	8		4	12 (20,7)
Acacia negra	<i>Acacia decurrens</i> Wild	8	1		9 (15,5)
Chiminango	<i>Pithecellobium dulce</i> Benth	1		6	7 (12,1)
Samán	<i>Samanea saman</i> Benth	5			5 (8,6)
Ceiba	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	4			4 (6,9)
Swinglea	<i>Swinglea glutinosa</i> Murray		2	2	4 (6,9)
Guayabo	<i>Psidium guajava</i> Radd	1		2	3 (5,2)
Guayacán	<i>Tabebuia chrysantha</i> Blake	3			3 (5,2)
Leucaena	<i>Leucaena leucocephala</i> Wit		2	1	3 (5,2)
Carbonero	<i>Calliandra angustidens</i> Britton & Killip	1		1	2 (3,5)
Cadmia	<i>Canangium odorata</i> King	1			1 (1,7)
Gualanday	<i>Jacaranda caucana</i> Pittier	1			1 (1,7)
Guásimo	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lamarck			1	1 (1,7)
Mango	<i>Mangifera indica</i> Linneo	1			1 (1,7)
Yarumo	<i>Cecropia</i> sp.			1	1 (1,7)
Pomarosa	<i>Eugenia</i> sp.	1			1 (1,7)
<b>Total</b>		<b>36</b>	<b>5</b>	<b>18</b>	<b>58</b>

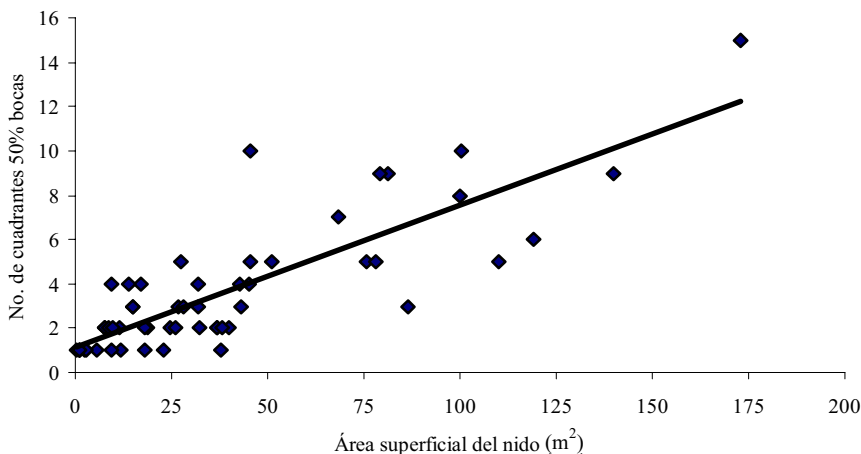
causada por las altas temperaturas. Lo anterior concuerda con las condiciones frescas y húmedas del hábitat natural de *A. cephalotes*, especie común en los bosques secos del valle geográfico del río Cauca (Armbrrecht *et al.* 2001; Chacón de Ulloa *et al.* 1996).

Respecto a las plantas de forrajeo, las observaciones de campo sugieren una aparente preferencia de las hormigas por algunos de los árboles nativos como Chiminango, Acacia negra, Guásimo y Guayacán (Tabla 3). Además se registraron cortando hojas de Almendro (*Terminalia catappa* L.), Drago (*Croton* sp.) y Chambimbe (*Sapindus saponara* L.). Aunque no se comprobó que las hormigas estuvieran utilizando este material vegetal para cultivar el hongo, si estaban al menos defoliando estas especies vege-





**Figura 5.** Relación entre el número total de bocas y el área superficial total del nido. ( $Y = 1,4674x + 31,166$ ;  $R^2 = 0,49$ ).



**Figura 6.** Relación entre el área total superficial ( $m^2$ ) y el número de cuadrantes que estiman el 50% de las bocas en nidos de la hormiga arriera. ( $Y = 0,064x + 1,1401$ ;  $R^2 = 0,70$ ).

su amplia distribución, gran capacidad de colonización y, sobretudo, por los impactos negativos directos (ataque y defoliación de césped y árboles) e indirectos (al socavar con sus nidos el suelo, generando inestabilidad de las construcciones civiles tales como jarillones, juegos infantiles y áreas recreativas) que ocasiona.

Basados en la nueva metodología, es posible realizar una estimación rápida y confiable del grado de infestación de las áreas afectadas por *A. cephalotes* y de la dimensión de sus nidos. Se debe: 1) seleccionar el 30% de un área afectada y cuantificar inicialmente la densidad de los nidos, 2) Estimar el número de bocas de los nidos más representativos lo cual es buen indicador de su tamaño y complejidad. Para ello, se obtiene la medida del área exterior (largo por ancho del nido) y se aplica la ecuación  $Y = 0,064$

$X + 1,1401$  ( $Y =$  número de veces que es necesario utilizar un cuadrante de  $1 m^2$  para contabilizar aproximadamente el 50% del total de bocas de un nido y  $X$  es el área exterior del nido). Este cálculo es adecuado para nidos que tengan un máximo de  $200 m^2$  de área exterior. El método que es simple, fácil y económico eventualmente puede constituirse en una herramienta básica para el desarrollo de estrategias de control ya que permitiría calcular la cantidad de producto (biológico o químico), que se debe aplicar a un nido de acuerdo a su área y número de bocas.

#### Agradecimientos

A las biólogas G. I. Vargas, L. A. Olaya y R. García por su colaboración en la toma y sistematización de los datos y a L. A. Neira por su apoyo en el trabajo de campo. A la bióloga A. M. Arcila por su

contribución en el diseño e interpretación de los mapas. Este estudio fue cofinanciado por la Empresa Municipal de Servicios Varios de Cali (EMSIRVA) y la Universidad del Valle.

#### Literatura citada

- ALCALDÍA DE CALI – CVC. 2001. La hormiga arriera: investigación bibliográfica para su manejo y control. Cali. 22 p.
- ARÉVALO, D. P. (ed.). 1998. Agenda Ambiental: Comunas 17, 18 y 19. Departamento Administrativo de Gestión del medio ambiente. DAGMA. Alcaldía Santiago de Cali. 80 p.
- ARMBRECHT, I.; TISCHER, I.; CHACÓN, P. 2001. Nested subsets and partition patterns in ant assemblages (Hymenoptera: Formicidae) of Colombian dry forest fragments. *Pan-Pacific Entomologist* 77 (3): 196-209.
- CHACÓN DE ULLOA, P. 2003. Hormigas urbanas. p. 351-359. En: Fernández, F. (ed.). Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. 398 p.
- CHACÓN-ULLOA, P.; BAENA, M. L.; BUSTOS, J.; ALDANA, R. C.; ALDANA, J. A.; GAMBOA, M. A. 1996. Fauna de hormigas del departamento del Valle del Cauca (Colombia). p. 413-451. En: Andrade, M. G.; García, G. A.; Fernández, F. (eds.). Insectos de Colombia: estudios escogidos. Volumen I. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Bogotá, Colombia. 541 p.
- CHERRET, J. M. 1986. History of the leaf-cutting ant problem. p.10-17. En: Lofgren, C. S.; Vander Meer, R. K. (eds.). Fire ants and leaf-cutting ants. Biology and management. Westview Press, Boulder y Londres. 435 p.
- CORTÉS-PERÉZ, F.; LEÓN-SICARD, T. E. 2003. Modelo conceptual del papel ecológico de la Hormiga Arriera *Atta laevigata* en los ecosistemas de sabana estacional (Vichada, Colombia). *Caldasia* 25 (2): 403-417.
- DELLA LUCIA, T. M. C. 2003. Hormigas de importación económica en la región Neotropical. p. 337-349. En: Fernández, F. (ed). Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. 398 p.
- DELLA LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, D. D. O. 1993. Caracterização dos ninhos. p. 32-42. En: Della Lucia, T. M. C. (ed.). As formigas cortadeiras. Folha de Viçosa. Viçosa, 262 p.
- ESCOBAR, R.; NEITA, M. J. C.; MENA, G. G. 2001. Caracterización de colonias de hormiga *Arriera* (Hymenoptera: Formicidae: Attini) en cuatro municipios del departamento del Chocó. *Revista Universidad Tecnológica del Chocó "D. L. C"* 14: 13-19.
- FARJI-BRENER A. G. F.; SILVA, J. F. 1995. Leaf-cutting ants and forest groves in a tropical parkland savanna of Venezuela:

- facilitated succession?. *Journal of Tropical Ecology* 11 (4): 651-669.
- FERNÁNDEZ, F.; PALACIO, E.; MACKAY, W.; MACKAY, E. 1996. Introducción al estudio de las hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de Colombia. p. 349-412. En: Andrade, M. G.; García, G. A.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia: estudios escogidos. Volumen I. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Bogotá, Colombia.* 541 p.
- FERNÁNDEZ, F.; SENDOYA, S. 2004. Lista de las hormigas Neotropicales (Hymenoptera: Formicidae). *Biota Colombiana* 5 (1): 3-93.
- FOWLER, H. G.; BERNARDI, J. V. E.; DELABIE, J. C.; FORTI, L. C.; PEREIRA-DA-SILVA, V. 1990. Major ant problems of South America. p. 3-14. En: Vander Meer, R. K.; Jaffé, K.; Cedeno, A. (eds.) *Applied Myrmecology – a world perspective.* Westview Press, Boulder Colorado, Estados Unidos. 741 p.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. *The Ants.* Harvard University Press. 732 p.
- HUBBELL, S. P.; WIEMER, D. F. 1983. Host plant selection by an attine ant. p. 123-154. En: Jaisson, P. (ed.). *Social insects in the tropics. Volumen 2. Université Paris-Nord.* 252 p.
- MACKAY, W.; MACKAY, E. 1986. Las hormigas de Colombia: Arrieras del género *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 12: 23-30.
- MADRIGAL, A. 2003. *Insectos forestales en Colombia.* Editorial Marín Viecco Ltda. Medellín. 848 p.
- MANZANO, M. R.; CHACÓN DE ULLOA, P.; MONTOYA-LERMA, J.; OLAYA, L. A.; GARCÍA, R.; VARGAS, G.; NEIRA L. A. 2003. Expansión de la hormiga Arriera *Atta cephalotes* L. (Formicidae: Myrmicinae) en tres comunas del municipio de Cali (Valle). *Resúmenes XXX Congreso Sociedad Colombiana de Entomología.* Cali. p. 94.
- ORTIZ, A.; MADRIGAL, A.; ORDUZ, S. 1999. Evaluación del comportamiento de las hormigas *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) frente a la contaminación del jardín del hongo con *Trichoderma lignorum*. *Revista Colombiana de Entomología* 25 (3-4): 169-177.
- StatSoft, Inc. (2001). *STATISTICA* (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- VASCONCELOS, H. L. 1989. Foraging activity of two species of leaf-cutting ants (*Atta*) in a primary forest of the central Amazon. *Insectes Sociaux* 37: 131-145.
- VASCONCELOS, H. L.; FOWLER, H. G. 1990. Foraging and fungal substrate selection by leaf-cutting ants. p. 410-419. En: Vander Meer, R. K.; Jaffé, K.; Cedeno, A. (eds.) *Applied Myrmecology – a world perspective.* Westview Press, Boulder Colorado, Estados Unidos. 741 p.
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis.* Third Edition. Prentice Hall, Nueva Jersey. 662 p.

Recibido: 5-dic-05 • Aceptado: 15-oct-06

## Sección Médica

### Detección y cuantificación de Propoxur en la sucesión de insectos de importancia médico-legal

Detection and quantification of Propoxur in the succession of insects of medico-legal importance

MARTA WOLFF<sup>1</sup>, YOVANNY ZAPATA<sup>2</sup>, GLADIS MORALES<sup>3</sup>, MARK BENECKE<sup>4</sup>

**Resumen.** Con miras a la detección y cuantificación del Propoxur en insectos de importancia forense y a la búsqueda de indicadores entomotoxicológicos, se utilizó la técnica de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia) con ejemplares colectados durante la sucesión ecológica asociada a los cadáveres de conejos. Tres conejos fueron sacrificados con una sobredosis de Propoxur y contando con un cuarto conejo control fue sacrificado por dislocamiento cervical. Los conejos fueron monitoreados durante 28 días, tres veces al día (7, 13 y 18 horas). Durante este periodo se colectaron insectos inmaduros y adultos, y se midió la temperatura ambiental, la temperatura corporal y la pérdida de peso. Del material colectado, se seleccionaron 73 individuos entre inmaduros (larva I, II, III, pupas) y adultos de los órdenes Diptera y Coleoptera, en los que se evaluó el análisis de interés por HPLC. Hubo un resultado positivo en el 56% de las muestras desde larva I hasta adulto y en todos los estados sucesionales de la descomposición. Esta técnica permitió una alta sensibilidad a partir de 0,1g o menos por cada muestra, para la cuantificación de residuos de Propoxur en larvas y adultos. En Diptera se cuantificó a partir de muestras con un peso de 0,0029 g y para Coleoptera en muestras con un peso de 0,002 g. La concentración mínima detectada (0,671 ppm) se encontró en larvas en estadio II de dípteros Calliphoridae y Muscidae y la concentración máxima cuantificada (229,7121 ppm) se encontró en larvas en estadio III de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae), con porcentajes de 0,04 y 0,34 respectivamente.

**Palabras clave:** Entomotoxicología. Entomología Forense. Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

**Abstract.** To detect and quantify the amount of Propoxur in insects of forensic importance and search for entomotoxicologic indicators, the HPLC (High Performance Liquid Chromatography) technique was used on individuals collected during the ecological succession associated with the corpses of rabbits. Three rabbits were sacrificed with an overdose of Propoxur and a fourth control rabbit was sacrificed by cervical dislocation. The rabbits were checked over 28 days, three times a day (07:00, 13:00 and 18:00 hours). During this period, immature and adult insects were collected, and the ambient temperature, corporal temperature and weight loss were measured. From the collected material, 73 individuals from among the immatures (larvae I, II, III, pupae) and adults of the order Diptera and Coleoptera were selected and the component of interest was evaluated by HPLC. There was a positive result in 56% of the samples from larva I to adult in all the successional stages of decomposition. This technique allowed a high sensitivity from 0.1 g or less for each sample in the quantification of Propoxur residues in larvae and adults. Samples with a weight of 0.0029 g for Diptera and 0.029 g for Coleoptera were quantified. The minimum detected concentration (0,671 ppm) was found in stadium II larvae of Calliphoridae and Muscidae dipterans and the maximum quantified concentration (229,721 ppm) was found in stadium III larvae of *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae), with percentages of 0.04 and 0.34, respectively.

**Key words:** Entomotoxicology. Forensic Entomology. High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

#### Introducción

La entomotoxicología es una herramienta que aplica análisis toxicológicos a insectos que se alimentan de carroña, con el fin de identificar drogas y toxinas tales como insecticidas, antidepresivos tricíclicos y estimulantes (barbitúricos, cocaína y anfetaminas)

presentes en tejidos. También investiga los efectos causados por dichas sustancias en el desarrollo de los artrópodos para determinar el intervalo postmortem (IPM) (Introna *et al.* 2001) ya que la confiabilidad de la evidencia entomológica para la estimación de IPM puede depender de la presencia de productos en los tejidos de las larvas pues algunas toxinas pueden afec-

tar la rata de crecimiento de las especies presentes en los cadáveres (Gagliano-Candela y Aventaggiato 2001; Goff and Lord 2001; Introna *et al.* 2001; Introna *et al.* 1990; Goff *et al.* 1993, 1991, 1989).

Por los métodos tradicionales de la toxicología, los productos de envenena-

1 Autor para correspondencia: Profesor, Dr. Laboratorio de Colecciones Entomológicas-GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia. E-mail: mwolff@matematicas.udea.edu.co

2 Biólogo. Laboratorio de Colecciones Entomológicas-GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia.

3 M. Sc. Química. GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia.

4 Dr. Mark Benecke. Internacional Forensic Research and Consulting. Cologne-Germany.

miento se recuperan mediante muestras de órganos internos, orina y sangre; sin embargo, en estados avanzados de descomposición esta técnica no es posible (Introna *et al.* 2001). De ahí que los insectos puedan ser una alternativa en la determinación de la presencia de sustancias en un cuerpo, dado que el análisis cualitativo en las larvas es una evidencia de la presencia de un compuesto determinado (Wolff *et al.* 2004; Bourel *et al.* 2001; Hédoüin, *et al.* 2001; Introna *et al.*, 2001; Bourel *et al.* 1999; Goff *et al.* 1997, 1993). La entomotoxicología utiliza técnicas tales como Análisis Radio Inmunológico (RIA), Cromatografía de Gases (GC), Cromatografía de Capa Fina (TLC), Cromatografía Gaseosa Acoplada a Masas (GC-MS) y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Introna *et al.* 2001).

El Propoxur es un producto ampliamente comercializado que no tiene prescripción ni restricciones para su compra y es de bajo costo. Es un carbamato muy persistente, cuyo ingrediente activo presenta un DL 50 de 100 mg/kg de peso. Es un insecticida de ingestión y contacto (FAO 1985).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue detectar cuantitativa y cualitativamente Propoxur en insectos asociados al proceso de descomposición cadavérica, como una metodología de apoyo a la investigación médica y judicial.

### Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la ciudad de Medellín, Colombia, situada a una altitud de 1.450 msnm, en un área designada según Holdridge como bosque húmedo premontano (bh-P), con temperatura ambiental entre 18-24°C y pluviosidad media anual de 1.409 mm (IGAC 1997; Espinal 1985).

Para el estudio se utilizaron cuatro conejos (*Sylvilagus brasiliensis* L.) de 3,1-3,2 Kg. Uno de ellos, que se utilizó como control, fue sacrificado por dislocamiento cervical. A los otros tres se les inyectó con una dosis letal de 10 ml de Propoxur vía intra-cardíaca y se les suministró 1 ml vía oral. Previo al sacrificio todos los conejos fueron anestesiados con 0,7 ml de Ketalar, siguiendo el protocolo aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Antioquia. Después del sacrificio se extrajeron 10 g de hígado de cada uno de los conejos para un posterior análisis toxicológico. Los conejos fueron colocados individualmente en

jaulas metálicas de 60 x 50 x 40 cm separadas entre sí a una distancia de 5 m.

Los insectos que se encontraban sobre los cadáveres fueron colectados diariamente durante 28 días entre los meses de junio y julio, tres veces al día: a las 7, 13 y 18 horas, y una vez al día se midió la temperatura ambiente, la temperatura corporal (rectal) y la pérdida de peso. Se recogieron tanto insectos inmaduros en todos los estadios (LI, LII, LIII, pupa), como adultos en orificios naturales (ojos, orejas, boca y ano); sobrevolando el cuerpo, bajo éste y en el suelo hasta una profundidad de 10 cm en un área de 40 x 60 cm. Una parte de los insectos colectados se fijó y almacenó en alcohol al 70% para la identificación taxonómica y otra parte, consistente en una muestra de individuos de todos los estadios provenientes de todos los sitios, se almacenó de forma individual en viales secos y se llevó a -20°C, al igual que una porción de 20 g de hígado proveniente de cada uno de los cuatro conejos a evaluar para la detección y cuantificación del Propoxur por HPLC.

**Procesamiento de insectos en laboratorio.** Previo al procesamiento para detección en el HPLC, las muestras entomológicas guardadas en frío se separaron por estadio de desarrollo, previa determinación taxonómica e identificación del estado sucesional correspondiente a la fase de descomposición de cada conejo (Castillo 2001; Shalaby *et al.*, 2000; Schoenly *et al.*, 1996; Timms 1994). De igual forma se procedió con los insectos fijados en alcohol.

**Separación y cuantificación del Propoxur por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).** El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo líquido (Gilson) con detector de arreglo de diodos

(DAD) a una longitud de onda de 263 nm. Columna: Water BondapakC18: 3,9 x 300 mm, Guarda columna: WAT044480, W10861. Fase móvil: Acetonitrilo: Agua (50:50). Gradiente isocrático: temperatura ambiente y flujo de 1,2 ml/min (Fig. 1). El tiempo de elución del Propoxur fue de 4,4 minutos.

Un máximo de 0,2 g de muestra de insecto o hígado fue sometido a la técnica cromatográfica luego de maceración y tres extracciones; mezcla Agua: ACN (50:50) con 0,5 ml de solución por extracción para un volumen total de 1,5 ml. Cada extracción se acompañó con el sonicador durante 10 minutos. Se centrifugó para separar el sobrenadante en tubos Eppendorf, y se le agregó 0,1 ml de etanol con el fin de precipitar las proteínas para volver a centrifugar. La solución sobrenadante se inyectó directamente en el cromatógrafo líquido.

La cuantificación se realizó por curva de calibración, para ello se prepararon diferentes diluciones del estándar de Propoxur y se inyectaron en el cromatógrafo (Tabla 1). Como estándar interno se empleó el Carbofurano lote 234-101B a un 99% de pureza de CHEM SERVICE, con esos datos se buscó la linealidad del método, graficando la relación área (uA)/concentración (ppm) en función del logaritmo de la concentración (Fig. 2a), empleando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.0. El factor de respuesta se encontró en el rango de 400 357,42 y 442 500,30, a un 95% de nivel de confianza. A partir de esos resultados, se determinaron los límites de cuantificación, siendo la concentración de 1,8 ppm el límite de donde se estimó que el Propoxur es cuantificable en un rango de linealidad de 1,8 a 58 ppm. Así mismo, se

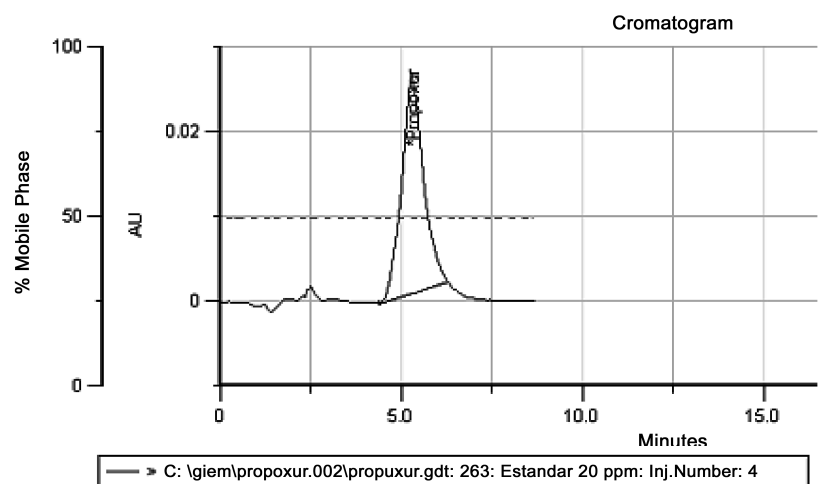


Figura 1. Cromatograma correspondiente al estándar de Propoxur (estándar primario).

**Tabla 1.** Lectura de las áreas para los estándares de Propoxur en la separación y cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Concentración (ppm)	Área	Relación (Área /Conc.)
1,74	693 622,31	398 633,51
3,46	1 396 695,12	403 669,11
3,46	1 269 687,62	366 961,74
8,54	3 607 951,25	422 674,7
8,36	3 623 713,00	433 458,49
16,60	7 330 403,00	441 590,54
16,60	7 227 574,00	435 396,02
31,82	13 914 855,00	437 299,03
31,82	13 340 988,00	419 264,24
41,65	17 822 600,00	427 913,57
41,65	17 450 574,00	418 981,37
58,33	24 134 596,00	413 759,57
58,33	24 116 156,00	413 443,44

ppm= partes por millón, Área= unidades de área, Conc = concentración.

graficó el área en función de la concentración (Fig. 2b) y se obtuvo una relación lineal entre las variables, con un coeficiente de correlación = 0,99951 y  $R^2 = 99,902\%$ .

Para validar el método de extracción y separación del Propoxur, se tomaron larvas limpias del conejo control y se doparon con una concentración conocida de Propoxur (estándar primario); lue-

go se procedió al proceso de extracción descrito anteriormente, con un porcentaje de recuperación del 82% (Fig. 3).

**Resultados y Discusión**

En la sucesión de artrópodos observada durante el proceso de la descomposición, se registraron cinco fases de descomposición: fresco, hinchado, descomposición activa, descomposición avanzada y

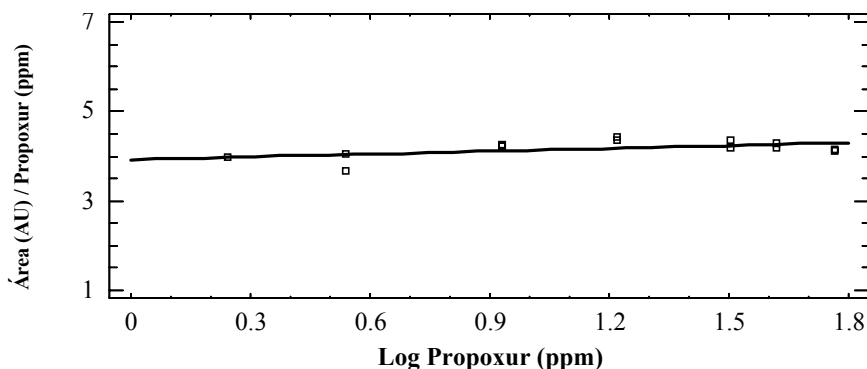
momificado, no observándose la fase de restos. Se colectaron organismos pertenecientes a 16 órdenes (Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Blattaria, Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Thysanura, Thysanoptera, Collembola, Acari, Araneae, Geophilomorpha, Isopoda, Oligochaeta) y a 36 familias distribuidos en todas las categorías ecológicas (Smith 1986): necrófagos (Calliphoridae, Muscidae -en parte-, Sarcophagidae, Phoridae, Sepsidae -en parte-, Cleridae, Trogidae, Acari); depredadores (Calliphoridae -en parte-; Muscidae -en parte-, Carabidae, Histeridae, Staphylinidae, Reduviidae -en parte-, Araneae, Geophilomorpha); omnívoros (Blattidae, Vespidae, Formicidae, Labiidae, Labiduridae, Isopoda) e incidentales (Apidae, Braconidae, Cydnidae, Gelastocoridae, Miridae, Reduviidae -en parte-, Chloropidae, Sphaeroceridae, Syrphidae, Tabanidae, Cicadellidae, Membracidae, Elateridae, Gryllidae, Lepismatidae, Thysanoptera, Hypogastruridae, Onychiuridae).

Del total de individuos colectados, se utilizó una muestra (N=73) para el análisis, obteniéndose un resultado positivo (detección y/o cuantificación del Propoxur) en 41 ejemplares entre larvas, pupas y adultos de Diptera y Coleoptera (Tabla 2), pertenecientes a los conejos uno y dos (Figs. 4a-c). En el conejo tres no hubo detección del producto, ni en el control. Las concentraciones de Propoxur que se pudieron cuantificar estuvieron entre 0,6771ppm en larva II de Muscidae y Calliphoridae y 229,712 ppm en larva III de *Lucilia eximia* Wiedemann, y con una área promedio de 284 104,25 y 96 391 120 respectivamente (Tabla 2).

En lo que respecta a las muestras de los hígados, no se encontró Propoxur en ninguno de los conejos sometidos al producto, ni en el control, lo que podría explicarse por el mecanismo de dispersión del Propoxur. Los carbamatos no se acumulan en el organismo; su biotransformación se realiza por hidrólisis, oxidación y conjugación y se eliminan rápidamente por vía urinaria. (Anónimo 2006).

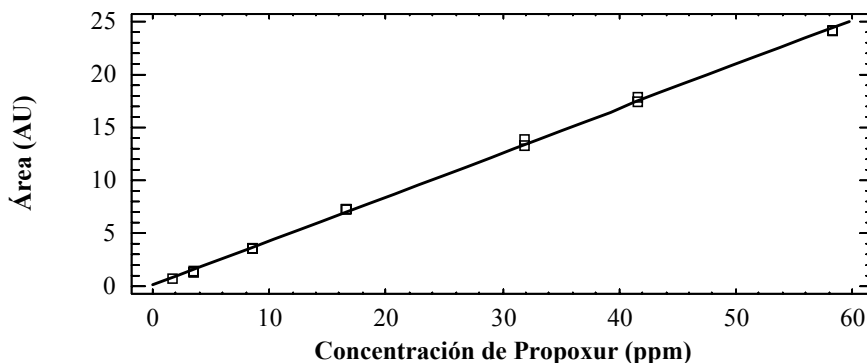
En la sucesión se observó como grupos mayoritarios en estadio de larva individuos de Diptera y Coleoptera; del primer grupo se encontraron las familias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae y Phoridae y del segundo, Trogidae, Staphylinidae, Dermestidae y Cleridae. La familia Calliphoridae fue la primera en llegar y depositar sus huevecillos en todos los conejos, *L.*

(X 100000)



**Figura 2a.** Evaluación de la linealidad del Propoxur: Relación Área (uA) versus el Logaritmo de la concentración.

(X 1.E6)



**Figura 2b.** Curva de calibración del área en función de la concentración.

**Tabla 2.** Insectos en los cuales se detectó y cuantificó el Propoxur por el método de HPLC.

Modelo	Taxón	Estadio	Masa	Área promedio	Propoxur (ppm)	%p/p
Conejo 1 y 2	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,008	5550017,25	132264	0,248
	<i>Cochliomyia macellaria</i>		0,0501	2275558,125	54229	0,0162
				NC		
	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,0377	2 256 035,12	5,3764	0,0214
	<i>Lucilia eximia</i>		0,1843	3 066 764,25	7,3085	0,0059
			0,1792	6 199 327,25	14,7738	0,0124
			0,1756	14 827 210,50	35,3351	0,0302
			0,1875	17 305 451,50	41,2411	0,033
			0,0474	599 992,40	1,4299**	0,0045
			0,0138	1 278 926,25	3,0478	0,0331
			0,1298	4 438 546,25	10,5776	0,0122
			0,1011	96 391 120,00	229,7121	0,3408
				NC		
	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,0702	1 223 009,31	2,9146	0,0062
	<i>Chrysomya albiceps</i>		0,0275	1 350 823,00	3,2192	0,0176
		Pupa	0,0381	5 454 918,00	12,9998	0,0512
	Diptera Calliphoridae	Larva I	0,0485	11 187 264,00	26,6607	0,0825
	(Indeterminada)	Larva II	0,0029	284 104,25	0,6771**	0,035
			0,104	1 087 884,81	2,5926	0,0037
		Pupa	0,1994	1 443 873,44	3,4409	0,0026
			0,0762	3 300 641,25	7,8658	0,0155
			0,1456	8 833 997,50	21,0525	0,0217
			0,0757	14 774 477,50	35,2094	0,0698
	Diptera Muscidae	Larva I	0,0485	11 187 264,00	26,6607	0,0825
	(Indeterminada)			NC		
		Larva II	0,0029	284 104,25	0,6771**	0,035
	Coleoptera Cleridae	Adulto	0,002	915 317,78	2,1813	0,1636
	<i>Necrobia rufipes</i>		0,033	16 991 544,00	40,493	0,1841
	Coleoptera Dermestidae	Larva	0,0193	12 059 589,00	28,7395	0,2234
	<i>Dermestes</i> sp.			NC		
		Adulto	0,0054	589 851,54	1,4057**	0,039
	Coleoptera Trogidae	Larva	0,0513	1 103 567,66	2,6299	0,0077
	<i>Trox</i> sp.		0,0466	4 812 618,00	11,4691	0,0369
				NC		
		Adulto	0,002	1 651 170,32	3,9349	0,2951
			0,0502	3 015 271,26	7,1858	0,0215
			0,0924	3 649 679,12	8,6976	0,0141
			0,014	9 336 103,00	22,2491	0,2384
			0,0105	12 317 623,50	29,3544	0,4193
			0,0149	23 275 856,00	55,4693	0,5584
				NC		
				NC		
	Coleoptera Staphylinidae	Adulto	0,1084	1 491 650,18	3,5548	0,0049

NC = no se cuantificó, aunque se detectó.

*eximia*, se recolectó en todas las fases de descomposición, disminuyendo en el periodo momificado. *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) estuvo presente en mayor cantidad en el periodo de hinchado al igual que la *Chrysomya albiceps* (Wiedemann), la cual fue encontrada hasta momificado.

*Chrysomya megacephala* (Fabricius) estuvo presente sólo en el conejo dos desde activo a momificado. Larvas de Sarcophagidae fueron colectadas en todos los modelos desde el periodo hinchado hasta el momificado.

La familia Muscidae (*Polietes* sp.) predominó en todas las fases de descomposición. La familia Phoridae (*Trophodeinus* sp.) se colectó en el suelo a partir del periodo hinchado hasta el final del muestreo. En el segundo grupo, los coleópteros



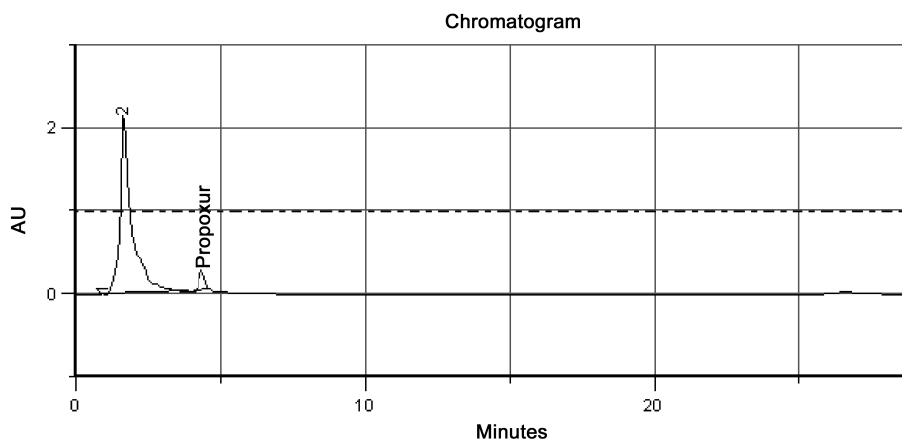


Figura 3. Cromatograma correspondiente a larvas control de *Lucilia eximia*, dopadas con Propoxur (estándar primario).

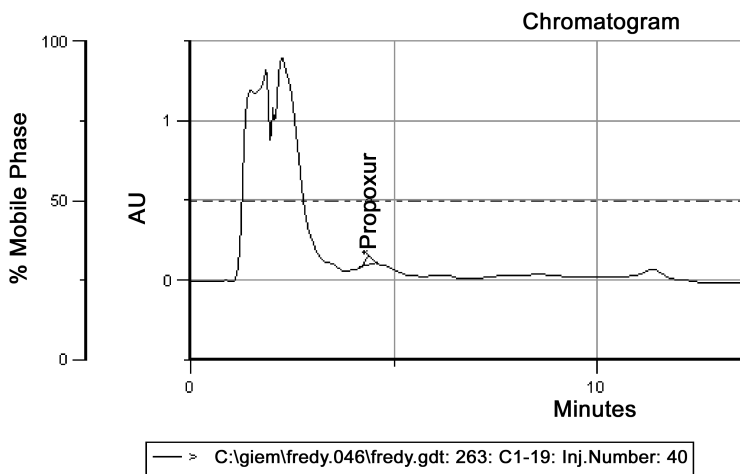


Figura 4a. Cromatograma de detección del Propoxur en una muestra de *Trox* sp. (Coleoptera, Trogidae).

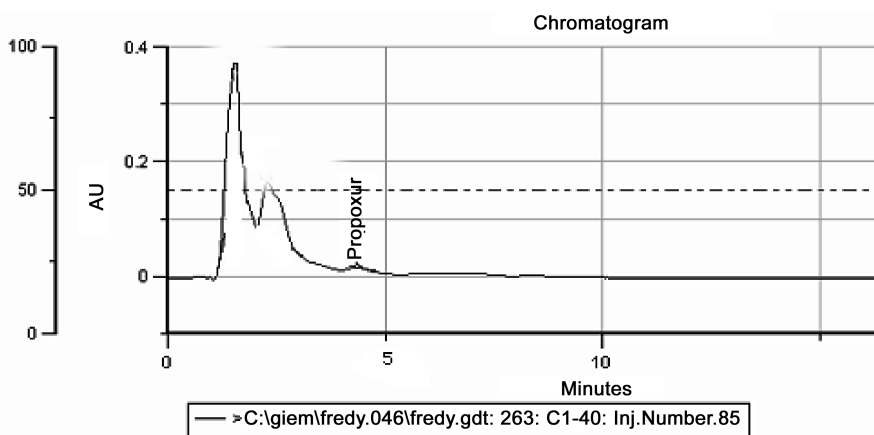


Figura 4b. Cromatograma de detección del Propoxur en una muestra de *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae).

adultos de Trogidae (*Trox* sp.) predominaron desde hinchado hasta momificado. En este grupo se cuantificaron los mayores residuos del veneno; igualmente se obtuvo Staphylinidae (*Aleocharinae*), Dermestidae (*Dermestes* sp.) y Cleridae (*Necrobia rufipes* (DeGeer)); estos últimos de gran importancia en la entomología forense ya que predominan desde la fase de activo hasta la de momificado.

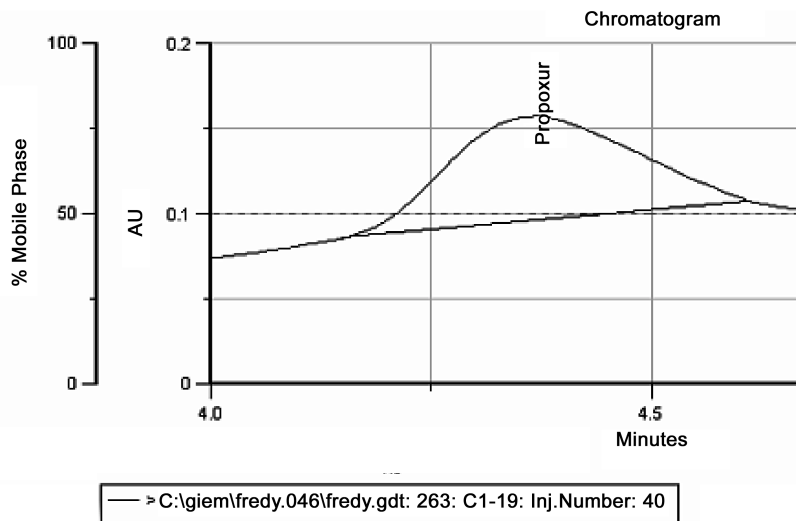
Los himenópteros, presentes en todas las fases de descomposición y que forman parte de la fauna local con carácter de oportunistas, fueron observados devorando larvas, en especial de Diptera. Los demás grupos, que fueron minoritarios (Hemiptera -Gelastocoridae-, Lepidoptera, Anthicidae, Collembola, algunos Formicidae y otros artrópodos -Isópodos y otros-) fueron considerados como incidentales ya que hacen parte de la fauna local.

En cuanto a la detección del Propoxur (Tabla 2), los resultados fueron positivos a partir del periodo en fresco para larvas I de Calliphoridae colectadas directamente del cuerpo, pero no fue posible la cuantificación. Para la fase de *hinchado*, se detectaron nueve larvas III de *L. eximia*, provenientes del suelo y del cuerpo. La detección en pupas se efectuó en ejemplares hallados enterrados a partir de la fase de descomposición *avanzada*, pertenecientes a Calliphoridae (una de *C. albiceps* y cuatro indeterminadas).

Para el caso de los *Dermestes* sp. y *Trox* sp., se detectó el Propoxur tanto en larvas como adultos y en *N. rufipes*, en adultos; estas especies fueron colectadas al interior del cuerpo de los conejos y aunque aparecen en periodos de descomposición desde hinchado hasta momificado (*Trox* sp.) o desde activo a momificado (*Dermestes* sp. y *N. rufipes*), son consideradas propias de las últimas fases de descomposición o, como ocurrió en este trabajo, de partes del cuerpo que sufren un proceso de esqueletización mucho antes que el resto del cuerpo como las patas o miembros inferiores al tener menor cantidad de tejido blando.

Con respecto al consumo de los cadáveres, la presencia del veneno no alteró las etapas sucesionales en los insectos, pero sí las fases de descomposición. Esto fue debido quizás al mecanismo de dispersión del veneno.

La técnica del HPLC mostró ser una herramienta muy eficaz para la Entomotoxicología a partir de muestras con un



**Figura 4c.** Ampliación del pico correspondiente al Propoxur, detectado en larva III de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) luego de ser sometida al proceso de extracción, a una longitud de 263 nm.

peso desde 0,0029 g. Se detectó y cuantificó el Propoxur en larvas LI, II, III, pupa y adultos de Diptera; larvas y adultos de Coleoptera; en las etapas de sucesión de fresco, hinchado, avanzado y momificado. La concentración más alta detectada (0,5584 %) se presentó para los coleópteros (*Trox* sp.) en momificación.

Los estudios en entomotoxicología con fines forenses aunque han sido numerosos son muy escasos en lo que respecta a pesticidas; tan solo se tienen reportes de detección en el organofosforado malation, en el cual se realizaron extracciones por cromatografía gaseosa (GC) en larvas de Diptera (Gunatilake y Goff, 1989) y por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en donde se obtuvieron resultados positivos larvas de Diptera y adultos de Coleoptera (Wolff *et al.* 2004).

Este es el primer estudio que se efectúa con Propoxur, con el cual, se pudo estandarizar un protocolo para cuantificar y detectar el carbamato en insectos de importancia médico-legal. Este trabajo demuestra la importancia de considerar la Entomotoxicología en Colombia como una herramienta eficaz de apoyo a las ciencias forenses.

#### Literatura citada

ANÓNIMO 2006. Manejo ecológico de plagas: Los plaguicidas y la salud. Sitio web: <http://es.geocities.com/pirineosjuan/plaguicidasalud.html>. Fecha último acceso: 21 febrero 2006.

BOUREL, B.; HÉDOUVER, L.M.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. 1999. Effects of morphine in decomposing bodies on the development

of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal Forensic Science* 44 (2): 354-358.

BOUREL, B.; TOURNEL, G.; HÉDOUIN, V.; DEVEAUX, M.; BÉCART, A.; DEVEAUX, M.; GOFF, M. L.; GOSSET, D. 2001. Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication". *Forensic Sciences International* 120 (1-2): 127-131.

CASTILLO MIRALBES, M. 2001. Artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de La Litera (Huesca). *Boletín S.E.A* 28: 133-140.

ESPINAL, L.S. 1985. Geografía ecológica del Departamento de Antioquia: zonas de vida, formaciones vegetales. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, Universidad Nacional de Colombia 38: 1-104.

FAO. 1985. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha. Manual de Capacitación. Roma. Italia. 250 p. Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/X5037S/x5037S07.html>. Fecha último acceso: 19 octubre 2006.

GAGLIANO-CANDELA, R; AVENTAGGIATO, L. 2001. The detection of toxic substances in entomological specimens. *International Journal of Legal Medicine* 114: 197-203.

GOFF, M. L.; OMORI, A. I.; GOODBROD, J. R. 1989. Effect of cocaine in tissues on the rate of development of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Medical Entomology* 26: 91-93.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; HEWADIKARAM, K. A.; AMORI, A. I. 1991. Effects of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on estimations of postmortem intervals using arthropod development patterns. *Journal of Forensic Science* 36: 537-542.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; AMORI, A. I.; LA POINTE, D. A. 1993. Preliminary observations of the effects of amitriptyline

in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval. *Journal of Forensic Science* 38: 316-322.

GOFF, M. L.; MILLER, M. L.; PAULSON, J. D.; LORD, W. D.; OMARI, A. I. 1997. Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver, and puparia. *Journal of Forensic Science* 42 (2): 276-280.

GOFF, M. L.; LORD, W. L. 2001. Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and impact of drugs and toxins on insect development. p. 331-340. In: Byrd, J.H.; Castner, J.H. (eds.). *Forensic entomology*. CRC Press, Boca Raton.

HÉDOUIN, V.; BOUREL, B.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; PHARM, D.; GOFF, M. L.; GOSSET, D. 2001. Determination of drug levels in larvae of *Protophormia terranova* and *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. *Journal of Forensic Science* 46 (1): 12-14.

INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTIN CODAZZI. 1997. Zonas de vida o formación vegetal de Colombia, explicativo sobre el mapa ecológico, Bogotá. 235 p.

INTRONA, F.; LODICO, C.; CAPLAN, Y. H.; SMIALEK, J. E. 1990. Opiate analysis in cadaveric blowfly larvae as an indicator of narcotic intoxication. *Journal of Forensic Science* 35: 118-122.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L. 2001. Entomotoxicology. *Forensic Sciences International* 120 (1-2): 42-47.

SCHOENLY, K.; GOFF, M. L.; WELL, J. D.; LORD, W. D. 1996. Quantifying statistical uncertainty in succession - based entomological estimates of the postmortem. *Interval in death scene investigation: a simulation study*. *American Entomologist* 42: 106-112.

SHALABY, O. A.; CARVALHO D. L. M.; GOFF, M. L. 2000. Comparison of Patterns of Decomposition in a Hangin Carcass and a Carcass in Contact with Soil in a Xerophytic Habitat on the Island of Oahu, Hawaii. *Journal of Forensic Science* 45 (6): 1267-1273.

SMITH, K. G. 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. Department of Entomology, British Museum. London. 205 p.

TIMMS, R. F. 1994. Determinación del Tiempo de Muerte en Cadáveres Putrefactos, Momificados y Saponificados. *Medicina Legal de Costa Rica* 10 (2): 17-21.

WOLFF, M.; BUILES, A.; ZAPATA, G.; MORALES, G.; BENECKE, M. 2004. Detection of Parathion (0,0-diethyl 0 (4-nitrophenyl) phosphorothioate) by HPLC in insects of forensic importance in Medellín, Colombia. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology* 5 (1): 6-11.

## Interacción de *Leishmania (L.) chagasi* con la línea celular Lulo en diferentes condiciones ambientales

Interaction of *Leishmania (L.) chagasi* with the Lulo cell line in different environmental conditions

VÍCTOR ACERO<sup>1</sup>, EDNA GALEANO<sup>1</sup>, MARTHA AYALA<sup>2</sup>, JAIME CASTELLANOS<sup>3</sup>, FELIO BELLO<sup>4</sup>

**Resumen.** Existen eventos desconocidos o pobremente comprendidos en las interacciones *Leishmania*-célula hospedera que ameritan estudios en nuevos modelos *in vitro*. El propósito del presente trabajo fue evaluar, teniendo en cuenta variables de temperatura, concentración de CO<sub>2</sub> y cambios morfométricos de las células, la interacción de *Leishmania chagasi* con una línea celular (Lulo), previamente establecida, derivada de tejidos embrionarios de *Lutzomyia longipalpis*. La línea celular J774 se utilizó como control positivo de la infección. La cepa MH/CO/84/CI-044B de *L. chagasi* se usó para los ensayos de infección. Los parásitos se adicionaron a las células adheridas, tanto de Lulo como de J774, en una proporción de 5:1. La incubación se efectuó a 28°C y 37°C, en ausencia y presencia de CO<sub>2</sub>. Se realizó un estudio morfométrico de las células antes y después de la infección. Las características ultraestructurales, tanto del parásito como de las células, se analizaron por microscopía electrónica. El mayor porcentaje de infección en las células Lulo a 28°C se registró el día seis post-infección (26,8%), mientras que a 37°C, sin atmósfera de CO<sub>2</sub>, el máximo valor (30,4%) se obtuvo el día nueve. Los análisis morfométricos mostraron un aumento significativo en el tamaño de las células infectadas de Lulo a 28°C y de J774 a 37°C con y sin atmósfera de CO<sub>2</sub> respectivamente.

**Palabras clave:** Características ultraestructurales. Temperatura y CO<sub>2</sub>. Promastigote. Porcentaje de Infección. Morfometría celular.

**Abstract.** There are unknown or poorly understood events in the *Leishmania*-host cell interactions that merit studies in new *in vitro* models. The aim of the present work was to evaluate *Leishmania chagasi* interaction with a cell line (Lulo) previously established and derived from *Lutzomyia longipalpis* embryonic tissues, bearing different temperatures and CO<sub>2</sub> concentrations in mind and morphometric changes of the cells. The J774 cell line was used as positive control of the infection. The *L. chagasi* MH/CO/84/CL-044B strain was used for infection assays. The parasites were added to adherent cells, in Lulo as well as J774, in a 5:1 ratio. Incubation was at 28°C and 37°C, in the absence and presence of CO<sub>2</sub>. A morphometric study of the cells was carried out before and after infection. Both parasite and cell ultrastructure characteristics were analyzed by electron microscope. The greatest percentage of infection in the Lulo cells at 28°C (26,8%) was registered on day six post infection, while at 37°C, in the absence of CO<sub>2</sub>, the maximum value (30,4%) was obtained on day nine. The morphometric analyses showed a significant increase in the size of Lulo cells infected at 28°C and J774 cells at 37°C with and without CO<sub>2</sub>, respectively.

**Key words:** Ultrastructure characteristics. Temperature and CO<sub>2</sub>. Promastigote. Percentage of infection. Cell morphometry.

### Introducción

Los protozoos flagelados del género *Leishmania* son parásitos intracelulares obligados que asumen durante su ciclo de vida varios estados morfológicos y funcionales (Abdulrahman *et al.* 1998). Sin embargo, experimentalmente se ha encontrado en el canal alimenticio del flebótomo, después de una segunda comida de sangre y en días avanzados de infección, formas del parásito semejantes a amastigotes (Añez *et al.* 2003) esto

plantea nuevos interrogantes sobre el ciclo biológico del parásito, particularmente en el vector. El desarrollo del ciclo biológico de los parásitos del género *Leishmania* puede ser experimentalmente estudiado *in vivo* e *in vitro*. En el primer caso se utilizan hembras de flebótomos para inducir la transformación de especies de *Leishmania*, particularmente de la forma amastigota a la promastigota, mediante la ingesta de sangre que contiene amastigotes, tomada a través de membranas artificiales. La diferenciación de los

promastigotes ocurre en el intestino del insecto, donde además éstos se replican y pueden observarse en diferentes estados morfológicos; luego la transmisión se realiza en condiciones de laboratorio por la picadura a ratones ó hámsters (Bates 1997; Killick-Kendrick 1986; Molyneux y Killick-Kendrick 1986). Experimentos *in vitro* emplean células de exudado peritoneal de ratones y hámsters, igualmente células macrofágicas tumorales de ratón para reproducir los mecanismos de diferenciación,

- 1 Laboratorio de Investigaciones en Entomología, Biología Celular y Genética, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Salle, Bogotá, D. C., Colombia. victoraceromv@yahoo.es
- 2 Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Salud de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia. mayalas@ins.gov.co
- 3 Instituto de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia. castellanosjaime@unbosque.edu.co
- 4 Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C., Calle 63D No. 24-31, Teléfono: (571) 3474570, extensión 257; fax: (571) 3101275. E-mail: fbello@urosario.edu.co

replicación y maduración de los parásitos (Aikawa *et al.* 1982; Pearson *et al.* 1981; Chang y Dwyer 1976). De forma similar, estos eventos se han podido estudiar en líneas celulares de origen no macrofágico, principalmente en cultivos de fibroblastos (Hérvás-Rodríguez *et al.* 1996; Corte-Real 1995; Schwartzman y Pearson 1985; Dedet *et al.* 1983; Chang 1978, 1979; Mattock y Petters 1975). Por otra parte, los medios axénicos que frecuentemente se emplean para mantener estos parásitos en condiciones de laboratorio se han usado para lograr la transformación *in vitro* de *Leishmania*, principalmente de la forma promastigote a la amastigote, mediante temperaturas elevadas y pH ácidos (Aquino *et al.* 2002; Saar *et al.* 1998; León *et al.* 1995; Hodgkinson *et al.* 1996; Bates *et al.* 1992, 1993, 1994; Zilberstein 1991; Pan 1984).

Los cultivos celulares de insectos vectores se emplean en forma extensiva para estudios *in vitro* de arbovirus y también, en investigaciones biomédicas y tecnológicas (Crampton *et al.* 1997; Igarashi 1985, 1978; Kuno *et al.* 1985; Singh 1967; Kitamura 1965). En esta última línea de acción, han empezado también a explorarse los usos en estudios de cocultivos con parásitos (Fampa *et al.* 2003; Leake 1997), cobrando esta situación particular relevancia si se tiene en cuenta que, a pesar de los adelantos obtenidos con la implementación de tecnologías avanzadas para el estudio *in vivo* e *in vitro* de los parásitos del género *Leishmania*, aún existen procesos bioquímicos, inmunológicos y moleculares desconocidos o pobremente conocidos en las interrelaciones parásito-hospedero y parásito-vector que ameritan la utilización de nuevos modelos celulares, que permitan enfocar la atención a los eventos que ocurren entre los parásitos y las células derivadas del vector.

En un trabajo preliminar Bello *et al.* (2005) describieron el proceso de infección experimental de *L. chagasi* Marques da Cunha & Chagas en la línea celular Lulo, sustratos celulares que provienen de tejidos embrionarios de *L. longipalpis*, el vector primario de este parásito en su ambiente natural; Estos autores compararon este proceso con otro desarrollado paralelamente en las células J774, tomando como referencia de la evaluación de ambos procesos los días post-infección dos, cuatro, seis, ocho y 10. Sin embargo, no se valoraron factores ambientales ni cambios morfométricos de las células. En el presente trabajo se evaluó la inte-

racción de *L. chagasi* con la línea celular Lulo (Rey *et al.* 2000) teniendo en cuenta variables de temperatura y concentración de CO<sub>2</sub>, para determinar, mediante microscopía de luz, los porcentajes e índices de infección y las modificaciones morfológicas celulares inducidas por la interacción con el parásito. Se analizaron además las características ultraestructurales del parásito y de las células con el apoyo de microscopía electrónica.

### Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Entomología, Biología Celular y Genética, de la Universidad De La Salle, tuvo una duración de un año y medio (2003-2005).

**Parásitos.** Se utilizó la cepa MH/CO/84/CL-044 de *L. chagasi*, suministrada por el laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Salud de Colombia, la cual se mantuvo en el medio NNN bifásico modificado con Schneider's y enriquecido con suero fetal bovino (SFB) (Gibco®) inactivado al 10% e incubado a 26°C.

**Cultivos celulares.** Se empleó la línea celular Lulo (Rey *et al.* 2000) derivada de explantes de tejidos embrionarios del flebotomo *L. longipalpis* (Lutz y Neiva 1913), principal vector de *L. chagasi* (Cunha y Chagas 1937). Esta línea celular se mantuvo *in vitro* en una mezcla de medio L-15 (Sigma®) y Grace (Sigma®), suplementado con 5% de suero fetal bovino (SFB), penicilina 100 unidades/ml y estreptomycin 100 µg/ml (Gibco®), a 28°C. Los subcultivos se efectuaron por remoción mecánica, previa observación de la monocapa confluyente. Como control positivo de la infección se utilizó la línea celular J774, aislada de células reticulares de un sarcoma de ratón (*Mus musculus*) BALB/c, establecida por Ralph *et al.* (1975). Para el mantenimiento de estas células se utilizó el medio RPMI (Sigma®), suplementado con SFB inactivado al 5% y la incubación se realizó a 37°C.

Para los ensayos de infección, conteo y morfometría, una vez se alcanzó la confluencia en la monocapa de ambas líneas celulares, se removieron mecánicamente las células y a continuación se centrifugaron a 900 g por 10 min, el botón de células se resuspendió en el medio L-15/Grace, se hizo conteo y se sembraron aproximadamente  $2 \times 10^5$  células por cada pozo sobre laminillas de 12 mm de diámetro, en cajas de 24 pozos y se deja-

ron en crecimiento por 24 horas hasta lograr adherencia completa de las células.

**Infección.** A cada pozo de la caja de cultivo se adicionó 1 ml de una suspensión de parásitos en forma de promastigote ( $1 \times 10^6$  parásitos/ml), éstos se tomaron en la fase estacionaria y la proporción aproximada parásito/célula fue de 5:1 (Pessotti *et al.* 2004; Fampa *et al.* 2003). Luego, se llevaron a incubación a 28°C y a 37°C por 24 horas. Réplicas exactas sin parásitos fueron incubadas al mismo tiempo como controles. Las cajas de cultivo incubadas sin CO<sub>2</sub> a ambas temperaturas fueron selladas con Parafilm. Las cajas incubadas en ambiente de CO<sub>2</sub> al 5% no se sellaron, para permitir el intercambio gaseoso. Después de 24 horas de incubación, todas las células fueron lavadas con solución salina para retirar el exceso de parásitos y se adicionó medio fresco L-15/Grace. Los cultivos se observaron diariamente con un microscopio invertido (Olympus CK2). Al tercer día post-infección, se retiró el medio de cultivo de todos los pozos y se sacaron las laminillas correspondientes a ese día, al resto de pozos se les adicionó medio fresco. El mismo procedimiento se realizó en los días seis y nueve post-infección. Las laminillas se dejaron secar al ambiente por una hora y posteriormente se fijaron con metanol absoluto (Merck®) por 24 horas. Luego fueron teñidas con el colorante de Giemsa (Merck®) al 10% durante 10 minutos, se lavaron con agua destilada para retirar los excesos de colorante y se dejaron secar durante 24 horas. Finalmente, se les realizó un montaje permanente sobre láminas portaobjetos con Entellán (Merck®).

**Conteos y análisis de infección.** Las laminillas con ambos tipos de células se observaron en un fotomicroscopio (Olympus BX60) con objetivo de inmersión (100X) para realizar el conteo de las células infectadas y el número de amastigotes en cada una de ellas. Se contaron en promedio 200 células por cada laminilla y fueron evaluadas cuatro de tres experimentos independientes. Se determinó el porcentaje e índice de infección; este último parámetro se calculó multiplicando el porcentaje de infección celular por el promedio de amastigotes/célula (Lonardoní *et al.* 2000). Las variables que se tuvieron en cuenta en el proceso de infección fueron: a) temperaturas de 28 y 37°C y b) presencia o ausencia de CO<sub>2</sub>.

**Morfometría celular.** A células no infectadas e infectadas de ambas líneas celulares (J774 y Lulo), tomadas de las monocapas confluentes, se les realizó un análisis morfométrico. Se capturaron imágenes de todas las condiciones experimentales, mediante una cámara Sony Hyper HAD adaptada a un microscopio de luz (Olympus CH30). Se digitalizaron aproximadamente 400 células por cada variable utilizada en los experimentos, con el fin de comparar el área, eje mayor y menor de las células seleccionadas. El proceso de medición se realizó con el software Image Pro-Plus (Media Cybernetics).

**Microscopía electrónica de transmisión.** Cultivos celulares de Lulo, contenidos en cajas de 35 mm de diámetro se incubaron a 28°C, en ausencia de CO<sub>2</sub> y se infectaron con promastigotes de *L. chagasi*. Los cultivos celulares infectados se fijaron con glutaraldehído fresco al 3% disuelto en buffer fosfato 0,1 M con un pH 7,2, durante una hora a 4°C.

Luego, se lavaron por cinco minutos tres veces inmersos en el anterior buffer y fueron post-fijadas por una hora con tetróxido de osmio al 1%. A continuación, se lavaron de nuevo, fueron deshidratadas en una serie ascendente de alcoholes y embebidas en Epon (Polyscience®). Se obtuvieron secciones ultradelgadas usando un ultramicrotomo y se tiñeron con acetato de uranil y citrato de plomo. Las muestras se examinaron en un microscopio electrónico de transmisión marca Zeiss EM 110 (Almeida de Faria *et al.* 1999).

**Análisis estadístico.** A los datos de las infecciones se les hizo una transformación angular (arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción) y fueron sometidos a un test de ANOVA de una vía y a una prueba de comparaciones múltiples de Student Newman-Keuls, usando el programa Simstat para Windows (Versión 1.31). Las proporciones de infección a 28 y 37°C y los valores obtenidos con y sin atmósfera de CO<sub>2</sub>, se compararon usando la prueba t de Student. La variable de área celular se analizó usando un test Kolmogorov-Smirnov (Young 1977).

## Resultados

**Infección celular.** Se registró infección de las células con el parásito en todos los ensayos. Este se observó en forma de amastigote en las vacuolas parasitóforas, lo cual indica que previamente hubo internalización de los promastigotes, conversión a las formas amastigotes y multi-

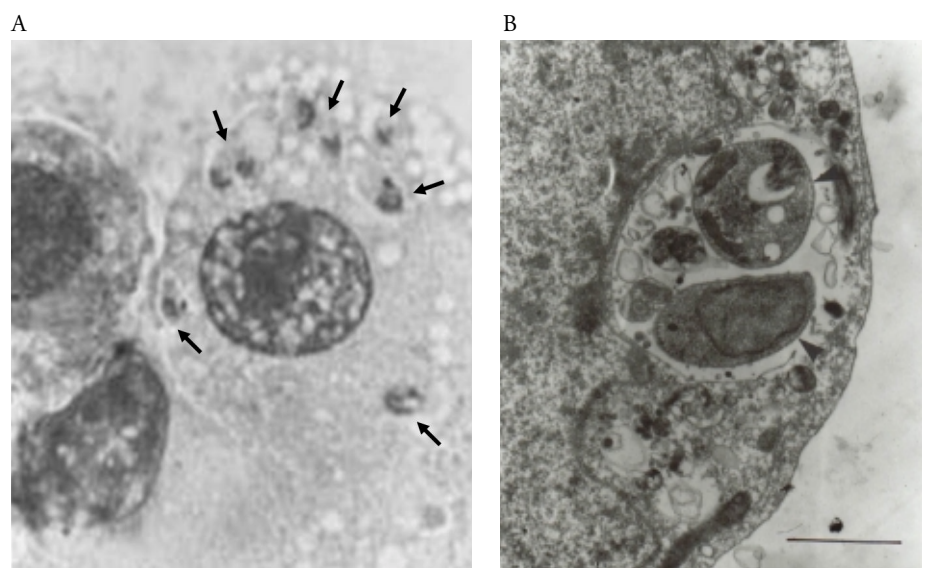
plicación intravacuolar. Sin embargo, la intensidad de este proceso dependió de las variables utilizadas. Hubo resistencia de los promastigotes para desprenderse de las células, al realizarse los lavados con solución salina 24 horas post-infección, indicativo de fuerte adherencia de los parásitos a la membrana celular. En el control positivo con células J774 fue evidente el proceso infectivo, mediante el registro de amastigotes en las vacuolas parasitóforas. En la figura 1a se muestra una célula Lulo con amastigotes intracelulares.

**Porcentaje de infección.** El día seis se registró el mayor porcentaje de infección (26,8%), en la línea celular Lulo infectada y mantenida a 28°C sin atmósfera de CO<sub>2</sub>, mientras que en los días tres y nueve, los valores correspondieron a 10,8% y 14,1%, respectivamente. A 37°C sin atmósfera de CO<sub>2</sub>, para los días post-infección tres y seis se determinaron porcentajes relativamente altos de infección (16,8% y 15,1% respectivamente); sin embargo, el día nueve mostró el mayor registro de infección (30,4%). El mayor porcentaje de infección (19,6%) en las células Lulo a 37°C con una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> se registró el día nueve.

Los experimentos con el control positivo de la infección (células J774), en ausencia de CO<sub>2</sub>, mostraron que a 37°C hubo mayor infección celular en el día tres (44,8%). De forma similar, con 5% de CO<sub>2</sub> el mayor porcentaje de infec-

ción (42,8%) ocurrió al tercer día, presentándose una ligera disminución a medida que el período post-infección se prolongó. El test Student del porcentaje promedio de infección indicó diferencias entre las células Lulo infectadas a 28°C (17,2%) y las células infectadas a 37°C (20,8%) sin atmósfera de CO<sub>2</sub> (P=0,0002). Igualmente, se encontraron diferencias entre las células Lulo infectadas a 37°C (20,7%) y los resultados a la misma temperatura de incubación con 5% de CO<sub>2</sub> (14,4%) (P=0,0000002) (Tabla 1).

**Número de amastigotes por célula.** En la línea celular Lulo a 28°C, observamos que al avanzar en los días de infección aumentó progresivamente el número de amastigotes por célula, con el valor promedio más alto (7,6) el día nueve. Contrariamente, en las células Lulo a 37°C sin CO<sub>2</sub> se registraron 3,6 amastigotes/célula en el día seis; mientras que para los días tres y nueve post-infección, correspondieron a valores de 2,5 y 2,9 respectivamente. Cuando las células Lulo se incubaron en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> el número fue de 3,6 amastigotes/célula, para el día seis al contrario de lo que ocurrió el día nueve, cuyo valor fue el más bajo (2,6). En el control positivo de la infección a 37°C, con y sin atmósfera de CO<sub>2</sub>, se observó mayor registro de parásitos por célula para el día tres; encontrándose 11,9 para el caso de células incubadas con CO<sub>2</sub> y 12,9 para las cultivadas sin CO<sub>2</sub>.



**Figura 1.** A. Célula Lulo infectada con el parásito *Leishmania chagasi*, se observan amastigotes (flechas) al interior de vacuolas parasitóforas. 100X. B. Microfotografía de una célula Lulo infectada. Se muestran dos amastigotes dentro de una gran vacuola (cabezas de flecha), en estas formas del parásito se distinguen subestructuras, tales como saco flagelar y microtúbulos característicos (21600X, escala = 1µm).

**Índice de infección.** El mayor índice de infección se registró en la línea celular J774 con un promedio (calculado con los datos de los tres días) de 413,9 en ausencia de CO<sub>2</sub>; en la línea celular Lulo a 28°C se obtuvo un promedio de 104,5, siendo más alto en comparación con Lulo a 37°C con atmósfera de CO<sub>2</sub> (61,5) y sin atmósfera de CO<sub>2</sub> (40,4) (Tabla 1).

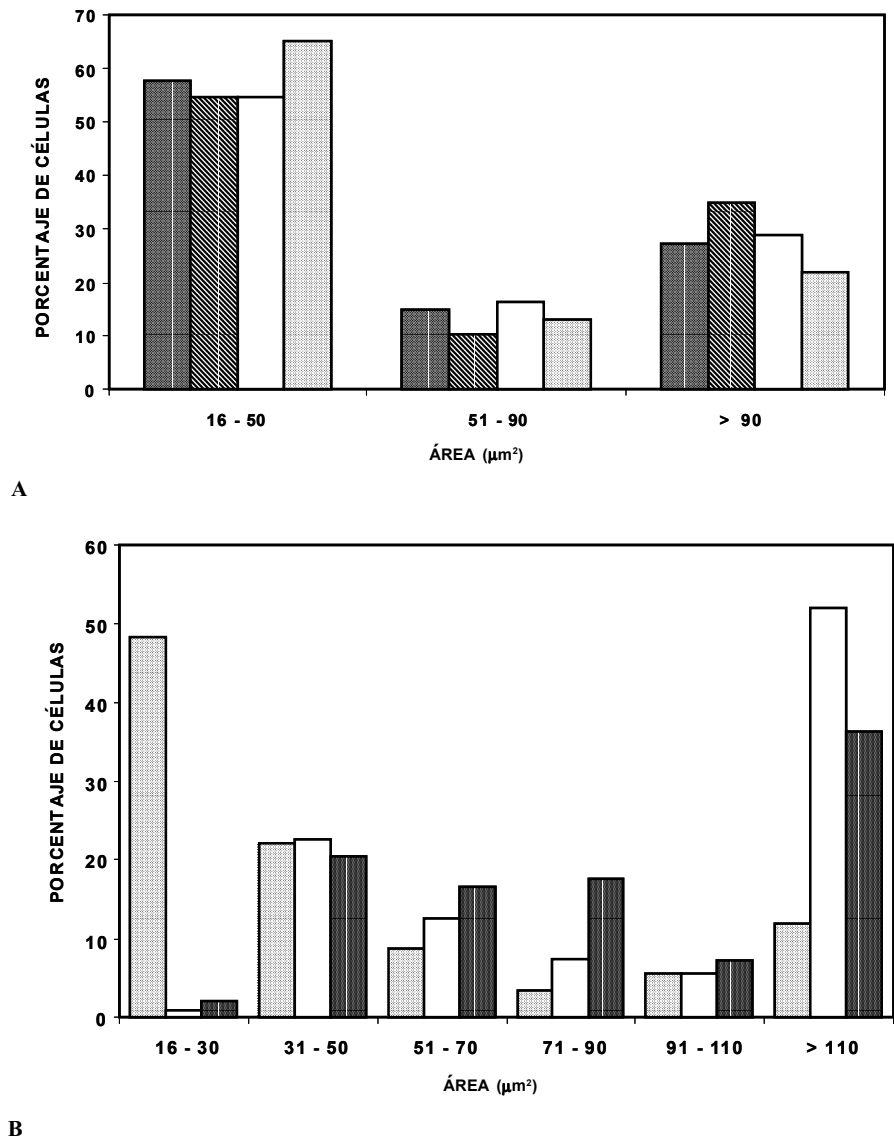
**Morfometría celular.** Las mediciones de área celular para la línea Lulo, evidenciaron el pleomorfismo de esta línea, pues las células se agruparon principalmente en tres rangos de área, las más numerosas, pequeñas (menores de 50 μm<sup>2</sup>), las intermedias (con áreas entre 51 y 90 μm<sup>2</sup>) y las grandes (con áreas mayores a 90 μm<sup>2</sup>) (Fig. 2A barras grises). Se comparó entre las células infectadas en las diferentes condiciones y se registró un aumento significativo de la proporción de células pequeñas infectadas a 37°C con CO<sub>2</sub> (65,1%) con respecto a los controles de infección sin CO<sub>2</sub> a 28 °C (54,8%) (Test de Kolmogorov-Smirnoff, p<0,05). El aumento de la infección de células pequeñas ocurrió al tiempo que hubo una disminución en el porcentaje de células grandes infectadas (34,8% en el control de infección vs 21,8% en las células Lulo infectadas a 37 °C en presencia de CO<sub>2</sub>) (Fig. 2A).

En las células J774 se observa que la infección induce un aumento en el área, pues la mayoría de las células en los cultivos no infectados tuvieron áreas entre 16-30 μm<sup>2</sup> (48,5%), según las distribuciones calculadas con base en el tamaño celular, y esta población virtualmente desaparece después de la infección. Se observó un aumento en el porcentaje de las poblaciones celulares con un área entre 51 y 90 μm<sup>2</sup> en los cultivos infectados. Como se observa en la Figura 2B (barras blancas y grises), la interacción con el parásito produjo un aumento significativo en las células con áreas mayores a 110 μm<sup>2</sup>, pues a pesar de que la población no infectada en este rango es de 12,0%, se encuentran grandes proporciones de células infectadas, en ausencia (52,1%) o en presencia de CO<sub>2</sub> (36,2%) en el mismo rango.

**Microscopía electrónica de transmisión.** Se observó la infección y localización del parásito *L. chagasi* en las líneas celulares seleccionadas, con clara definición de detalles ultraestructurales, y óptima conservación morfológica. También, se registró la integridad morfológica del parásito en el momento del contacto con las células. Se hizo patente la transfor-

mación del parásito *L. chagasi* en la línea celular Lulo, mediante la observación de amastigotes intracelulares (Fig. 1b), demostrando que las células Lulo son un sustrato eficiente para el desarrollo del ciclo biológico del patógeno. En la línea celular J774 se encontraron células

con numerosas vacuolas, mitocondrias y elementos organelares característicos y en estrecho contacto con células vecinas a través de sus procesos citoplasmáticos. También, se presentaron amastigotes intracelulares del parásito, confirmando el proceso de infección.



**Figura 2.** Histograma de distribución de frecuencias. **A:** Células Lulo según su área celular, bajo varias condiciones. Barra gris, análisis morfométrico de las células Lulo no infectadas, se muestra un promedio de las células mantenidas en dos diferentes temperaturas, pues la distribución es la misma, independiente de la temperatura de mantenimiento (28 y 37 °C). Solamente se observaron diferencias significativas en el test de Kolmogorov-Smirnoff al comparar las células infectadas y mantenidas a 37 °C en ambiente de CO<sub>2</sub> con respecto al control (barras oscuras). El mantenimiento de células infectadas sin atmósfera de CO<sub>2</sub> a 28°C (barra con diagonales) y a 37°C (barra blanca), no produjo cambios en los rangos de área presentes, en comparación con las células sin el parásito (p>0,05). **B:** Células J774. Barra oscura, análisis morfométrico de las células J774 no infectadas. La presencia o ausencia de CO<sub>2</sub> en estas células no cambió la distribución en cada rango de área. Las barras blancas corresponden a células infectadas e incubadas a 37°C sin CO<sub>2</sub>. Las barras grises muestran el comportamiento de las células infectadas e incubadas en ambiente de CO<sub>2</sub>. Se encontró que la distribución de las poblaciones es estadísticamente diferente entre células infectadas vs. células no infectadas y también si se infectaron en presencia o no de CO<sub>2</sub> (Test de Kolmogorov-Smirnoff, p<0,05).

**Tabla 1.** Porcentajes promedio de infección y razones amastigote/célula obtenidos en el proceso de infección de *Leishmania chagasi* en las líneas celulares Lulo y J774 bajo diferentes condiciones de cultivo y en diferentes tiempos después de la infección.

Temp	Atm	% Infec	Días post-infección							
			3		6		9			
			Ama/cel	Índ Infec	% Infec	Ama/cel	Índ Infec	% Infec	Ama/cel	Índ Infec
Lulo 28°C	Sin CO <sub>2</sub>	10,8 ± 1,0	3,1 ± 1,1	33,4 ± 2,5	26,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,4 ± 4,3	171,5 ± 6,8	14,1 ± 4,7	7,6 ± 1,4	107,1 ± 9,6
Lulo 37°C	Sin CO <sub>2</sub>	16,8 ± 1,1	2,5 ± 1,7	42 ± 4,9	15,1 ± 1,3	3,6 ± 2,9	54,3 ± 9,1	30,4 ± 0,9 <sup>b</sup>	2,9 ± 1,0	88,1 ± 5,4
	Con CO <sub>2</sub>	12,0 ± 0,8	2,8 ± 2,4	33,6 ± 2,9	11,5 ± 0,9	3,2 ± 1,4	36,8 ± 2,9	19,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	2,6 ± 2,0	50,9 ± 4,3
J774 37°C	Sin CO <sub>2</sub>	44,8 ± 0,3 <sup>d</sup>	12,9 ± 1,0	577,9 ± 12,6	42,6 ± 0,9	10,1 ± 0,7	430,2 ± 6,9	24,5 ± 0,8	10,5 ± 1,2	257,2 ± 2,0
	Con CO <sub>2</sub>	42,1 ± 1,0 <sup>e</sup>	11,9 ± 1,2	500,9 ± 12,6	39,2 ± 0,2	9,5 ± 1,4	372,4 ± 9,4	32,7 ± 0,8	8,6 ± 1,0	281,2 ± 7,3

Temp: temperatura, Atm: atmósfera, % Infec: porcentaje de infección, Ama/cel: amastigotes por célula, Índ Infec: índice de infección. Los valores representan el promedio ± DE. Diferencias altamente significativas para Lulo: a <sup>a</sup>28°C sin CO<sub>2</sub>, a <sup>b</sup>37°C sin CO<sub>2</sub>, a <sup>c</sup>37°C con CO<sub>2</sub>, ANOVA (P<0,01). Diferencias altamente significativa para J774 a <sup>d</sup>37°C sin CO<sub>2</sub>, a <sup>e</sup>37°C con CO<sub>2</sub>, ANOVA (P<0,01)

### Discusión

En el presente trabajo se demuestra por primera vez el proceso infectivo en presencia de variables de temperatura y CO<sub>2</sub> y con repercusiones a nivel de la morfología celular. Los parásitos tuvieron una fuerte adhesión a las células Lulo, independientemente de la variable analizada, demostrando la afinidad entre el parásito y la célula hospedera, lo cual permite inferir que ésta puede presentar receptores de membrana que facilitaron la unión, para luego dar paso a la internalización del parásito y la subsiguiente conversión de la forma promastigote a la amastigote. Además, hay que tener en cuenta la capacidad pluripotencial que probablemente desarrollaron muchas células Lulo para lograr la diferenciación en endocíticas y así poder efectuar el englobamiento de los parásitos. Esta situación, bajo otras circunstancias experimentales, es similar a la observado por Souza *et al.* (1977), quienes afirmaron que en el proceso endocítico potencial pudieron haber influido factores como el polimorfismo, componentes de membrana y carga eléctrica.

Las células Lulo presentaron capacidad para interactuar con los parásitos, originando modificaciones durante el desarrollo celular con posterior alojamiento de los parásitos; como lo muestra la presencia de vacuolas y formas amastigotas en su interior. Además, se han descrito partículas similares a carbohidratos alrededor de las membranas celulares de los parásitos, identificadas mediante marcadores específicos por microscopía electrónica, las cuales pueden ser considerados favorables al proceso de interacción de los

parásitos con las células (Sacks y Kamhawi 2001), similar a como ocurre en el intestino medio del flebótomo.

A 28°C sin CO<sub>2</sub> se incrementó el porcentaje e índice de infección en las células Lulo del día tres al día seis, disminuyeron ambos parámetros para el día nueve. Esta situación es similar a la reportada por Bello *et al.* (2005), quienes determinaron incrementos en estos mismos parámetros de infectividad desde el día dos hasta el día seis y luego disminuyeron paulatinamente hasta el día 10 post-infección. Por el contrario, a 37°C en ausencia o presencia de CO<sub>2</sub>, los cultivos tuvieron un alto porcentaje e índice de infección el día tres. La situación de las células J774, mostró alto porcentaje de infección el día tres, comparado con las células Lulo, lo cual permite inferir que este indicador de infección en los días anteriores venía en aumento e incluso se pudo mantener en ese ritmo ascendente hasta el día cinco, disminuyendo ligeramente el día seis, para luego descender hasta el día nueve, donde se registraron los valores más bajos. El efecto del tiempo de infección del parásito en las células J774 coincide parcialmente con los resultados de Bosque *et al.* (1998), quienes registraron incrementos del índice de infección de *L. panamensis* en macrófagos derivados de monocitos, en los tiempos de una, 24 y 48 horas post-infección y luego, a las 72 horas el valor descendió. Sin embargo, en este mismo trabajo aumentó el porcentaje de células infectadas y el número de parásitos por célula en fagocitos mononucleares a través de todos los tiempos de exposición

tomados en la evaluación del proceso infectivo (dos, 24, 48, 72 y 120 hr).

Lo observado a 37°C sin atmósfera de CO<sub>2</sub> durante los ensayos de infección de *L. chagasi* en las células Lulo demostró que, selectivamente, muchas de estas células al multiplicarse, permitieron la internalización y replicación de los parásitos aún con los porcentajes de infección más altos a los registrados a 28°C, presentándose en los análisis estadísticos diferencias significativas. Esto demuestra la capacidad de las células Lulo como hospederas del parásito, en condiciones adversas de temperatura, pero, al mismo tiempo, favorables a los amastigotes si tenemos en cuenta que el promedio de la temperatura en la vacuola parasitofora del hospedero mamífero se encuentra en este valor. Los experimentos en cultivos de Lulo con atmósfera de CO<sub>2</sub> a 37°C, mostraron valores de infección estadísticamente menores a lo registrado en ausencia de CO<sub>2</sub>.

La alta infección del parásito en las células Lulo a 28°C, posiblemente se debe a que el medio de cultivo de los insectos posee un pH ligeramente ácido con respecto a otros medios de vertebrados y, en ausencia de una atmósfera de CO<sub>2</sub>, éste desciende a niveles críticos de acidez, lo cual favorece la infectividad de los parásitos, siendo concordante con lo reportado por Zilberstein y Shapira (1994), estos autores sometieron promastigotes y amastigotes de *Leishmania* sp a diferentes pH y temperaturas, encontrando que los parásitos se adaptaron mejor a pH bajos y a temperaturas relativamente altas. El metabolismo del

amastigote está adaptado a un pH ácido (Glaser *et al.* 1988) y estos organismos pueden atravesar el gradiente de protones a través de su membrana, formada sobre condiciones ácidas para conducir el transporte activo de glucosa y aminoácidos (Zilberstein 1991; Glaser *et al.* 1988). Este mecanismo puede contribuir al mantenimiento del pH ácido en la vacuola parasitofora.

Con respecto al control positivo del estudio, la línea celular J774, los porcentajes, índice de infección y número de amastigotes por célula fueron más altos comparados con las células Lulo, debido a que estas células presentan características macrofágicas (Papadimitriou y Ashman 1989; Ralph *et al.* 1975) y se encuentran adaptadas fisiológicamente como hospederas del parásito.

Según el análisis morfométrico, la temperatura de incubación no afectó los porcentajes de células no infectadas en cada rango (barra gris en la figura 2). De igual manera, las células infectadas e incubadas a 37°C en ausencia de CO<sub>2</sub>, no cambiaron los perfiles de área con respecto a los controles ( $p > 0,05$ ), como si ocurrió al incubar las células infectadas a 28°C, cultivos en los cuales se aumentó significativamente el grupo de células mayores de 90  $\mu\text{m}^2$ , con una disminución consecuente en los grupos de células pequeñas e intermedias. El mayor cambio en la morfología ocurrió cuando se incubaron las células Lulo infectadas a 37°C con atmósfera de CO<sub>2</sub>, pues se encontró un aumento significativo en el porcentaje de células pequeñas (16-50  $\mu\text{m}^2$ ), al tiempo que una disminución de las células grandes (mayores de 90  $\mu\text{m}^2$ ); este hallazgo estuvo relacionado con un mayor número de amastigotes intracelulares. Se podría pensar que la presencia de CO<sub>2</sub> favoreció la infección en la célula y la capacidad de alojar los parásitos de *L. chagasi*. La replicación y transformación *in vitro* de parásitos de *Leishmania* en las células Lulo y en las J774, originaron cambios en la morfología celular, lo cual finalmente podría haber terminado en lisis, fenómeno que se observa en la infección natural *in vivo* de *Leishmania* en las células del hospedero. Esto concuerda con lo reportado en otros estudios quienes comprobaron que la replicación de patógenos en células de mamífero ocasiona cambios en su morfología (Carrasco 1987; Páez y Estebán 1987; Ulug *et al.* 1987; Carrasco *et al.* 1989).

En los cultivos de J774, la infección produjo un aumento en el área de las células,

las poblaciones de células más pequeñas desaparecieron y se incrementó el porcentaje de células intermedias y grandes. La población de células mayores a 110  $\mu\text{m}^2$ , fue cinco y tres veces mayor en ausencia o presencia de CO<sub>2</sub> respectivamente, indicando que el parásito podría estar induciendo agravamientos celulares o sincitios.

En el desarrollo del proceso de infección, las células experimentaron aumento en su tamaño hasta alcanzar áreas superiores a 111  $\mu\text{m}^2$ , en donde se ubicó el mayor porcentaje de células. Este aumento en el tamaño celular, probablemente, se debió a los cambios metabólicos que indujo el parásito al internalizarse y transformarse en amastigote.

Los cultivos celulares derivados de *L. longipalpis* permitieron la adhesión, internalización y transformación biológica de los parásitos de *L. chagasi*. Probablemente muchas células Lulo pudieron expresar su capacidad pluripotencial, como células embrionarias no diferenciadas, al convertirse en hospederas del patógeno configurándose en una herramienta útil de investigación para reproducir algunos procesos de infección del parásito que eventualmente pueden ocurrir en las interacciones parásito-hospedero-vector. Esto puede apoyar estrategias eficaces en el control del parásito.

#### Agradecimientos

A la doctora María Leonor Caldas y Ladys Sarmiento del laboratorio de análisis y procesamiento de imágenes del Instituto Nacional de Salud, por el apoyo en el procesamiento de las muestras con la microscopía electrónica de transmisión. En la realización del trabajo no se presentó conflicto de interés financiero, político ni académico. Este trabajo fue financiado por Colciencias, Universidad de La Salle e Instituto Nacional de Salud (código: 1243-05-12416).

#### Literatura citada

- ABDULRAHMAN, Y. I.; GARMSON, I. J.; MOLYNEUX, D. H.; BATES, P. A. 1998. Transformation, development, and transmission of axenically cultured amastigotes of *Leishmania mexicana* in vitro and in *Lutzomyia longipalpis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 59: 421-425.
- AIKAWA, M.; HENDRICKS, L. D.; ITO, Y.; JAGUSIAK, M. 1982. Interactions between macrophagelike cells and *Leishmania braziliensis* in vitro. American Journal of Pathology 108: 50-59.
- ALMEIDA DE FARIA, M.; FREYMULLER, E.; COLLI, W.; ALVES, M. J. 1999.

- Trypanosoma cruzi*: characterization of an intracellular epimastigote-like form. Experimental Parasitology 92: 263-274.
- AÑEZ, N.; TANG, Y.; ROJAS, A.; CRISANTE, G.; KILLICK-KENDRICK, M.; KILLICK-KENDRICK, R. 2003. Detection of amastigote-like forms in the valve of *Phlebotomus papatasi* infected with *Leishmania major*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 98: 495-498.
- AQUINO, M. C.; SANTOS, R.; BARRETO, R.; PONTES DE CARVALHO DOS SANTOS, W. L. C. 2002. A simple and reproducible method to obtain large numbers of axenic amastigotes of different *Leishmania* species. Parasitology Research 88: 963-968.
- BATES, P. A.; ROBERTSON, C. D.; TETLEY, L.; COOMBS, G. H. 1992. Axenic cultivation and characterization of *Leishmania mexicana* amastigotes-like forms. Parasitology 105: 193-202.
- BATES, P. A.; TETLEY, L. 1993. *Leishmania mexicana*: induction of metacyclogenesis by cultivation of promastigotes at acidic pH. Experimental Parasitology 76: 412-423.
- BATES, P. A. 1994. Complete developmental cycle of *Leishmania mexicana* in axenic culture. Parasitology 108: 1-9.
- BATES, P. A. 1997. Infection of Phlebotomine sandflies with *Leishmania*. p. 112-120. En: Crampton, J. M.; Beard, C. B.; Louis, C. (eds.). The Molecular Biology of Insects Disease Vectors, Chapman & Hall, London.
- BELLO, F. J.; MEJÍA, A. J.; CORENA, M.; AYALA, M.; SARMIENTO, L.; ZUÑIGA, C.; PALAU, M. 2005. Experimental infection of *Leishmania (L.) chagasi* in a cell line derived from *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 100: 519-525.
- BOSQUE, F.; GENEVIEVE, M.; VALDERRAMA, L.; SARAVIA, N. 1998. Permissiveness of human monocytes and monocyte-derived macrophages to infection by promastigotes of *Leishmania (Viannia) panamensis*. Journal of Parasitology 84: 1250-1256.
- CARRASCO, I. 1987. Animal virus induced cytotoxicity: an overview. p. 1-3. En: Carrasco, L. Mecanism of viral toxicity in animal cells, CRC Press, Boca Raton, FL. 19 p.
- CARRASCO, I.; OTERO, M. J.; CASTRILLO, J. L. 1989. Modification of membrane permeability by virus infection. Pharmacology & Therapeutics 40: 171-212.
- CHANG, K. P.; DWYER, D. M. 1976. Multiplication of a human parasite (*Leishmania donovani*) in phagolysosomes of hamster macrophage *in vitro*. Science 193: 678-680.
- CHANG, K. P. 1978. *Leishmania* infection of human skin fibroblasts *in vitro*: absence of phagolysosomal fusion after induced phagocytosis of promastigotes, and their intracellular transformation. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 27: 1084-1096.



- CHANG, K. P. 1979. *Leishmania donovani*: Promastigote-macrophage surface interactions in vitro. *Experimental Parasitology* 48: 175-89.
- CORTE-REAL, S.; SANTOS, C. B.; MEIRELLES, M. N. L. 1995. Differential expression of the plasma membrane Mg<sup>2+</sup> ATPase and Ca<sup>2+</sup> ATPase activity during adhesion and interiorization of *Leishmania amazonensis* in fibroblasts in vitro. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 27: 359-366.
- CRAMPTON, J. M.; BEARD, C. B.; LOUIS, C. 1997. The molecular biology of insect disease vector. A methods manual. 1<sup>th</sup> Edition. Chapman & Hall. London. 578 p.
- CUNHA, A. M.; CHAGAS, E. 1937. Nova espécie de protozoário do Gênero *Leishmania* patogênico para o homem (nota prévia). *Hospital (Rio de Janeiro)* 11: 5-9.
- DEDET, J. P.; RYTER, A.; VOGT, E.; HOSU, P.; PEREIRA DA SILVA, L. 1983. Uptake and killing of *Leishmania mexicana amazonensis* amastigotes by human skin fibroblasts. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 77: 35-44.
- FAMPA, P.; CORREA DA SILVA, M. S.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, S. M.; MOTTI, M. C.; SARAIVA, E. 2003. Interaction of insect trypanosomatids with mosquitoes, sand fly and the respective insect cell lines. *International Journal for Parasitology* 33: 1019-1026.
- GLASER, T. A.; BAATZ, J. E.; KREISHMAN, G. P.; MUKKADA, A. J. 1988. pH homeostasis in *Leishmania donovani* amastigotes and promastigotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85: 7602-7606.
- HÉRVAS-RODRIGUEZ, J.; MOZOS, E.; MÉNDEZ, A.; PÉREZ, J.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C. 1996. The *Leishmania* infection of canine skin fibroblasts in vitro. *Veterinary Pathology* 33: 469-473.
- HODGKINSON, V. H.; SOONG, L.; DUBOISE, S. M.; MCMAHON-PRATT, D. 1996. *Leishmania amazonensis*: cultivation and characterization of axenic amastigote-like organisms. *Experimental Parasitology* 83: 94-105.
- IGARASHI, A. J. 1978. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clones sensitive to dengue and chikungunya viruses. *Journal of General Virology* 40: 531-544.
- IGARASHI, A. J. 1985. Mosquito cell culture and study of Arthropod-Borne Togaviruses. *Advances in Virus Research* 30: 21-42.
- KITAMURA, S. 1965. The in vitro cultivation of tissues from the mosquito *Culex pipiens* var. *molestus*. II. A improved culture medium useful for ovarian tissue culture. *Kobe Journal of Medical Sciences* 11: 315-433.
- KILLICK-KENDRICK, R. 1986. The transmission of leishmaniasis by the bite of the sandfly. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 132: 134-140.
- KUNO, G.; GUBLER, D. J.; VELEZ, M.; OLIVER, A. 1985. Comparative sensitivity of three mosquito cell line for isolation of dengue viruses. *Bulletin of the World Health Organization* 63: 279-286.
- LEAKE, C. J. 1997. Establishing primary cell culture from disease vectors and maintenance of continuous cell line. En: Crampton, J. M.; Beard, C. B.; Louis C. (eds.). *The Molecular Biology of Insect Disease Vectors*, Chapman & Hall, London. 487 p.
- LEÓN, L. L.; SOARES, M. J.; TEMPORAL, R. M. 1995. Effects of temperature on promastigotes of several species of *Leishmania*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 42: 219-223.
- LONARDONI, M. V. C.; RUSSO, M.; JANCAR, S. 2000. Essential role of platelet-activating factor in control of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* infection. *Infection and Immunity* 68: 6355-6361.
- LUTZ, A.; NEIVA, A. 1913. Contribuicoes para a biologia das megarininas com descricoes de duas especies novas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 5: 129-141.
- MATTOCK, N. M.; PETTERS, W. 1975. The experimental chemotherapy of leishmaniasis. I: Techniques for the study of drug action in tissue culture. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 69: 349-56.
- MOLYNEUX, D. H.; KILLICK-KENDRICK, R. 1986. Morphology, ultrastructure and life cycles in The Leishmaniasis. p. 140-161. En: Peters, W.; Killick-Kendrick, R. (eds.). *Biology and Medicine*, vol. I. Academic Press, London.
- PAN, A. A. 1984. *Leishmania mexicana*. Serial cultivation of intracellular stages in a cell-free medium. *Experimental Parasitology* 58: 72-80.
- PAEZ, E.; ESTEBÁN, M. 1987. Inhibition of host protein synthesis by DNA viruses. p. 59-89. En: Carrasco, L. *Mechanism of viral toxicity in animal cells*, CRC, Press, Boca Raton, Florida.
- PAPADIMITRIOU, J. M.; ASHMAN, R. B. 1989. Macrophages: current views on their differentiation, structure, and function. *Ultrastructural Pathology* 13: 343-372.
- PEARSON, R. D.; ROMITO, R.; SYMES, P. H.; HARCUS, J. L. 1981. Interaction of *Leishmania donovani* promastigotes with human monocyte-derived macrophages: parasite entry, intracellular survival, and multiplication. *Infection and Immunity* 32: 1249-1253.
- PESSOTTI, J. H.; ZAVERUCHA DO VALLE, T.; CORTE-REAL, S.; GONCALVES DA COSTA, S. C. 2004. Interaction of *Leishmania (L.) chagasi* with the Vero cell line. *Parasite* 11: 99-102.
- RALPH, P.; PRICHARD, J.; COHN, M. 1975. Reticulum cell sarcoma: an effector cell in antibody-dependent cell-mediated immunity. *The Journal of Immunology* 114: 898-905.
- REY, G.; FERRO, C.; BELLO, F. 2000. Establishment and characterization of a New Continuous cell line from *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and its susceptibility to infections with Arboviruses and *Leishmania chagasi*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 95: 103-110.
- SAAR, Y.; RANSFORD, A.; WALDMAN, E.; MAZAREB, S.; AMIN-SPECTOR, S.; PLUMBLEE, J. 1998. Characterization of developmentally-regulated activities in axenic amastigotes of *Leishmania donovani*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 95: 9-20.
- SACKS, D. L.; KAMHAWI, S. 2001. Molecular aspects of parasite - vector and vector - host interactions in leishmaniasis. *Annual Review Microbiology* 55: 453-483.
- SINGH, K. 1967. Cell culture derived from larvae of *Aedes albopictus* (Skuse) and *Aedes aegypti* (L.). *Current Science* 36: 506-508.
- SCHWARTZMAN, J. D.; PEARSON, R. D. 1985. The interactions of *Leishmania donovani* promastigotes and human fibroblasts in vitro. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 34: 850-855.
- SOUZA, W. C.; ARGUELLO, A.; MARTINEZ-PALOMO, D.; GONZALEZ-ROBLES, T.; CHIAU, E. 1977. Surface charge of *Trypanosome cruzi*. Binding of cationized ferritin and measurement of cellular electrophoretic mobility. *Journal of Protozoology* 24: 411-415.
- ULUG, E. T.; GARRY, R. F.; BOSE, H. R. 1987. Cell killing by enveloped RNA viruses. p. 92-113. En: Carrasco, L. *Mechanisms of viral toxicity in animal cells*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- YOUNG, I. T. 1977. Proof without prejudice, use of the Kolmogorov, Smirnov test for the analysis of histograms from floe systems and other sources. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 25: 935-941.
- ZILBERSTEIN, D. A. 1991. Adaptation of *Leishmania* species to an acidic environment. p. 349-358. En: Coombs, G.; North, M. (eds.). *Biochemical Protozoology* London: Taylor and Francis.
- ZILBERSTEIN, D. A.; SHAPIRA, M. 1994. The role of pH and temperature in the development of *Leishmania* parasites. *Annual Review of Microbiology* 48: 449-470.

**Nota científica****Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela**Resistance to Temephos in populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from western VenezuelaLESLIE ÁLVAREZ<sup>1</sup>, ARELIS BRICEÑO<sup>2</sup>, MILAGROS OVIEDO<sup>3</sup>

**Resumen.** Los insecticidas organofosforados han jugado un papel muy importante en el control de *Aedes aegypti*, vector de dengue clásico y hemorrágico en Venezuela y otros países de América. Por más de 20 años en Venezuela el Temephos ha sido usado como larvicida y Malathion como adulticida en las campañas de control de este vector. Por estas razones seleccionamos cinco cepas de *A. aegypti* de cuatro estados venezolanos: Trujillo (PTO y SM), Zulia (Z), Falcón (F) y Táchira (TB), para determinar los niveles de resistencia al Temephos. Los bioensayos se realizaron con larvas de IV estadio probando cinco concentraciones del insecticida, siguiendo la metodología de la OMS. Al determinar los rangos de resistencia, las cepas TB, Z, F y SM resultaron ser susceptibles con valores de FR<sub>50</sub> menores a 5. La cepa PTO es resistente (6,3 X). Los resultados sugieren que estas poblaciones deben monitorearse continuamente para observar cualquier cambio en los niveles de resistencia al Temephos. Además, se hace necesario conocer la respuesta de cualquier población de *A. aegypti* que se desee controlar con este insecticida en Venezuela, para así garantizar su efectividad.

**Palabras clave:** Control. Dengue. Larvas. Resistencia.

**Abstract.** Organophosphate insecticides have played a very important role in the control of *Aedes aegypti*, vector of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Venezuela and other American countries. For more than 20 years in Venezuela, Temephos has been used as a larvicide and Malathion as an adulticide in control campaigns for this vector. For these reasons we selected five strains of *A. aegypti* from four Venezuelan states: Trujillo (PTO and SM), Zulia (Z), Falcón (F) and Táchira (TB), to determine levels of resistance to Temephos. Bioassays were conducted with stage IV larvae testing five insecticide concentrations, according to the WHO methodology. After determining the range of resistance, strains TB, Z, F and SM were susceptible with FR<sub>50</sub> values below 5. The strain PTO is resistant (6,3 fold). The results suggest that these populations should be under continual surveillance to observe any change in level of resistance to Temephos. Additionally, it is necessary to know the response of any *A. aegypti* population to be controlled with this insecticide in Venezuela, and that way guarantee its efficacy.

**Key words:** Control. Dengue. Larvae. Resistance.

**Introducción**

Avilan (2004) considera el dengue clásico y el dengue hemorrágico como enfermedades reemergentes al analizar el incremento de los casos notificados hasta 60 veces, la hiperendemicidad de los virus 1, 2 y 4 y aislamiento del virus tipo 3 en Nicaragua, Panamá, Costa Rica, Honduras, El Salvador y Venezuela. En este último país, según cifras del Ministerio de Salud durante el año 2005 se detectaron 37.684 casos (6,3% hemorrágico) lo que sugiere un incremento de la casuís-

tica en un 36,6% con respecto al año 2004. Este incremento, según el Director de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Venezuela se debió a los largos periodos de lluvia ocurridos durante el año y se sugirió como estrategia campañas para la reducción de criaderos y educación sanitaria (García 2005).

Las medidas de reducción de criaderos y los programas de saneamiento ambiental, tal como lo señalaran Montada *et al.* (2005) aunque son importantes dentro de

las estrategias, no han sido suficientes para el control de *Aedes aegypti* (Linnaeus), cuyo control se ha logrado principalmente por métodos químicos. Sin embargo, el uso continuo de insecticidas químico clorados en la década de los 70, trajo como consecuencia el desarrollo de altos niveles de resistencia al DDT y otros organoclorados, por lo que en los programas de control se introduce otro grupo de insecticidas, los organofosforados, específicamente Temephos granulado aplicado en recipientes de agua doméstica y considerado uno de los mejores quí-

1 Autor para correspondencia. Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. MSc en Protozoología. Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. hleslieag@hotmail.com

2 Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. Licenciada en Educación, Núcleo Universitario "Rafael Rangel" Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. arelis\_briceño@hotmail.com

3 Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. Doctora en Ciencias. Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. longipalpis@cantv.net

micos controladores de estadios inmaduros de *Aedes aegypti* y concomitantemente Malathion para el control de adultos.

Desafortunadamente en los últimos años Chávez *et al.* (2005); Braga *et al.* (2004); Rodríguez *et al.* (1999) y Mazzarri y Georghiou (1995) han reportado poblaciones resistentes al Temephos en Cuba, Brasil, Perú y Venezuela y debido a los programas extensivos (durante 15 años o más) de rociamiento con Malathion en algunas áreas del caribe, poblaciones de *A. aegypti* han desarrollado diferentes niveles de resistencia a este insecticida (Rawlins 1998; Mazzarri y Georghiou 1995; Mekiura *et al.* 1991; Rawlins y Ragoonansingh 1990; Georghiou *et al.* 1987).

En Venezuela los estudios de monitoreo de resistencia a insecticidas han revelado que la especie ha desarrollado resistencia a diferentes líneas de insecticidas; tan tempranamente como en 1958 se conoció que *A. aegypti* era resistente al DDT (Quaterman y Schoof 1958). Posteriormente, Mouchet (1967) refiere resistencia al dieldrin/BHC y Georghiou *et al.* (1987) a organofosforados y carbamatos. Mazzarri y Georghiou (1995) detectaron poblaciones de *A. aegypti* de los estados Aragua y Falcón resistentes a Temephos, Malathion, Pirimiphos-methyl, Chlorpyrifos, Propoxur, Permethrin y Lambda-cyhalothrin, y recientemente Pérez *et al.* (2001) refiere que poblaciones de esta especie en el estado Aragua son resistentes a los piretroides lambda-cyhalotrina, cyflutrina y deltametrina.

Esta situación de variabilidad en la susceptibilidad de *A. aegypti* en los diferentes estados venezolanos a los insecticidas químicos, nos ha motivado a evaluar la susceptibilidad y/o resistencia al Temephos de cinco poblaciones de este vector procedentes de cuatro estados del occidente del país: Trujillo, Zulia, Falcón y Táchira donde una alta casuística de dengue y dengue hemorrágico es reportada.

### Materiales y Métodos

Se evaluaron seis cepas de *Aedes aegypti*, una de referencia y cinco de campo procedentes de cuatro estados de la región occidental de Venezuela.

Cepa Rockefeller: cepa de referencia susceptible, que fue gentilmente cedida por los Drs. Gary Clark y Roberto Barrera del Laboratorio del CDC de San Juan de Puerto Rico. En la tabla 1 se presentan las localidades y ubicaciones geográficas de

**Tabla 1.** Procedencia de las cepas de campo.

Cepas de campo	Localidad	Estado	Coordenadas geográficas
Paramito (PTO)	Ciudad Capital	Trujillo	9°22'N/70°26'W
San Martín (SM)	Valera	Trujillo	9°19'N/70°37' W
Zulia (Z)	Mecocal	Zulia	10°33'17N/71°24'32"W
Falcón (F)	Los Pedros	Falcón	10°48'13N /70°57'14"W
Táriba (TB)	Cárdenas	Táchira	9°25'19"N/72°13'15"W

las cepas de campo. Las cepas PTO y TB se obtuvieron mediante búsqueda activa en floreros y contenedores de agua en cementerios y las restantes se colectaron de contenedores de agua, y todo aquello que pudiera ser considerado un criadero de *A. aegypti* en las diferentes localidades.

Las colonias se establecieron a finales del año 2004 y se mantuvieron en el insectario del Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba" del Núcleo "Rafael Rangel" de la Universidad de los Andes, Venezuela, bajo condiciones controladas de temperatura  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  y 65% de humedad relativa. El insecticida Temephos 500-E, 50% CE, fue suministrado por la Dra. Darjaniva Molina del Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Maracay-Venezuela.

Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization 1981). Se evaluaron cinco concentraciones que oscilaron entre 0,002 ppm y 0,02 ppm, las cuales ocasionaron entre el 2 y 98% de mortalidad, utilizando veinte larvas de cuarto estadio temprano de cada cepa estudiada mediante cinco réplicas para un total de 100 larvas por concentración. Para la evaluación de la cepa de referencia Rockefeller, el rango de concentraciones osciló entre 0,008 ppm y 0,002 ppm. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1ml con acetona la cual se añadió a 99 ml de agua. Un grupo control fue llevado a la par con los grupos experimentales tratándolo solo con acetona, la cual no causó mortalidad en las larvas. Este ensayo se repitió en tres ocasiones en tres días. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 horas y los resultados se procesaron mediante el Probit analysis program (Raymond, 1985) para obtener las concentraciones letales 50 y 95.

Para evaluar la resistencia al Temephos de las cinco cepas silvestres de *Aedes aegypti* se calcularon los factores de resistencia (FR)<sub>50</sub>, por comparación de las concentraciones letales 50 de las cepas

de campo con la cepa de referencia, mediante la siguiente fórmula:

$$FR_{50} = CL_{50} \text{ cepa de campo} / CL_{50} \text{ cepa susceptible (Rockefeller)}$$

La categorización de las cepas de campo fue hecha siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud (1981):  $FR < 5 =$  Susceptible y  $FR > 5 =$  Resistente.

### Resultados

En la tabla 2 se muestran los rangos de las concentraciones letales 50 y 95, pendientes de las líneas de regresión Probit-Log y factores de resistencia para Temephos en las cepas de *Aedes aegypti* procedentes de los estados Trujillo, Zulia, Falcón y Táchira en Venezuela en comparación con la cepa de referencia susceptible.

Las cepas Táriba (TB), Zulia (Z), Falcón (F) y Trujillo (SM) fueron susceptibles al Temephos, con bajos valores en los FR<sub>50</sub>; 2,24; 1,14; 1,60 y 0,86 respectivamente. Los valores obtenidos en las pendientes de las rectas de regresión, oscilaron entre 3,36 y 4,57 demostrando una respuesta heterogénea de estas cepas de campo con respecto a la cepa de referencia. Con respecto a la cepa Paramito del estado Trujillo los individuos de esta población mostraron resistencia al Temephos con un FR<sub>50</sub> 6,34 y el alto valor de la pendiente de la recta de regresión (7,71) nos indica que esta población responde en forma homogénea frente al insecticida.

### Discusión

Los resultados revelan que las cepas de *A. aegypti* procedentes de los estados venezolanos Táchira, Zulia y Falcón responden en forma similar frente al Temephos, uno de los insecticidas más utilizados para su control en fase inmadura, coincidiendo con los hallazgos referidos por Mazzarri y Georghiou (1995) en poblaciones de Coro, estado Falcón y Maracay, estado Aragua, cuyos valores en los FR<sub>50</sub> fueron menores a cinco, lo que sugiere que son susceptibles al in-

**Tabla 2.** Concentraciones letales y factores de resistencia al Temephos en larvas de *Aedes aegypti* de cuatro estados del occidente de Venezuela para el año 2005.

Cepas	CL50 (ppm) IC	CL95 (ppm) IC	FR <sub>50</sub>	b (± DE)
Rockefeller	0,005 0,0048 - 0,0052	0,0092 0,0087-0,0099		6,17 (± 0,37)
Zulia (Z)	0,0057 0,0055 - 0,0060	0,0177 0,0161- 0,0197	1,14	3,36 (± 0,15)
Táchira (TB)	0,0112 0,0105 - 0,0119	0,0312 0,0275- 0,0363	2,24	3,68 (± 0,18)
Falcón (F)	0,008 0,0077 - 0,0083	0,0182 0,0165- 0,0205	1,6	4,57 (± 0,24)
Trujillo Paramito (PTO)	0,0317 0,0309- 0,0326	0,0517 0,0473- 0,0588	6,34	7,71 (± 0,74)
San Martín (SM)	0,0043 0,0041 - 0,0045	0,0101 0,0093- 0,0111	0,86	4,43 (± 0,21)

DE: Desviación estándar, IC: Intervalos de confianza  $p = 0,05$ , b: Pendiente.

secticida. En otros países de América también se han encontrado poblaciones de *A. aegypti* con bajos niveles de resistencia al Temephos, tal es el caso del Perú, donde Chávez *et al.* (2005) reportan poblaciones procedentes de las localidades el Porvenir y Sultana con FR<sub>50</sub> de 1,45X y 1,67X respectivamente.

Con las poblaciones obtenidas del estado Trujillo encontramos diferencias en la respuesta al Temephos, así tenemos, que la cepa Paramito (PTO) procedente de un área altamente urbanizada, sujeta a constante presión con insecticidas y con altos índices de infestación del vector y procedencia de la mayoría de los casos de dengue en el estado Trujillo según el Ministerio de Salud (2005), mostró resistencia con un FR<sub>50</sub> de 6,34, mientras que la población San Martín, procedente de un área rural, con grandes problemas sanitarios, de poco o ningún acceso a las medidas de control, mostró susceptibilidad al insecticida, probablemente esta diferencia pueda asociarse a la ausencia de presión de selección ejercida sobre la población de San Martín, ratificando lo referido por otros investigadores de que la continua presión con insecticidas conlleva al desarrollo de resistencia (Chávez *et al.* 2005; Bisset 2002).

La homogeneidad en la respuesta de los ejemplares de la cepa PTO frente al larvicida, expresada a través de un alto valor de la pendiente de la recta de regresión ( $b = 7,71$ ) sugieren una alta frecuencia de individuos RR en la población, sobre este aspecto deben llevarse a cabo pruebas bioquímicas para determinar posibles mecanismos de resistencia al insecticida con la finalidad de detectar con precisión el nivel genotípico y diferen-

ciación de individuos resistentes homogóticos (Bisset 2002).

En Venezuela Bisset *et al.* (2001) encontraron poblaciones de *A. aegypti* procedente del estado Apure resistentes al Temephos con un FR<sub>50</sub> de 11,1X; al igual que se han registrado moderados niveles de resistencia en poblaciones de Cuba y Brasil con FR<sub>50</sub> de 5,9X y 6,3X respectivamente, pero es importante destacar que en estos tres países aun se encuentran poblaciones susceptibles a este larvicida (Bisset *et al.* 2001; Campos y Andrade 2001). Sobre la base de estos resultados y los obtenidos en el presente estudio, se presenta una diversidad en la susceptibilidad de *A. aegypti* en las diferentes poblaciones de este vector, por lo que se hace necesario e indispensable realizar monitoreos continuos en poblaciones de *A. aegypti* en las diferentes localidades de los estados venezolanos antes de la aplicación del Temephos y así hacer un buen uso de este insecticida en los programas de control.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de los Andes, Venezuela Proyecto Código C-339-03-03-C. Así mismo agradecen al comité de evaluadores de la Revista Colombiana de Entomología por la revisión y crítica del manuscrito.

#### Literatura citada

AVILAN, J. M. 2004. Enfermedades Nuevas, emergentes y reemergentes. Gaceta Médica de Caracas (Venezuela) 112 (3): 248-252.  
 BISSET, J. A.; RODRÍGUEZ, M. M.; MOLINA, D.; DÍAZ, C.; SOCA, L. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de

resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Revista Cubana Medicina Tropical 53 (1): 37-43.

- BISSET, J. A. 2002. Uso correcto de Insecticidas: Control de la resistencia. Revista Cubana Medicina Tropical 54 (3): 202-219.  
 BRAGA, I. A.; PEREIRA, J. B.; DA SILVA, S.; VALLE, D. 2004. *A. aegypti* resistance to Temephos during 2001 in several municipalities in the state of Rio de Janeiro, Sergipe, and Halagaos, Brazil. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 99 (2): 199-203.  
 CAMPOS, J.; ANDRADE, C. 2001. Susceptibilidad larval de duas populacoes de *Aedes aegypti* a insecticidas químicos. Revista de Saúde Pública 35 (3): 232-236.  
 CHÁVEZ, J.; CÓRDOVA, O.; VARGAS, F. 2005. Niveles de susceptibilidad a temefos en el vector transmisor del dengue en Trujillo, Perú. Anales de la Facultad de Medicina Lima 66 (1): 53-56.  
 GARCÍA, M. 2005. Boletín Epidemiológico Semanal, semana Epidemiológica 52. <http://www.msds.gov.ve/msds/modules>. Fecha de la última revisión: 10 febrero 2006. Fecha último acceso: 09 junio 2006.  
 GEORGHIU, G. P.; WIRTH, M.; TRAN, H.; SAUME, F.; KRIUDSEN, B. 1987. Potential for organophosphates resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and neighboring countries. Journal of Medical Entomology 24: 290-294.  
 MAZZARRI, M. B.; GEORGHIU, G. P. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. Journal of the American Mosquito Control Association 11: 315-322.  
 MEKIURA, Y.; GWINN, T. A.; WILLIAMS, D. C.; TIDWELL, M. A. 1991. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. Journal of the American Mosquito Control Association 7: 69-72.  
 MONTADA, D.; RODRÍGUEZ, M.; SUÁREZ, S.; SÁNCHEZ, D.; LEYVA, M. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de la Habana, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical 57 (2): 137-142.  
 MOUCHET, J. 1967. La resistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* et les espèces voisines. Bulletin World Health Organization (WHO) 36: 569-577.  
 PÉREZ, E. E.; FERNÁNDEZ, M. D. 2001. Resistance of *A. aegypti* to pyrethroides in municipalities of Aragua state, Venezuela. In Clark, G., Quiroz M.H. Mosquito Control and Biology in Latin America- AN Eleventh Symposium. Journal of the American Mosquito Control Association 17 (3): 166-180.  
 QUATERMAN, K. D.; SCHOOF, H. F. 1958. The status of insecticide resistance in

- arthropods of public health importance in 1956. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 7: 74-83.
- RAWLINS, S. C. 1998. Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. *Revista Panamericana American Journal Public Health* 4: 243-251.
- RAWLINS, S. C.; RAGOONANSINGH, R. 1990. Comparative organophosphorus insecticide susceptibility in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorhynchites moctezuma*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 6: 315-319.
- RAYMOND, M. 1985. Presentation d' un programme d' analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom série *Entomologie médicale et Parasitologie* 23 (2): 117-121.
- RODRÍGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; MILA, L.; CALVO, E.; DÍAZ, C.; SOCA, L. A. 1999. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 51: 83-88.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Unpublished document. WHO/VBC. 81.807. 6 p.

Recibido: 03-abr-06 • Aceptado: 13-jun-06

## Nota científica

# Estudio de los flebotómicos (Diptera: Psychodidae) antropofílicos de la Serranía de La Macarena, Colombia

Survey of the anthropophilic phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of the Serranía de La Macarena, Colombia

EDUAR ELÍAS BEJARANO<sup>1</sup>, PATRICIA DUQUE<sup>2</sup>, IVÁN DARÍO VÉLEZ<sup>3</sup>

**Resumen.** Se presenta un estudio preliminar de los flebotómicos antropofílicos de la Serranía de La Macarena, Colombia. Aunque la leishmaniasis es endémica en la región, es escaso el conocimiento sobre la fauna flebotómica que ésta alberga. Los insectos se coleccionaron en julio y diciembre usando un aspirador bucal mientras intentaban picar al humano entre las 18:00 y las 22:00 horas. Se identificaron diez especies de *Lutzomyia* entre 89 especímenes hembras capturados: *L. ayrozai*, *L. davisii*, *L. hirsuta hirsuta*, *L. carrerai carrerai*, *L. lichyi*, *L. amazonensis*, *L. sp. serie squamiventris*, *L. yuilli*, *L. shawi*, y *L. sp. serie townsendi*. El subgénero *Psychodopygus* fue el más abundante con seis especies que sumaron el 79,8% de los flebotómicos colectados, seguido por *Nyssomyia* con dos especies que aportaron el 16,9% de las capturas. El grupo *verrucarum* y el subgénero *Lutzomyia* estuvieron representados por una especie cada uno. Finalmente, se revisan de forma breve los antecedentes vectoriales de las especies encontradas.

**Palabras clave:** Phlebotominae. *Lutzomyia*. *Leishmania*. Leishmaniasis.

**Abstract.** A preliminary survey of the anthropophilic sand fly fauna of the Serranía de La Macarena, Colombia, is presented. Although leishmaniasis is endemic in the region, the vectors of the disease are yet unknown. Insects were collected in July and December using a mouth aspirator while they tried to bite humans between 18:00 and 22:00 hours. Ten species of *Lutzomyia* sand flies were identified from 89 female specimens collected: *L. ayrozai*, *L. davisii*, *L. hirsuta hirsuta*, *L. carrerai carrerai*, *L. lichyi*, *L. amazonensis*, *L. sp. serie squamiventris*, *L. yuilli*, *L. shawi*, and *L. sp. serie townsendi*. The subgenus *Psychodopygus* was most abundant, with six species that comprised 79.8% of all sand flies collected, followed by *Nyssomyia* with two species that constituted 16.9% of total captures. The *verrucarum* group and the subgenus *Lutzomyia* were each represented by one species. Finally, the epidemiological background of the species encountered are briefly reviewed.

**Key words:** Phlebotominae. *Lutzomyia*. *Leishmania*. Leishmaniasis.

## Introducción

Las leishmaniasis son un complejo de enfermedades producidas por diferentes especies de *Leishmania* Ross, 1903 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), las cuales pueden alojarse en la piel, las mucosas o las vísceras de algunos mamíferos (Lainson y Shaw 2005). Los parásitos causantes de la enfermedad desarrollan parte de su ciclo de vida en pequeños insectos flebotómicos de los géneros *Lutzomyia* França, 1924, y *Phlebotomus* Rondani y Berté, 1840, que luego los transmiten no sólo al humano, sino también a otros huéspedes

vertebrados, por picadura durante la ingesta sanguínea.

El primer registro de la presencia de flebotómicos en Colombia lo realizó Antunes (1937), con especímenes colectados en el municipio de Restrepo, departamento del Meta. Desde esa fecha se han registrado 140 especies de *Lutzomyia* en el territorio nacional (Bejarano 2006), la mitad de las cuales parece exhibir hábitos antropofílicos (Montoya-Lerma y Ferro 1999), comportamiento que constituye uno de los criterios esenciales para la incriminación de un flebotómico como transmisor de leishmaniasis al hu-

mano. La mayoría de los estudios vectoriales, se han desarrollado en focos de leishmaniasis de la Costa Atlántica, Costa Pacífica, Región Andina, valle del río Magdalena y Santanderes, siendo aún escaso el conocimiento sobre la fauna presente en la Orinoquia y Amazonia colombiana.

Durante el año 2004 se registraron 244 casos de leishmaniasis cutánea en el departamento del Meta (Vera *et al.* 2005), lo que representa un aumento del 92% en comparación con el número de casos registrados en 2003, sin incluir los casos en el personal de las Fuerzas Militares de

1 Autor para correspondencia: M. Sc. Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre. Carrera 14 No. 16 B-32, Sincelejo, Colombia. E-mail: [eduardelias@yahoo.com](mailto:eduardelias@yahoo.com)

2 M. Sc. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia. Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia. E-mail: [pduque@matematicas.udea.edu.co](mailto:pduque@matematicas.udea.edu.co)

3 Ph. D. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia. Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia. E-mail: [id\\_vez@yahoo.com](mailto:id_vez@yahoo.com)

Colombia, ocurridos principalmente, en inmediaciones de la Serranía de La Macarena. Este artículo revela la lista preliminar de las especies de flebotomíneos que pican al humano en la región.

### Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el Municipio de La Macarena, departamento del Meta, Colombia, ubicado a 02°11'N, 73°47' W. Su clasificación ecológica corresponde a bosque húmedo tropical (bh-T), presentando una temperatura y precipitación promedio anual de 27°C y 2.399 mm, respectivamente (IGAC 1996). Este municipio forma parte de la Serranía de La Macarena, que es uno de los ecosistemas más ricos en especies del planeta al reunir elementos de la fauna andina, amazónica y orinoquense. La serranía es la formación geológica más antigua de Colombia, por lo tanto se considera que los organismos que la habitan tienen una larga historia evolutiva, que ha producido especies endémicas adaptadas a las particulares condiciones de su geografía (Mejía 1995).

Las recolecciones se realizaron entre las 18:00 y las 22:00 horas durante tres días en los meses de julio y diciembre empleando dos personas como cebo. Los flebotomíneos se capturaron con un aspirador bucal mientras intentaban picar al humano dentro de un bosque. Posteriormente, éstos se aclararon en una solución de lactofenol (ácido láctico/fenol, en proporción 1:1) y se fijaron sobre láminas portaobjeto usando bálsamo de Canadá. Para la determinación de especie se utilizaron las claves taxonómicas de Galati (2003) y Young y Duncan (1994), siguiendo el esquema de clasificación propuesto por los últimos autores.

### Resultados

Se identificaron diez especies del género *Lutzomyia* de 89 especímenes hembras recolectados. Numéricamente, éstos estuvieron distribuidos de la siguiente forma: 26 de *L. (Psychodopygus) sp. serie squamiventris*; 18 de *L. (Psychodopygus) ayrozai* (Barretto y Coutinho, 1940); 14 de *L. (Psychodopygus) davisii* (Root, 1934); 10 de *L. (Psychodopygus) hirsuta hirsuta* (Mangabeira, 1942); ocho de *L. (Nyssomyia) yuilli* Young y Porter, 1972; siete de *L. (Nyssomyia) shawi* Fraiha, Ward y Ready, 1981; dos de *L. (Psychodopygus) carrerai carrerai* (Barretto, 1946), dos de *L. (Lutzomyia) lichyi* (Floch y Abonnenc, 1950); uno de *L. (Psychodopygus) amazonensis*

(Root, 1934); y uno de *L. (grupo verrucarum) sp. serie townsendi*. El subgénero *Psychodopygus* Mangabeira, 1941, fue el más abundante con seis especies que sumaron el 79,8% de los flebotomíneos colectados, seguido por *Nyssomyia* Barretto, 1962, con dos especies que aportaron el 16,9% de las capturas. Por su parte, el grupo *verrucarum* Theodor, 1965, y el subgénero *Lutzomyia* estuvieron representados por una especie cada uno.

### Discusión y Conclusiones

Aunque la Serranía de La Macarena es una zona endémica de leishmaniasis, se desconocían las especies de *Lutzomyia* que pican humanos en la región. El presente estudio permite tener una aproximación inicial que revela la presencia de un considerable número de especies antropofílicas a pesar de las limitadas horas de muestreo. Más aún, es probable que la composición de especies de la región sea mayor, lo cual podría detectarse con otros métodos de captura. Entre los flebotomíneos colectados sobresalen los pertenecientes al subgénero *Psychodopygus*, tanto por su abundancia como por su diversidad. Las especies de este subgénero exhiben una marcada tendencia antropofílica (Young y Duncan 1994), poseyendo antecedentes vectoriales en varias regiones del Neotrópico, particularmente en la Amazonia, donde algunas especies de la serie *squamiventris* participan en la transmisión de *Leishmania* spp. (Alexander 1999). Las hembras de la serie citada son morfológicamente indistinguibles, mostrando un conducto espermatecal individual con estrias tipo "espina de pescado", una espermateca de menor longitud que el conducto individual y un conducto común completamente liso. En Colombia se han registrado dos especies de la serie *squamiventris*, *Lu. chagasi* (Costa Lima, 1941) y *Lu. fairtigi* Martins, 1970 (Montoya-Lerma y Ferro 1999), la última de las cuales fue descrita originalmente con especímenes colectados en Villavicencio, departamento del Meta. Aparte de eso, se halló en el país con flagelados no identificados (Alexander 1999).

La segunda especie más abundante fue *Lu. ayrozai*, considerada en Brasil como un probable transmisor de *Le. (Viannia) naiffi* Lainson y Shaw, 1989, entre armadillos, por haberse encontrado infectada con este parásito que causa, ocasionalmente, lesiones ulcerativas en humanos (Naiff *et al.* 1991; Arias *et al.* 1985). A *Lu. davisii* se le reconoce como un vector potencial

de *Le. (V.) braziliensis* (Vianna, 1911) y *Le. naiffi* en Brasil, habiéndose hallado infectada con ambos patógenos en la naturaleza (Gil *et al.* 2003; Grimaldi *et al.* 1991). De igual forma, parásitos del complejo *Le. braziliensis* se aislaron de especímenes de *Lu. hirsuta hirsuta* en ese mismo país (Rangel *et al.* 1985; Ryan *et al.* 1987a). *Lu. carrerai carrerai* es otro de los vectores de *Le. braziliensis* en Brasil y Bolivia (Le Pont *et al.* 1988; Grimaldi *et al.* 1989), el cual tiene además la capacidad de transmitir parásitos de *Le. (Le.) amazonensis* Lainson y Shaw, 1972, a hámster mediante picadura (Ryan *et al.* 1987b).

Las dos especies del subgénero *Nyssomyia* encontradas durante el estudio, también revisten importancia en salud pública. Es importante señalar que desde el punto de vista filogenético, este subgénero se encuentra estrechamente relacionado con *Psychodopygus*, presentando un característico comportamiento antropofílico que podría derivarse de su ancestría común. *Lutzomyia yuilli* se halló infectada de forma natural con *Le. (V.) panamensis* Lainson y Shaw, 1972, en el departamento de Boyacá, Colombia, mientras que *Lu. shawi* se encontró con parásitos de *Leishmania* sp. en Brasil (Santamaría *et al.* 2004; Ryan *et al.* 1987a). Además de esto, se ha comprobado que *Lu. yuilli* es capaz de tolerar el desarrollo de *Le. (Le.) forattinii* Yoshida, Cuba-Cuba, Pacheco, Cupolillo, Tavares, Machado, Momen y Grimaldi, 1993, en condiciones de laboratorio (Barretto *et al.* 1986). Por otro lado, la recolección de una hembra perteneciente a la serie *townsendi* del grupo *verrucarum* constituye el primer registro de una especie de dicha serie para el departamento del Meta. Desde una perspectiva biogeográfica, este último hallazgo es interesante si se tiene en cuenta que la serie *townsendi* está asociada, principalmente, a zonas cafeteras de Los Andes colombo-venezolanos. Dentro de esta serie varias especies poseen relevancia epidemiológica como vectores comprobados o sospechosos de *Leishmania* spp. (Bejarano *et al.* 2003).

Se necesitan llevar a cabo más investigaciones para la identificación de los flebotomíneos que transmiten la leishmaniasis en la Serranía de La Macarena. Los resultados del presente trabajo permiten sugerir a las especies pertenecientes a los subgéneros *Psychodopygus* y *Nyssomyia*, como candidatos para estudios de incriminación vectorial en la zona, tanto por sus hábitos antropofílicos como por sus historias epidemiológicas.

## Literatura citada

- ALEXANDER, B. 1999. Tatuquiras of the Terra Firme: ecological and public health significance of the subgenus *Lutzomyia* (*Psychodopygus*) Mangabeira, 1941. p. 519-542. En: Burger, J. F. (ed.). Contributions to the knowledge of Diptera. Memoirs on entomology, International, Volume 14. Associated Publishers. Gainesville, Florida, USA. 648 p.
- ANTUNES, P. C. A. 1937. Informe sobre una investigación entomológica realizada en Colombia. Revista Facultad de Medicina de Bogotá 6: 365-387.
- ARIAS, J. R.; MILES, M. A.; NAIFF, R. D.; POVOA, M. M.; DE FREITAS, R. A.; BIANCARDI, C. B.; CASTELLON, E. G. 1985. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 34 (6): 1098-1108.
- BARRETTO, A. C.; VEXENAT, J. A.; PETERSON, N. E. 1986. The susceptibility of wild caught sand flies to infection by a subspecies of *Leishmania mexicana* isolated from *Proechimys iheringi denigratus* (Rodentia, Echimyidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 81 (2): 235-236.
- BEJARANO, E. E. 2006. Lista actualizada de los psicódidos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. Folia Entomológica Mexicana 45 (1): 47-56.
- BEJARANO, E. E.; ROJAS, W.; URIBE, S.; VÉLEZ, I. D. 2003. Sistemática de especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum* Theodor, 1965 (Diptera: Psychodidae). Biomédica 23 (1): 87-102.
- GALATI, E. A. B. 2003. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. p. 53-175. En: Rangel, E. F.; Lainson, R. (eds.). Flebotomíneos do Brasil. Editora Fiocruz, Rio do Janeiro, Brasil. 368 p.
- GIL, L. H. S.; BASANO, S. A.; SOUZA, A. A.; SILVA, M. G. S.; BARATA, I.; ISHIKAWA, E. A.; CAMARGO, L. M. A.; SHAW, J. J. 2003. Recent observations on the sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the State of Rondônia, Western Amazônia, Brazil: the importance of *Psychodopygus davisi* as a vector of zoonotic cutaneous leishmaniasis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 98 (6): 751-755.
- GRIMALDI, G. Jr.; TESH, R. B.; MCMAHON-PRATT, D. 1989. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 41 (6): 687-725.
- GRIMALDI, G. Jr.; MOMEN, H.; NAIFF, R. D.; MCMAHON-PRATT, D.; BARRETT, T. V. 1991. Characterization and classification of leishmanial parasites from humans, wild mammals, and sand flies in the Amazon region of Brazil. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 44 (6): 645-661.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI - IGAC. 1996. Diccionario Geográfico de Colombia. Tercera edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Santafé de Bogotá, Colombia. 2504 p.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. 2005. New World leishmaniasis. p. 313-349. En: Cox, F. E. G.; Wakelin, D.; Gillespie, S. H.; Despommier, D. (eds.). Parasitology. Volume 6. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th Edition. Hodder Arnold, Londres, Reino Unido. 883 p.
- LE PONT, F.; BRENIERE, R. S.; MOUCHET, J.; DESJEUX, P. 1988. Leishmaniose en Bolivie. III. *Psychodopygus carrerai carrerai* (Barretto, 1946) nouveau vecteur de *Leishmania braziliensis braziliensis* en milieu sylvatique de région subandine basse. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie, 307 (5): 279-282.
- MEJÍA, C. A. 1995. Fauna de la Serranía de La Macarena. Ediciones Uniandes y Amazonas Editores Ltda., Santafé de Bogotá, Colombia. 176 p.
- MONTOYA-LERMA, J.; FERRO, C. 1999. Flebotomos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. p. 211-245. En: Amat, G.; Andrade-C., G.; Fernández, F. (eds.). Insectos de Colombia. Volumen II. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No. 13. Editora Guadalupe Ltda., Santafé de Bogotá, Colombia. 492 p.
- NAIFF, R. D.; FREITAS, R. A.; NAIFF, M. F.; ARIAS, J. R.; BARRETT, T. V.; MOMEN, H.; GRIMALDI, G. Jr. 1991. Epidemiological and nosological aspects of *Leishmania naiffi* Lainson & Shaw, 1989. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 86 (3): 317-321.
- RANGEL, E. F.; RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. 1985. Observations on the sandfly (Diptera: Psychodidae) fauna of Além Paraíba, State of Minas Gerais, Brazil, and the isolation of a parasite of the *Leishmania braziliensis* complex from *Psychodopygus hirsuta hirsuta*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 80 (3): 373-374.
- RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. 1987a. Leishmaniasis in Brazil. XXIV. Natural flagellate infections of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Pará State, with particular reference to the role of *Psychodopygus wellcomei* as the vector of *Leishmania braziliensis braziliensis* in the Serra dos Carajás. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 81 (3): 353-359.
- RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; BRAGA, R. R.; ISHIKAWA, E. A. 1987b. Leishmaniasis in Brazil. XXV. Sandfly vectors of *Leishmania* in Pará State, Brazil. Medical and Veterinary Entomology 1 (4): 383-395.
- SANTAMARÍA, E.; ZIPA, Y.; PONCE, N.; SANDOVAL, A.; FERRO, C. 2004. Determinación de las especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) involucradas en la transmisión de leishmaniasis cutánea en los municipios de Otanche y Pauna, Boyacá. Resúmenes, XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología Socolen. 52 p.
- VERA, M.; GALINDO, F.; ZAMBRANO, P.; MÉNDEZ, J.; BELLO, B.; OLANO, V. 2005. Informe de enfermedades transmitidas por vectores (ETV), 2004. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 10 (3): 33-48.
- YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memoirs of the American Entomological Institute, Number 54. Associated Publishers, Gainesville, Florida, USA. 881 p.



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

### Eumaeini (Lepidoptera: Lycaenidae) del cerro San Antonio: Dinámica de la riqueza y comportamiento de “hilltopping”

Eumaeine butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) from San Antonio hill: Dynamics of species richness and hilltopping behaviour

CARLOS PRIETO<sup>1</sup>, HANS W. DAHNERS<sup>2</sup>

**Resumen.** Se analiza la riqueza de la tribu Eumaeini a escala temporal en la cima del cerro San Antonio al oeste de Cali sobre recolectas efectuadas en 2003. Los especímenes se capturaron con redes entomológicas de 5 m y 1,80 m de longitud en 92 muestreos. Se realizaron curvas de acumulación de especies y análisis de similitud (Jaccard) para comparar 11 meses del año con el programa BiodiversityPro y curvas de rarefacción con EcoSim700. La riqueza de Eumaeini registrada en el cerro asciende a 72 especies distribuidas en 35 géneros. Los estimadores indican que se colectó cerca del 88% de las especies que vuelan en la zona. Al menos 20 especies se distribuyen durante todo el año, tienen poblaciones constantes en San Antonio y utilizan el cerro como lugar de encuentro de pareja. Se asume que al menos 26 especies no presentan el comportamiento de “hilltopping” o sus poblaciones son relativamente bajas en los alrededores del cerro. Los meses de julio y agosto mostraron un gran número de especies aunque los análisis de rarefacción indicaron que no existen diferencias en la riqueza de 11 meses del 2003. La similitud entre los meses es menor del 56% según el análisis de similitud de Jaccard. Los cambios en la riqueza de la comunidad son debidos principalmente al régimen de lluvias y a la mayor o menor influencia del sol sobre la zona. La gran cantidad de especies únicas puede ser debida a individuos que no presentan el comportamiento de “hilltopping” o que provienen de cerros aledaños donde tienen poblaciones grandes y estables.

**Palabras clave:** Cordillera Occidental. Colombia. Biodiversidad. Theclinae. Eumaeínidos.

**Abstract.** Richness of the tribe Eumaeini was analyzed on a temporal scale on San Antonio hill, west of Cali, based on collections made in 2003. Specimens were collected with 5 m and 1.8 m long insect nets in 92 surveys. Species accumulation curves and similarity analysis (Jaccard) were carried out to compare 11 months of the year with BiodiversityPro software and rarefaction curves made with Ecosim700. The richness of Eumaeini recorded on the hill reached 72 species distributed in 32 genera. Estimators indicated that about 88% of the species that fly in the zone were collected. At least 20 species were distributed across the entire year, have constant populations in San Antonio, and use the hill as a site for mate finding. At least 26 species were assumed to not display hilltopping behaviour or their populations were relatively low in the area around the hill. The months of July and August showed a high number of species although the rarefaction analysis indicated that there was no significant differences in richness among the 11 months in 2003. The similarity between the months was less than 56% according to the Jaccard similarity analysis. The changes in community richness were principally due to the rain regime and to the greater or lesser influence of sun in the zone. The great number of unique species could be due to individuals that do not display hilltopping behaviour or to those that come from distant sites that have large and stable populations.

**Key words:** Western cordillera. Colombia. Biodiversity. Theclinae. Eumaeine.

#### Introducción

Los bosques en zonas tropicales son destruidos rápidamente y los organismos dentro de ellos siguen siendo en gran parte, desconocidos. Por esto los estudios modernos sobre la diversidad de especies son cruciales para entender las comunidades tropicales restantes y su conservación (DeVries *et al.* 1999; Gaston 1996; Heywood 1995). El conocimiento de la variación de abundancia de las especies en espacio y tiempo puede ayudar a identificar características ecológicas de la diversidad tropi-

cal, sin embargo se han hecho muy pocos estudios de este tipo (DeVries *et al.* 1999).

Muchas mariposas y otros insectos vuelan hacia las cimas de cerros y montañas como respuesta a la necesidad de encontrar pareja. A este comportamiento se le denomina en inglés como “hilltopping” (Pe'er *et al.* 2004; Alcock 1987; Shields 1967). En muchos aspectos este comportamiento es similar al que presentan algunas aves que forman “leks” incrementando la eficiencia de los encuentros sexuales al reducir el área en la cual pueden ocurrir. Las cimas de cerros y montañas actúan como un foco

para el apareamiento pues estos sitios generalmente no proveen de fuentes alimenticias o plantas hospederas las especies que los visitan (Alcock 1987). Estas cimas pueden tener un área muy pequeña en relación a la cantidad de especies que las utilizan lo que sugiere patrones de actividad diaria o estacional en la ocurrencia y abundancia de estos taxones. De esta manera la coexistencia por repartición del tiempo puede ser posible en grupos de especies relacionadas (Prieto 2006; Gilbert 1984; Gilbert y Singer 1975; Prieto y Dahnners en prep.).

1 Centro Iberoamericano de la Biodiversidad (CIBIO). Universidad de Alicante, España. cprieto5000@yahoo.com

2 Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad del Valle. Cali, Colombia. hdahnners@gmx.de

En el Neotrópico el conocimiento de la composición de comunidades de ropalóceros de cima de montaña es muy escaso. En Colombia algunos trabajos describen hábitos territoriales de especies aisladas (Salazar 1996; Callaghan 1983; Shapiro y Torres 1978; Ackery 1975) o describen la riqueza de especies que frecuentan estos sitios (Prieto 2003; Salazar 1996). Se han registrado especies con comportamiento de "hilltopping" en varias familias de lepidoptera como: Lycaenidae, Nymphalidae, Papilionidae, Pieridae y Hesperidae. Probablemente Lycaenidae es la familia con mayor riqueza de especies en las cimas de cerros y montañas neotropicales.

Los Eumaeini son un grupo cuyo arreglo taxonómico ha estado estancado durante casi 80 años debido principalmente a que la mayoría de las especies son extraordinariamente raras en colecciones. Algunas especies descritas dos siglos atrás permanecen conocidas con menos de 5 individuos (Robbins 2004). Aunque la tribu Eumaeini es Holarctica y Neotropical (Robbins 2004; Eliot 1973) el grupo esta principalmente representado en el Neotrópico donde se han descrito 1058 de las 1130 especies conocidas. Solo en Suramérica se encuentran 910 especies de Eumaeini (Robbins 2004). Colombia, Ecuador, Perú y Brasil presentan la mayor riqueza de esta tribu con más de 500 especies y muchas más por describir en cada país (*op. cit.*). Aunque los Eumaeini se encuentran en un amplio rango de hábitat, presentan un patrón alar muy similar. Como anota Robbins (2004) ésta pudo ser una de las razones por las cuales muchas especies fueron ubicadas en el género "*Thecla*" Fabricius (Draudt 1919-20), género cuya acepción actual nunca estuvo representada en el Neotrópico y que técnicamente se refiere a un pequeño grupo Palártico de Theclini (Eliot 1973). El presente trabajo pretende mostrar la riqueza de Eumaeini en el cerro San Antonio, y analizar la dinámica temporal en la cima de esta montaña.

### Materiales y Métodos

**Área de estudio.** El cerro San Antonio o de La Horqueta se encuentra en la cordillera Occidental, departamento del Valle a 15 kilómetros al occidente de Cali sobre la carretera a Buenaventura y en la divisoria de aguas de las cuencas del río Aguacatal y Dagua. Las coordenadas geográficas del bosque son: 76°38'W y 3°30'N. (Fig. 1). San Antonio forma parte de un sistema de parches de bosques relictuales con un área total de 700 ha, a

elevaciones entre 1.800 y 2.200 m. En la actualidad esta región esta representada por un archipiélago de fragmentos boscosos sobre una matriz de pequeñas granjas y casas de campo. Sin embargo, en la zona los procesos de fragmentación no han sufrido muchos cambios desde la década de los sesenta (Kattan *et al.* 1994; Kattan *et al.* 1984). De acuerdo con Holdridge (1967) el bosque de San Antonio esta clasificado como bosque húmedo montano bajo con una media de temperatura anual entre 15°C y un promedio anual de lluvia de 3.000 mm. Este sistema ha sido estudiado con relativa intensidad durante muchos años, principalmente en grupos de aves, donde se ha demostrado que el 31% de especies del bosque original en 1911 han desaparecido (Kattan *et al.* 1994). Sin embargo no se conocen trabajos intensivos que registren la diversidad real de mariposas en la zona.

**Muestreo e identificación de especímenes.** El lugar específico de muestreo es una colina que constituye la parte más alta de San Antonio a 2.200 msnm. Esta pequeña pronunciación geográfica tiene aproximadamente 70m de altura y 300m de base (Fig. 2). La cima tiene un área aproximada de 200 m<sup>2</sup> (17 m x 12 m) y la altura máxima de la vegetación es de 7,50 m. Una descripción detallada de la zona de muestreo y de los bosques aledaños puede encontrarse en Bálint *et al.* (2003). Se realizaron 92 salidas de campo entre las 9:00 y las 14:00 horas para un total de 5 horas/hombre/Día de recolecta en días con un porcentaje de cobertura de nubes inferior al 40% a lo largo del año 2003. Al no realizar ninguna salida de campo en febrero, este mes no se tuvo en cuenta en los análisis (Tabla 1).

Puesto que los licénidos no son atraídos profusamente por trampas cebadas de

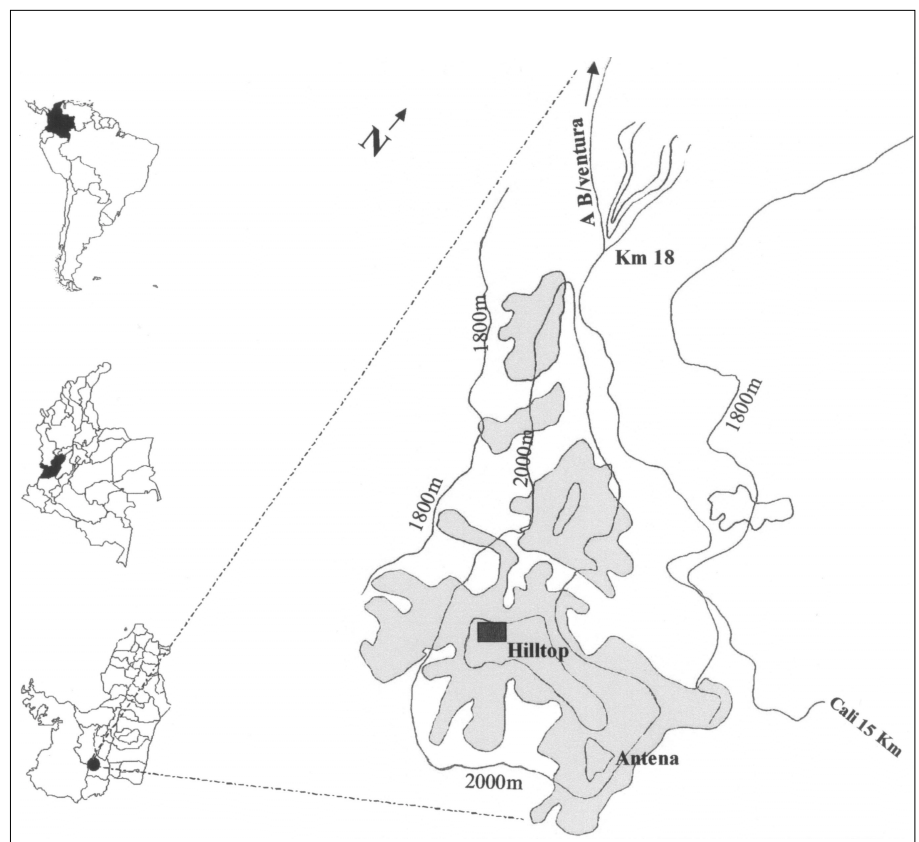


Figura 1. Ubicación de la zona de estudio. (Modificado de Kattan *et al.* 1994).

Tabla 1. Número de especies, especímenes colectados y muestreos por cada mes del año 2003.

2003	Enc.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
Especies	7	17	19	20	25	24	31	20	12	14	15
Especímenes	13	51	52	48	71	95	140	29	24	28	25
Muestreos	4	7	7	9	14	13	14	4	4	9	7



**Figura 2.** Cima del Cerro San Antonio. El rectángulo indica el lugar preciso de muestreo para el análisis de diversidad en el año 2003.

ningún tipo, se recolectaron todos los individuos posibles observados perchedos en las hojas de los árboles con dos redes entomológicas de 5 m de longitud y dos redes de 1,80 m. De la misma forma se efectuaron recolectas esporádicas en el año 2004 para completar la lista de especies. Los especímenes se identificaron con la ayuda de Zsolt Bálint (Museo de Historia Natural, Budapest, Hungría), basados en D'Abbrera (1995) y Beccaloni *et al.* (2003). Se utiliza principalmente el arreglo genérico propuesto por Robbins (2004) aunque en algunos casos se mantienen los géneros propuestos por Kurt Johnson y colaboradores (Johnson *et al.* 1997a; Johnson *et al.* 1997b; Salazar y Johnson 1997; Salazar *et al.* 1997; Johnson 1992). Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Nikon Coolpix 4500 y modificadas en Adobe Photoshop 7.0 para mostrar las dos caras de cada espécimen en una misma imagen.

**Análisis de la riqueza.** Se realizaron curvas de acumulación de especies para determinar la certeza del muestreo utilizando los estimadores no paramétricos que analizan la riqueza específica mas ampliamente utilizados: Chao2, el cual requiere solo datos de presencia y ausencia y es el que presenta menor sesgo cuando las muestras son pequeñas (Colwell y Coddington 1994); Jackknife 1, que al tener en cuenta las especies únicas tiende a reducir el sesgo de los valores estimados; Jackknife 2, se basa en el número de espe-

cies que ocurren solamente en una muestra y en el número de especies que ocurren exactamente en dos muestras, además del método de Bootstrap.

Se realizó un análisis de similitud (Jaccard) entre los meses con el programa BiodiversityPro. Esta información es representada como un "cluster" creado con el método de Ward (1963) en el programa STATISTICA. Se llevó a cabo un análisis de rarefacción para comparar la diversidad de los meses con muestreos desiguales con el programa EcoSim700 (Gotelli y Entsminger 2001). Para facilitar el análisis de los datos se hizo una analogía con los términos de alfa, beta y gama diversidad propuestas por (Schluter y Ricklefs 1993). En el presente trabajo se tratan como diversidades alfa<sup>1</sup> las riquezas puntuales en cada mes, la diversidad beta<sup>1</sup> como el recambio de especies entre los diferentes meses y la diversidad gama<sup>1</sup> como el total de especies observadas en los 11 meses muestreados. Esta analogía se utiliza como una herramienta metodológica y no refleja el concepto espacial para los que fueron creados los términos alfa (diversidad local), beta (recambio de especies entre localidades) y gama (diversidad regional), por tratarse de un solo punto de muestreo.

Se determinó el grupo de meses que proporciona un mayor número de especies utilizando el algoritmo de complementariedad de especies propuesto por Vane-Wright *et al.* (1991). La complementariedad se entiende como el conjun-

to mínimo de tratamientos (meses) que aseguran la inclusión de todas las especies, independientemente de su frecuencia, y permite identificar que tratamientos son los que aportan más especies al total. Este método se utiliza generalmente para determinar áreas prioritarias en conservación debido a su particular riqueza específica. En este estudio se utilizó para determinar cuales meses del año pondrían ser mas utilizados por las especies para realizar sus actividades de búsqueda de pareja y para centrar el inventario de biodiversidad en meses con alta riqueza específica.

### Resultados del análisis temporal de la riqueza para el año 2003

En el año 2003 se recolectaron 573 especímenes que representaron 60 especies de Eumaeini distribuidas en 35 géneros (Tabla 1 y 2; Figuras 8 y 9). La tabla 2 muestra la lista total de especies, incluyendo las encontradas en los muestreos esporádicos del 2004.

**Diversidad alfa<sup>1</sup>:** El mayor número de especies se registra en los meses de agosto y junio seguidos de julio, mayo y abril (Tabla 1, Fig. 3). Sin embargo las curvas de rarefacción indican que la riqueza es muy similar en los 11 meses y que todas las riquezas entran en el intervalo de confianza del mes con mayor número de especímenes (Fig. 4). Los meses con menor riqueza de especies son enero y octubre.

**Diversidad beta<sup>1</sup>:** La diversidad beta<sup>1</sup> se halló utilizando la fórmula  $B = 1/n$  promedio de muestras ocupadas por una especie (Schluter y Ricklefs 1993), y mostró un valor de  $B^1 = 0.29$ . El análisis de similitud de Jaccard (Fig. 5) muestra un porcentaje de similitud en todo caso menor al 56% y tres grupos de meses, relacionados por su composición de especies, que concuerdan con los meses de lluvia, disminución de lluvias y verano en la zona.

**Diversidad gama<sup>1</sup>:** La diversidad gamma se halló como:  $\gamma^1 = \alpha$  promedio  $\times \beta^1 \times$  Dimensión de la muestra (número de meses en este caso), según Schluter y Ricklefs (1993). La cifra hallada  $\gamma^1 = 59,16$  es muy similar al número total de especies observadas durante todo el año  $S = 60$ . Los estimadores muestran que se ha recolectado cerca de 88% de las especies que se predicen para la zona. Las curvas de acumulación de especies para el periodo de recolecta durante todo el año se muestran en la figura 6.





Continuación Tabla 2.

Especie	Ene	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Abun.
Especies sin identificar												
sp. (1)								■				
sp. (2)			■									
sp. (3)							■					*
sp. (4)									■			*
sp. (5)							■	■		■		**
sp. (6)												*
sp. (7)							■					**
sp. (8)										■		**
sp. (9)			■									**
sp. (10)							■					*
sp. (11)								■				*

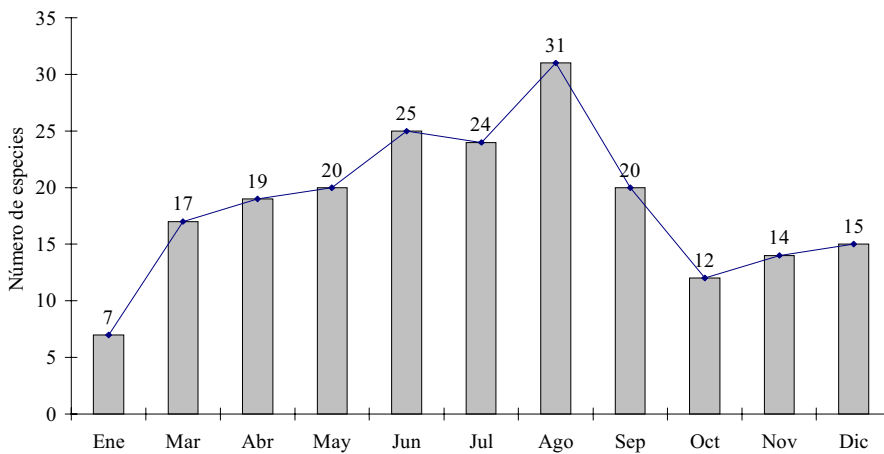


Figura 3. Dinámica de la riqueza de especies a lo largo de 2003.

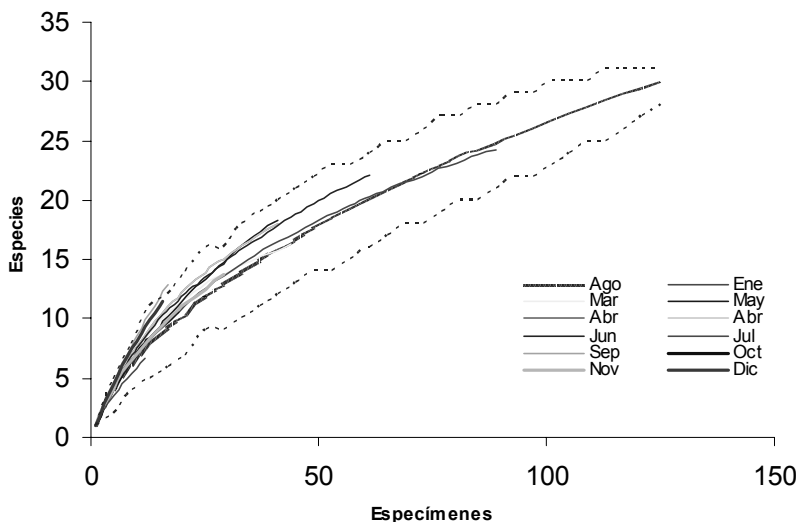


Figura 4. Curvas de rarefacción para cada mes de muestreo en 2003. Las curvas de rarefacción entran en el intervalo de confianza del mes con mayor número de especímenes, indicando que no existen diferencias significativas en la riqueza de los 11 meses.

El algoritmo de complementariedad de especies muestra que los cuatro meses que más especies aportan son agosto, abril, julio y mayo (Tabla 3).

**Discusión**

Las curvas de acumulación de especies indican que para el año 2003 se habían recolectado entre el 77% y el 88% de las especies en la zona, es decir 60 de las 77 que predice Jackknife2 o 60 de las 68 que predice Bootstrap. Los muestreos realizados en 2004 añadieron 12 especies más al inventario para un total de 72 especies. Lo que demuestra la increíble riqueza de Eumaeini que puede reunir una cima de montaña en zonas tropicales. Aunque la riqueza de Eumaeini en San Antonio es alta, es muy probable que cerros a altitudes similares y con bosques bien preservados, presenten riquezas similares. Especialmente “El Faro” (muestreado intensamente por el segundo autor) y el cerro “Brisas”, ambos en la cordillera Occidental en el municipio de Cali, han mostrado riquezas de más de 90 y más de 40 especies de Eumaeini respectivamente.

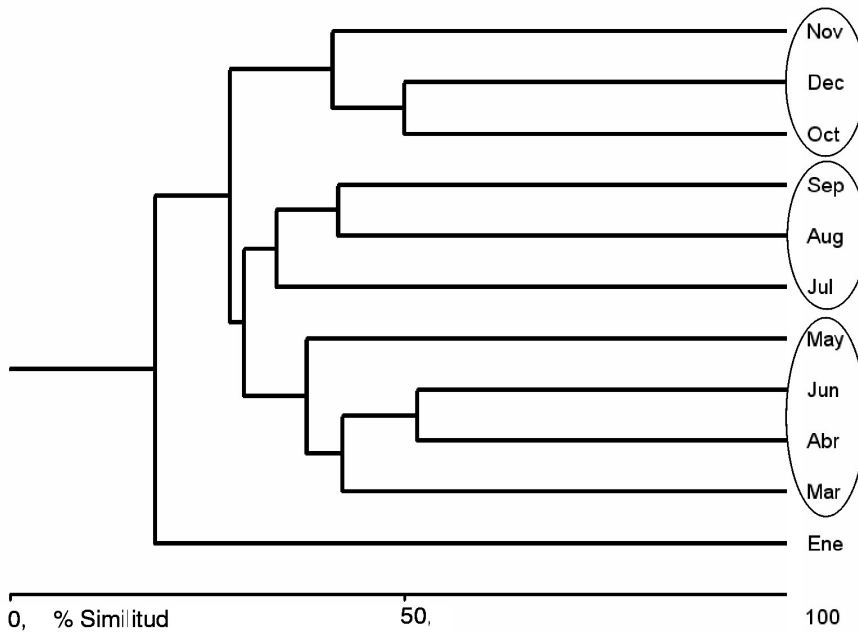
Además la coexistencia y utilización de este recurso (la cima), en un área tan pequeña para el encuentro de parejas sexuales por un gran número de especies, puede ser reforzada por segregaciones espacio-temporales; especialmente a una distribución vertical y horizontal de las mariposas perchadas sobre la vegetación (Prieto 2006; Prieto en prep.).

La gran cantidad de especies que se recolectaron en un solo mes del año (Fig. 7) puede ser debida, en gran medida, a la visita esporádica y aleatoria de individuos únicos que no presentan el comportamiento de “hilltopping” o que no poseen po-

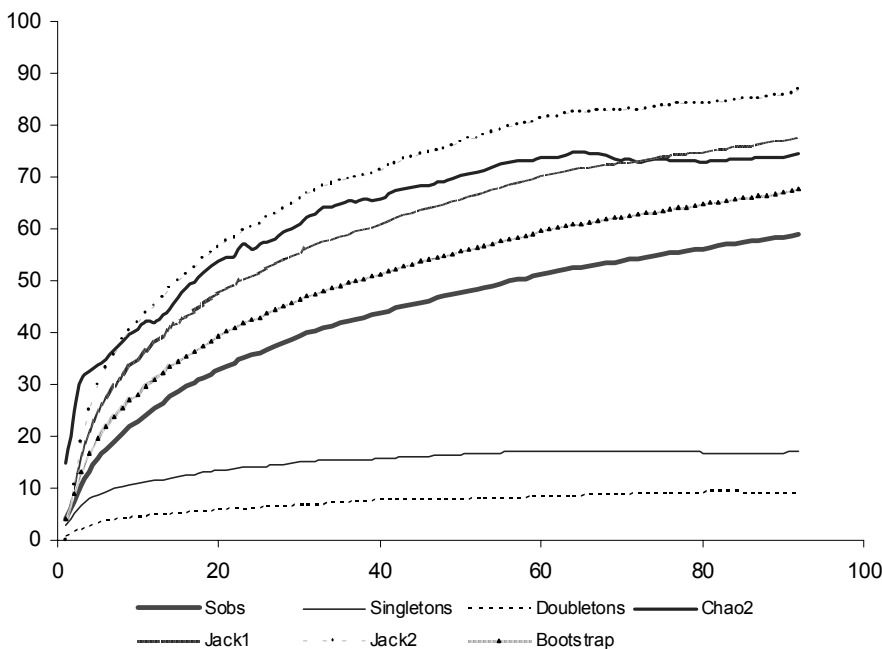
**Tabla 3.** Especies aportadas por cada mes de muestreo y especies acumuladas para 11 meses del 2003 en el cerro San Antonio según el algoritmo de complementariedad de especies propuesto por Vane-Wright *et al.* (1991)\*.

Iteración	Mes	Especies aportadas	Especies acumuladas
1	Ago	30	30
2	Abr	10	40
3	Jul	8	48
4	May	5	53
5	Ene	2	55
6	Mar	1	56
7	Jun	1	57
8	Sep	1	58
9	Oct	1	59
10	Nov	1	60

\* El mes 11 no aportó especies nuevas al estudio.



**Figura 5.** Dendrograma de similitud según el índice de Jaccard para 2003.

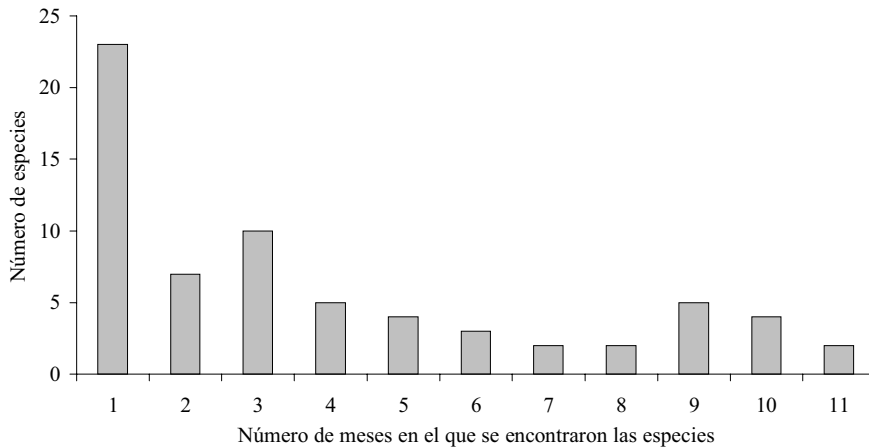


**Figura 6.** Curvas de acumulación de especies en los muestreos realizados para el 2003.

blaciones estables y abundantes en los bosques de San Antonio. Establecer un periodo fijo de estudio para determinar la diversidad es muy importante en una zona como ésta, porque un periodo de tiempo indeterminado podría ampliar la diversidad a escala regional, máxime cuando a solo 10 kilómetros de San Antonio existe el Parque Natural Farallones de Cali, con más de 150.000 hectáreas de bosque en muy buen estado. Un periodo de un año es suficiente para acercarse a la diversidad de especies que utilizan la cima o que vuelan en los bosques aledaños.

Existe una gran dificultad en deducir la preferencia de un recurso (la cima de montaña) del uso de un recurso (Singer y Thomas 1992; Singer *et al.* 1989). Una gran cantidad de especies pueden utilizar el recurso sin preferirlo, por varias razones como depredación, densidad poblacional o por simple casualidad. Cualquier factor puede estar afectando la distribución espacial de los individuos y puede, de esta manera, afectar el uso de los recursos independientemente de la preferencia (Singer y Thomas 1992). Por esta razón es muy posible que no todas las especies que se encuentren regular o esporádicamente en las cimas presenten el comportamiento de “Hilltopping” como fue descrito por Shield (1967) “un fenómeno en el cual los machos y hembras instintivamente buscan una cumbre geográfica para el encuentro”. La fauna de Eumaeini que utiliza la cima del cerro San Antonio y mantiene poblaciones estables en sus bosques oscila entre 20 y 30 especies. Estas especies particularmente presentan comportamientos territoriales tenaces a la vez que se posan o patrullan constantemente en un área pequeña sobre la cima, además su presencia es mensual y constante.

Es muy probable que durante los meses más calurosos y soleados de junio a septiembre aparezcan esporádicamente algunos individuos de especies que son abundantes en cerros de zonas más bajas (muestreados intensivamente por los autores en la actualidad) como *Brangas coccineifrons*, *Atlides polybe* y *Ocaria aholiba*. Las especies *Atlides browni*, *Atlides dahnersi*, *Aveexcrenota anna*, *Aubergina hesychia*, *Brangas caranus*, *Cyanophrys pseudolongula*, *Brevianta tolmides*, *Erora n. sp.*, *Lamprospilus nicetus*, *Theritas paupera*, *Ministrymon azia*, y *Rhamma bilix*, entre otras tienen una distribución a lo largo de todo el año, presentan poblaciones abundantes y comportamientos territoriales y de oteo



**Figura 7.** Frecuencia de la distribución de las especies. Nótese que 23 especies estuvieron presentes en solo un mes de muestreo, mientras que solo dos estuvieron presentes en los 11 meses muestreados.

por lo que utilizan el cerro de manera regular como lugar de encuentro de pareja. Especies como *Ocaria aholiba*, *Brangas coccineifrons*, *Brevianta undulata*, *Marachina maraches*, *Hypostrymon asa*, *Panthiades paphlagon*, *Strymon bubastus*, *Timaeta eronos*, *Timaeta trochus*, estuvieron representadas por un solo individuo lo cual indica que son especies regularmente ajenas a la cima o que no hacen "Hilltopping".

El período entre junio y agosto presenta una riqueza de especies superior a los otros meses a la vez que enero y octubre muestran las riquezas más bajas (Fig. 3). Sin embargo las curvas de rarefacción indican que no existirían diferencias en las riquezas de los 11 meses si se hubiese muestreado con la misma intensidad. Estas diferencias en la riqueza pueden deberse a factores en el muestreo como un mayor número de especímenes recolectados y a la gran cantidad de muestreos que coinciden con la disminución de lluvias en la zona, lo que proporcionó más y mejores días de colecta en los meses de junio, julio y agosto. De esta manera, aunque podría existir una fluctuación mensual en la riqueza de especies sobre la cima, debido a factores biológicos, asumimos que la dinámica observada (Fig. 3) se debe principalmente a las condiciones del clima; especialmente a la gran cantidad de horas de sol durante los días de julio y agosto que determina la afluencia de individuos en este lugar. En cerros de naturaleza rocosa como el estudiado por Salazar (1996) los veranos intensos y los meses secos pueden disminuir la diversidad de especies que visitan la cima, sin embargo en montañas con abundante cobertura vegetal como San Antonio, la diversidad aumenta a medida que el verano transcurre.

El dendrograma de similitud (Fig. 5) permite diferenciar tres grupos, de acuerdo a la composición de especies, que concuerdan con las épocas de lluvias (octubre a diciembre), disminución de lluvias (marzo a junio) y verano (julio a septiembre). Puesto que la temperatura corporal en mariposas de pequeño tamaño puede cambiar drásticamente entre 30 a 60 segundos después de un cambio en la temperatura ambiental (Kingsolver 1985) la incapacidad para volar por causa del clima puede ser un importante componente de la mortalidad y la fecundidad de los individuos. Por esta razón el clima está estrechamente relacionado con la dinámica de las poblaciones de mariposas (Kingsolver 1985; Dempster 1983). De esta manera algunas especies pueden tener mecanismos de termorregulación más efectivos que otras y ser más frecuentes en épocas lluviosas y nubladas. Además la disminución del tamaño poblacional, debido a factores climáticos, afecta la probabilidad de encontrar individuos de determinada especie en un muestreo y esto se traduce en diferencias en la composición de la comunidad a través del tiempo. Al utilizar el algoritmo de complementariedad de Vane-Wright *et al.* (1991), se aprecia que los meses que mayor número de especies aportan al muestreo son agosto, abril, julio y mayo. Estos cuatro meses de nuevo concuerdan con las épocas de verano y poca pluviosidad en la zona de estudio. Los meses más lluviosos como octubre, noviembre y diciembre aportaron solo una especie al inventario (Tabla 3).

Los factores temporales son importantes componentes de la diversidad biológica, desafortunadamente sus efectos sobre la diversidad en comunidades de mariposas tropicales se han tratado directamente muy pocas veces (DeVries *et al.* 1999). Por esta

razón el índice de diversidad beta<sup>1</sup> utilizado en este estudio ( $B = 0.29$ ) y deducido de la fórmula de Schluter y Ricklefs (1993) para análisis de diversidad en la dimensión espacial puede ser de mucha utilidad para comparar la dinámica de riquezas a través del tiempo en diferentes sitios de muestreo. De esta manera se obtienen cifras precisas de recambio de especies en dimensiones temporales que luego pueden ser comparadas con las cifras de otras localidades. De la misma manera pueden ser tratadas las diversidades alfa y gama en la dimensión temporal.

### Implicaciones para la conservación

En Colombia más del 85% del área en bosques premontanos y montanos ha sido modificada con alguna extensión, con el resultado de que en muchas regiones los remanentes de vegetación natural son aislados en parches (Kattan *et al.* 1994; Kattan *et al.* 1984; Orejuela 1985) que quedan situados hacia las cumbres de los cerros afectados. Este retroceso de la vegetación hacia las partes altas, que generalmente se encuentran menos intervenidas, como es el caso de San Antonio, acentúa la importancia de sitios de encuentro únicos en las cumbres de estos bosques.

Los hábitats de cima de montaña son principalmente deteriorados por la construcción de complejos de transmisión o antenas de comunicación y sus edificios asociados. Esto se traduce en la pérdida de puntos claves para el encuentro de pareja en mariposas y eventualmente puede llevar a la extinción de especies a escala local.

La importancia de estos sitios de encuentro no es proporcional a su tamaño, de modo que un área pequeña puede ser vital para la supervivencia de una o varias especies. Además, los cambios pequeños en el aspecto de un sitio pueden dar lugar a que los machos no lo reconozcan como lugar conveniente (Baugman y Murphy 1988). De esta manera es posible que en ausencia de cimas de montaña adecuadas, algunas mariposas puedan desaparecer de una región. El conocimiento de la distribución, riqueza y abundancia de las comunidades que utilizan las cimas es de vital importancia en el momento de emprender estrategias de conservación en cualquier región. Además, este conocimiento puede ayudar a disminuir el impacto de la construcción de complejos de comunicación dando pautas sobre ubicaciones geográficas con mayor o menor importancia en la conservación de estas comunidades.



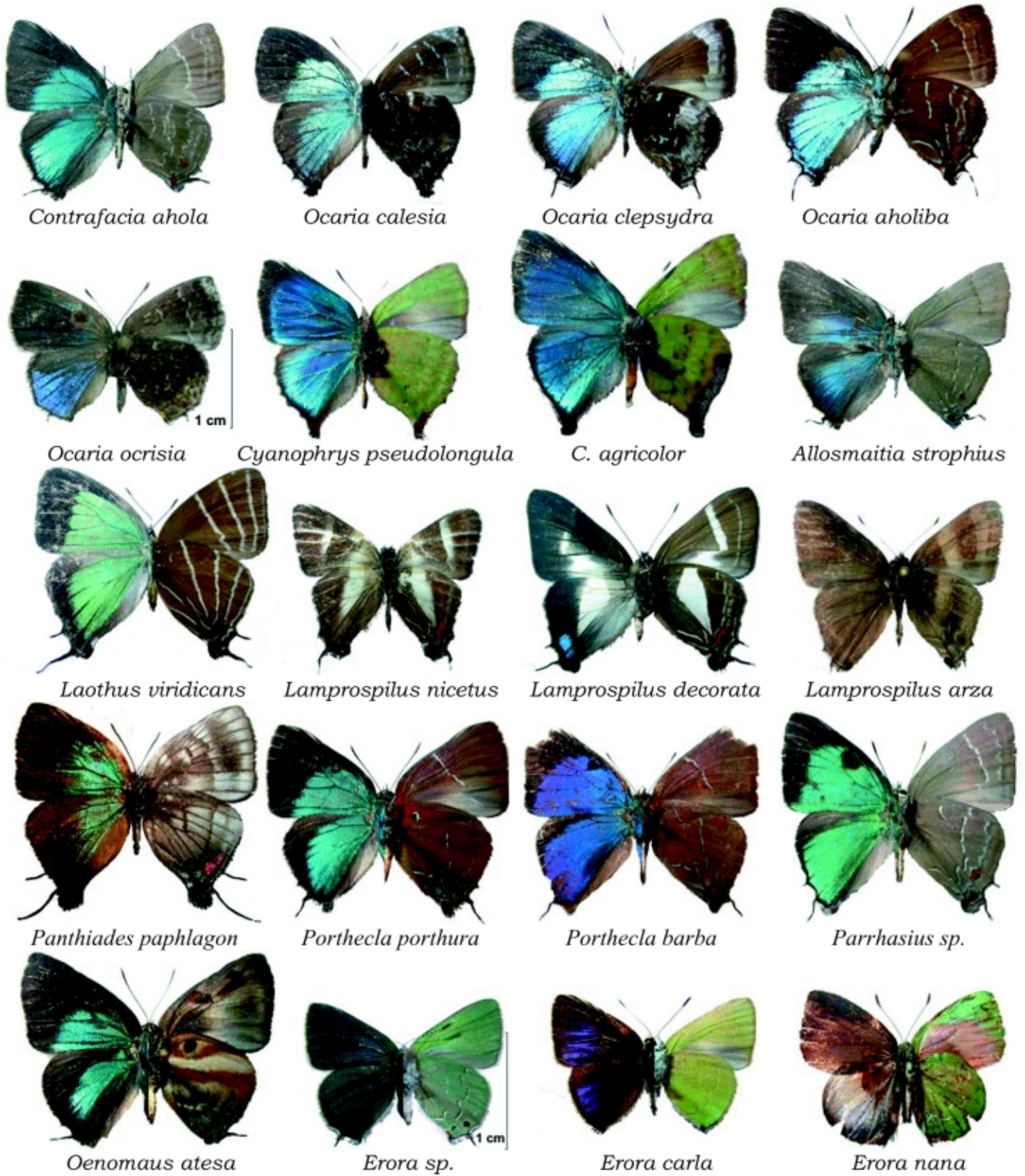


Figura 8. Algunas especies interesantes de los géneros *Contrafacia* a *Erora* que ocurren en San Antonio.

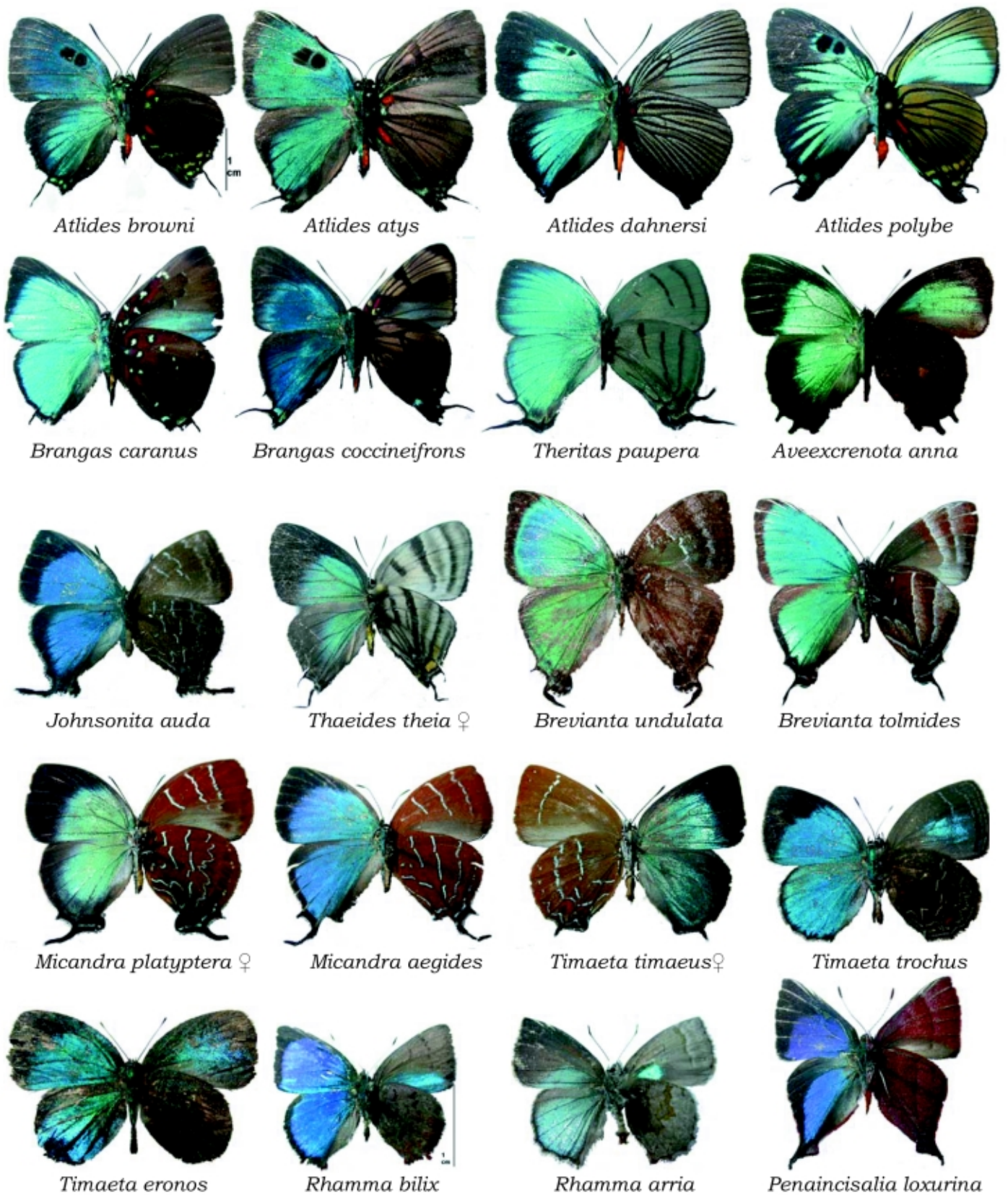


Figura 9. Algunas especies interesantes de los géneros *Atlides* a *Penaincisalia* que ocurren en San Antonio.

## Conclusiones

Aunque existe un mayor número de especies entre junio y agosto, la rarefacción indica que no existen diferencias en la riqueza de los 11 meses muestreados en 2003 y las fluctuaciones son debidas principalmente a un mayor o menor número de horas de sol que permiten una gran afluencia de mariposas en la cima y mejores días de captura.

Existen tres grupos de meses que son muy similares en cuanto a su composición de especies, estos grupos concuerdan con las temporadas de lluvias, disminución de lluvias y verano en la zona. Por esta razón la composición de la comunidad a lo largo del año varía principalmente de acuerdo al régimen de lluvias.

Las curvas de acumulación de especies predicen entre 68 y 77 especies para la zona en los muestreos realizados para el año 2003. A octubre de 2004, 72 especies han sido registradas para la zona. La gran cantidad de taxones con un solo individuo pueden ser especies ocasionales provenientes de otros cerros o que no utilizan la cima regularmente. Por lo menos 20 de las 72 especies se distribuyen durante todo el año, tienen poblaciones constantes en San Antonio y utilizan el cerro como lugar de encuentro de pareja.

## Agradecimientos

Los autores expresan sinceros agradecimientos a Zsolt Bálint (Museo de Historia Natural, Budapest, Hungría) por la ayuda en la identificación de especímenes, Julián Salazar (Museo de Historia Natural, Universidad de Caldas, Manizales) y Luís Miguel Constantino (Cali, Colombia) por la corroboración de especies, a Gonzalo Halffter (Xalapa, México), Catherine Numa y José Ramón Verdú (CIBIO, Alicante, España) por sus comentarios en el análisis de diversidad. IDEA WILD aportó parte del equipo de campo utilizado en este estudio. A Carmen Elisa Posso y a todo el equipo del Museo de Entomología de la Universidad del Valle por facilitarnos un cómodo espacio de trabajo en sus laboratorios.

## Literatura citada

- ACKERY, P. R. 1975. A new Pierine genus and species with notes on the genus *Tatochila* (Lepidoptera: Pieridae). Bulletin of the Allyn Museum 30: 1-9.
- ALCOCK, J. 1987. Leks and hilltopping in insects. Journal of Natural History 21: 319-328.
- BÁLINT, Zs.; CONSTANTINO, L. M.; JOHNSON, K. 2003. *Atlides dahnersi* sp. n. from Colombia, (Lepidoptera: Lycaenidae). Folia Entomologica Hungarica 64: 251-266.
- BAUGHMAN, J. F.; MURPHY, D. D. 1988. What constitutes a hill to a hilltopping butterfly? American Midland Naturalist 120: 441-443.
- BECCALONI, G. W., SCOBLE, M. J., ROBINSON, G. S.; PITKIN, B. (eds.). 2003. The Global Lepidoptera Names Index (LepIndex). World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/entomology/lepindex> Fecha última revisión: 12 Octubre 2004. Fecha último acceso: 16 Noviembre 2004.
- CALLAGHAN, C. J. 1983. A study of isolation mechanism among neotropical butterflies of the subfamily Riodininae. Journal of Research on the Lepidoptera. 21 (3): 159-176.
- COLWELL, R.; CODDINGTON, J. A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 345: 101-118.
- D'ABRERA, B. 1995. Butterflies of the neotropical Region. Part VII. Lycaenidae. Victoria, Black Rock, Hill House. 1098-1270 p.
- DRAUDT, M. 1919-20. I. Gruppe: Theclini, p. 744-812. En: Seitz, A. (ed.), Die Gross-Schmetterlinge der Erde. Stuttgart, Alfred Kernen 5: 1140 p.
- DEMPSTER, J. P. 1983. The natural control of populations of butterflies and moths. Biological Reviews 58: 461-481.
- DEVRIES P. J.; WALLA T. R.; GREENEY H. F. 1999. Species diversity in spatial and temporal dimensions of fruit-feeding butterflies from two Ecuadorian rainforests. Biological Journal of the Linnean Society 68: 333-353.
- ELIOT, J. N. 1973. The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology) 28 (6): 373-506.
- GASTON, K. J. 1996. Biodiversity. Oxford: Blackwell Science. 396 p.
- GILBERT, L. E.; SINGER M. C. 1975. Butterfly ecology. Annual Review of Ecology and Systematics 6: 365-397.
- GILBERT, L. E. 1984. The biology of butterfly communities p. 26-40. En: Vane-Wright, R. I.; Ackery, P. R. The biology of Butterflies. Academic Press, London. 429 p.
- GOTELLI, N. J.; ENTSMINGER, G. L. 2001. EcoSim: Null models software for ecology. Version 7.0. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. <http://homepages.together.net/~gentsmin/ecosim.htm>. Fecha último acceso: 15 abril 2005.
- HEYWOOD, V. H. 1995. Global biodiversity assessment. Cambridge: Cambridge University Press. 1140 p.
- HOLDRIDGE, L. R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center. San Jose, Costa Rica. 215 p.
- JOHNSON, K. 1992. Genera and species of the neotropical "Elfin" like Hairstreak Butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae, Theclinae) Reports of the Museum of Natural History, University of Wisconsin 22 1-135, 22 (2): 136-279.
- JOHNSON, K.; KRUSE, J. J.; KROENLEIN, K. R. 1997. The Macusiina, a new infratribe of the Eumaeini with description of ten new genera (Lycaenidae). Revista de Theclinae Colombianos 2 (13): 1-30.
- JOHNSON, K.; SALAZAR, J. A.; VELEZ, J. H. 1997. New species of *Micandra* Staudinger from Colombia with distinction of *Trochusinus*, a new genus of the Eumaeini. Revista de Theclinae Colombianos 2 (15): 1-15.
- KATTAN, G.; RESTREPO, C.; GIRALDO, M. 1984. Estructura de un bosque de niebla en la cordillera occidental, Valle del Cauca, Colombia. Cespadesia 13: 23-43.
- KATTAN, G.; ALVARES, H.; GIRALDO, M. 1994. Forest fragmentation and bird extinctions: San Antonio eighty years later. Conservation Biology 8 (1): 138-146.
- KINGSOLVER, J. G. 1985. Butterfly thermoregulation: organismic mechanisms and population consequences. Journal of Research on the Lepidoptera 24 (1): 1-20.
- OREJUELA, J. E. 1985. Tropical forest birds of Colombia: A survey of problems and a plan for their conservation p. 95-115. En: Diamond, A. W.; Lovejoy, T. E. (eds.). Conservation of tropical forest birds. I.C.B.P. Technical Publications No. 4. Cambridge. 318 p.
- PE'ER, G.; SALTZ, D.; THULKE, H. H.; MOTRO, U. 2004. Response to topography in a hilltopping butterfly and implications for modelling nonrandom dispersal. Animal Behaviour 68: 825-839.
- PRIETO, C. 2003. Satirinos (Lepidoptera: Nymphalidae, Satyrinae) del Parque Nacional Natural Munchique. Diversidad de especies y distribución altitudinal. Revista Colombiana de Entomología 29 (2): 203-210.
- PRIETO, C. 2006. Diversidad y segregación de nicho en comunidades de Eumaeini (Lepidoptera: Lycaenidae: Theclinae) del Valle del Cauca. Colombia. Trabajo para obtener el Diploma de Estudios Avanzados, Universidad de Alicante. España. 70 p.
- PRIETO, C.; DAHNERS, H. W. (en preparación) Resource utilization, environmental and spatio-temporal overlap of a hilltopping Lycaenid community. A Null model analysis.
- ROBBINS, R. K. 2004. Checklist of Eumaeini. 98. Lycaenidae Theclinae, Eumaeini. 118-137pp. Checklist of neotropical lepidoptera. Part 4A. Hesperoidea-Papilionoidea. Gerardo Lamas (editor). In Atlas of Neotropical Lepidoptera. John B. Heppner. (Serie Ed.). Scientific Publishers, Gainesville. 439 p.
- SALAZAR, J. A. 1996. Sobre la concentración de lepidópteros ropalóceros en la cumbre de un cerro del noroccidente de Caldas, Colombia. SHILAP 24 (94): 183-195.
- SALAZAR, J. A.; JOHNSON, K. 1997. A new genus of Neotropical hairstreaks utilizing bird excrement as their protective color

- substrate (Eumaeni: Macusiina). *Revista de Theclinae Colombianos* 2 (14): 1-10.
- SALAZAR, J. A.; JOHNSON, K.; CONSANTINO, L. M. 1997. Additional new species and records of "elfin"- like Eumaeni from Colombia (Lycaenidae). *Revista de Theclinae Colombianos* 2 (17): 1-13.
- SCHLUTER, D.; RICKLEFS, R.E. 1993. Convergence and the regional component of species diversity p. 230-240. In: *Species diversity: historical and geographical perspectives* (ed. by R.E. Ricklefs and D. Schluter), University of Chicago Press, Chicago.
- SHAPIRO, A. M.; TORRES, R. 1978. Notas sobre la biología de dos mariposas Pieridae de grandes aturas de Colombia (Lepidoptera: Pieridae). *Cespedesia* 7 (25-26): 7-23.
- SHIELDS, O. 1967. Hilltopping. An ecological study of summit congregation behavior of butterflies on a southern California hill. *Journal of Research on the Lepidoptera* 6: 69-178.
- SINGER, M. C.; THOMAS, C. D.; PARMESAN C.; BILLINGTON, H. L. 1989. Variation among conspecific insect populations in the mechanistic basis of diet breadth. *Animal Behaviour*. 37: 751-759.
- SINGER, M. C.; THOMAS, D. 1992. The difficulty of deducing behavior from resource use: an example from hilltopping in checkerspot butterflies. *American Naturalist* 140 (4): 654-664.
- VANE-WRIGHT, R. I.; HUMPHRIES, C. J.; WILLIAMS, P. H. 1991. What to protect? Systematics and the agony of choice. *Biological Conservation* 55: 235-254.
- WARD, J. H. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 58: 236.

Recibido: 22-sep-05 • Aceptado: 26-may-06

## Phytophagous scarab beetles from the Central Region of Guerrero, Mexico (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae)

Coleoptera Scarabaeidae fitófagos de la Región Central de Guerrero, México (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae)

CUTBERTO PACHECO F.<sup>1</sup>, CUAUHTÉMOC DELOYA<sup>1</sup>, PEDRO CORTÉS G.<sup>2</sup>

**Abstract.** From July 1999 to June 2000, 1,307 specimens of phytophagous Scarabaeidae representing four subfamilies, 11 tribes, and 57 species of the following genera were collected: *Calomacraspis*, *Macraspis*, *Pelidnota*, *Chrysina*, *Anomala*, *Strigoderma*, *Cotinis*, *Hologymnetis*, *Euphoria*, *Golofa*, *Strategus*, *Cyclocephala*, *Tomarus*, *Bothynus*, *Phyllophaga*, *Diplotaxis*, *Polyphylla*, *Isonychus*, and *Chnaunanthus*. The area surveyed included the Mochitlán, Atlixac, Chilpancingo, and Tixtla regions located in the central part of the state of Guerrero at an altitude of 840-1,600 m. These regions are characterized by six types of vegetation: pine forest, pine-oak forest, oak forest, tropical deciduous forest, palm groves, riparian forest, and pasture land. The 1307 specimens were captured using fermented fruit traps and by careful examination of herbaceous, brush, and arboreal vegetation in deposits of the detritus produced by ants (*Atta mexicana*, Hymenoptera: Formicidae) in a dead forest as well as by nocturnal collection. Specific richness for Mochitlán is 22 species, Tixtla 23, Chilpancingo 32, and Atlixac 34; *Phyllophaga* and *Euphoria* make up 66.66% of the species, *Euphoria subtomentosa* being predominant. Central Guerrero has greater specific similarity with species from the high part of the Balsas Basin (southern Morelos 46%, Cuernavaca, Morelos 38%) than with fauna established on the Mexican Pacific slope (Chamela, Jalisco 30%, and Tepic, Nayarit 29%).

**Key words:** Fauna. Scarab beetles. Balsas Basin. Fruit traps.

**Resumen.** El presente estudio se realizó entre julio de 1999 y junio del 2000 en Mochitlán, Atlixac y Chilpancingo en la región centro del estado de Guerrero, México, en altitudes entre los 840 y 1,600 m y caracterizadas por seis tipos de vegetación: bosque de *Pinus*, *Pinus-Quercus*, bosque tropical caducifolio, palmas, vegetación riparia y pastos inducidos. Se obtuvieron 1,307 especímenes que representan 4 subfamilias, 11 tribus y 57 especies de los géneros: *Calomacraspis*, *Macraspis*, *Pelidnota*, *Chrysina*, *Anomala*, *Strigoderma*, *Cotinis*, *Hologymnetis*, *Euphoria*, *Golofa*, *Strategus*, *Cyclocephala*, *Tomarus*, *Bothynus*, *Phyllophaga*, *Diplotaxis*, *Polyphylla*, *Isonychus*, and *Chnaunanthus*. Los especímenes capturados fueron obtenidos mediante el uso de trampas con fruta fermentada, en la vegetación arbustiva, herbácea y arbórea, en depósitos de detritos de la hormiga *Atta mexicana* (Hymenoptera: Formicidae) y en arbolado muerto y en colectas nocturnas. Chilpancingo presenta la mayor riqueza específica con 32 especies, seguida por Tixtla (23) y Mochitlán (22); *Phyllophaga* y *Euphoria* concentran al 66.66% de las especies y *E. subtomentosa* es la especie predominante. La región central de Guerrero presenta una mayor similitud específica con otras localidades establecidas en la parte alta de la Cuenca del Río Balsas (Sur de Morelos 46%, Cuernavaca, Morelos 38%) que con las establecidas en la vertiente del Pacífico Mexicano (Chamela, Jalisco 30% y Tepic, Nayarit 29%).

**Palabras clave:** Fauna. Escarabajos. Cuenca del Balsas. Trampas de frutas.

Scarabaeidae fauna of the Mexican Pacific slope and in the Balsas Basin is composed of 29 to 48 genera and 70 to 120 species (Deloya *et al.* 1993). The location, size, orography, and biogeographical history of the state of Guerrero have created a mosaic of different vegetation associations: xerophilous brush,

*Pinus*, *Quercus-Pinus*, *Pinus-Quercus*, and *Abies* forests, mesophilous mountains, tropical deciduous forest, palm groves, riparian forest, and tropical semideciduous forest, among others. These numerous associations, many of which are endemic to the region, combine with the other characteristics of the state to favor the establish-

ment of diverse fauna. Phytophagous Scarabaeidae in Guerrero are represented by five subfamilies (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae, and Trichiinae) that include 29 genera with 120 species (Morón *et al.* 1997). The objective of the present study was to perform a preliminary analysis of phytophagous

1 Autor correspondencia Cuauhtémoc Deloya. Departamento de Entomología, Instituto de Ecología, A.C. (CONACYT), Km 2.5 carretera antigua a Coatepec 351, Congregación El Haya, CP 91070, Xalapa, Veracruz, MEXICO. E-mail: cuauhtemoc.deloya@inecol.edu.mx

2 Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria, Chilpancingo, Guerrero.

Scarabaeidae fauna inhabiting the central region of the state of Guerrero in order to elaborate a key for the identification of the species and its comparison with other fauna obtained from other localities.

**Study areas.** The central region of the state of Guerrero, Mexico, is located between 17°30' and 17°39'N and 99°23' and 99°42'W. Climatic characteristics, altitude, annual rainfall, and mean annual temperature for the study areas are shown in Table 1. Vegetation type per region is as follows: a) Chilpancingo: pine forest, pine-oak, oak, tropical deciduous forest, palm grove, riparian forest, and pasture land; b) Mochitlán: tropical semideciduous forest, oak, induced pasture, thorny brush, riparian forest; c) Tixtla: oak, palm grove, tropical deciduous forest, riparian forest, and pasture land; d) Chichihualco: tropical deciduous forest featuring trees less than 15 m high with robust, twisted trunks.

**Material and Methods**

From July 1999 to June 2000, monthly sampling was done in Chilpancingo, Mochitlán, Tixtla, and Atlixac (Chichihualco). Samples were collected both day and night from the arboreal, brush, and herbaceous strata as well as from flowers and fruits. Samples were taken from public lighting installations at night and by using fermented fruit traps (banana and pineapple with beer) during the day (Morón 1997). Voucher specimens were deposited in the Entomological Collection (IEXA) of the Instituto de Ecología, A.C. and M. A. Morón (MXAL) in Xalapa, Veracruz, Mexico.

For the data analysis, the number of species obtained was recorded (species richness; S = alpha diversity), as was the total number of specimens (N) for each site. Sørensen's (1948) Similarity Index was used to determine beta diversity  $QS = 2(c) / a + b$ , where a is the number of species in community A, b is the number of species in community B and c is the number of species shared by communities A and B. The key was prepared following the taxonomic criteria used by Morón (1984) and Deloya *et al.* (1995).

**Results**

A total of 1.307 specimens of phytophagous Scarabaeidae were collected, representing 4 subfamilies, 11 tribes, 19 genera, and 57 species (Table 2).

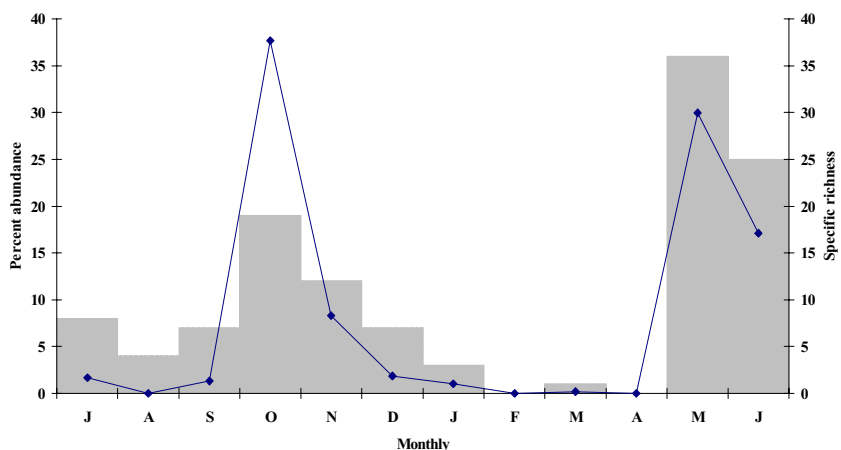
Melolonthinae from the central part of Guerrero were recorded year round ex-

cept for February and April (Table 3, Fig. 1). Specific richness (S) and abundance (a) throughout the year were as follows: July S=8, a=1.68%; August S=4, a=0.91%; September S=7, a=1.29%; October S=19, a=37.69%; November S=12, a=8.33%; December S=7, a=1.83%; January S=3, a=0.99%; March S=1, a=0.15%; May S=36, a=29.96%, and June S=25, a=17.12%. As for seasonal richness, 14 species coexisted in summer, 23 in autumn, 4 in winter, and 39 in spring.

The following species constituted 89.15% of the total sampling (N=1307) and were represented by 15 or more specimens: *C. mutabilis* (4.96%), *E. basalis* (8.56%), *E. leucographa* (1.29%), *E. iridescens* (3.28%), *E. biguttata* (1.75%), *E. subtomentosa* (27.9%), *A. inconstans* (3.66%), *Anomala* sp. (2.37%), *S. aloeus* (1.22%), *C. lunulata* (12.69%), *D. atramentaria* (2.29%), *P. ardara* (1.98%), *P. crinalis* (1.6%), *P. integriceps* (1.68%), *P. brevidens* (1.29%), *P. fulviventris* (1.14), *P. crenonycha* (1.75%), *P. obsoleta* (6.11%) and *P. scabripes* (3.36%), while 38 other species made up only 10.85% of the total with 12 specimens or fewer.

**Key for the identification of phytophagous Scarabaeidae species found in the central part of Guerrero**

- 1 Base of antennal scape covered by the anterior angle of front and ocular canthus, not visible from above ..... 2
- 1' Base of antennal scape visible from above through anteocular indentation. Mesepimeres not covered by base of elytra. Lateral borders of elytra with wide indentation and short, abundant setae. Metatarsus shorter than metatibia ..... CETONIINAE 4
- 2 All tarsal claws equal in length and thickness, dentate, bifid, or entire. .... 3
- 2' All tarsal claws differing in length and thickness, the majority grooved and the minority entire ..... RUTELINAE 17
- 3 Claws entire or bifid. Mandible apex hidden under clypeus, not dorsally visible ..... MELOLONTHINAE 34
- 3' Claws entire or single (at least intermediate and posterior claws). Apex



**Figura 1.** Monthly relation between the percent abundance (Line; N=1307) and specific richness (bars; S= 57 species) of the phytophagous Scarabaeidae (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae Cetoniinae) from the Central Region of Guerrero, Mexico, July 1999-June 2000.

**Table 1.** Abiotic factors for study areas in the central region of the State of Guerrero, Mexico (García 1988).

Region	Rainfall mm/year	Temperature °C (annual mean)	Altitude masl	Climate
Mochitlán	1239.0	24.2	840	Aw(w)igw"
Atlixac	717.5	23.2	1210	BS1(h')w(w)igw"
Chilpancingo	827.4	21.7	1360	A(C)wo(w)(i')w"
Tixtla	1014.9	21.5	1600	A(C)w1(w)(i')g

**Table 2.** Species of Scarabaeidae pleurosticti from the central region of the state of Guerrero, Mexico, captured between July 1999 and June 2000.

		of mandible visible from dorsum .. ..... DYNASTINAE 27
1 Melolonthinae		4 Scutellum covered by the basal lobe of pronotum. Gymnetini..... 5
A) Melolonthini		4' Scutellum exposed from above Cetoniini ..... <i>Euphoria</i> 7
<i>Phyllophaga (Phyllophaga) ardara</i> Saylor, 1943		5 Head with frontal projection fused or partially free <i>Cotinis</i> Burmeister ..... 6
<i>P. (P.) brevidens</i> (Bates, 1888)		5' Head lacking frontal projection. Anterior margin of clypeus highly marginate. Mesometasternal projec- tion with sharp apex internally pro- jected ..... <i>Hologymnetis cinerea</i>
<i>P. (P.) crinalis</i> (Bates, 1888)		6 Frontal projection free, less than 50% of length. Apically enlarged in dorsal view. Projection of clypeus variable. Coloration opaque, black, greenish, and velvety. Total length 22-30 mm ..... <i>Cotinis mutabilis</i>
<i>P. (P.) dasypoda</i> (Bates, 1888)		6' Frontal projection fused for 65% of its length from vertex to clypeus. Dorsal coloration dark green. Meso- metasternal projection rounded. To- tal length 19-22.5 mm ..... ..... <i>Cotinis pauperula</i>
<i>P. (P.) disca</i> Saylor, 1943		7 Species longer than 15 mm ..... 8
<i>P. (P.) eniba</i> Saylor, 1943		7' Species shorter than 15 mm ..... 11
<i>P. (P.) fulviventrifera</i> (Moser, 1918)		8 Clypeus square with rounded lateral margins ..... 9
<i>P. (P.) integriceps</i> (Moser, 1918)		8' Clypeus trapezoidal ..... 10
<i>P. (P.) ravidata</i> (Blanchard, 1851)		9 Dorsal surface with long setae. Antennal club shorter than rest of antennomeres. Pronotum with two pairs of longitudinal bands and dark parallels; each pair with anterior convergence. Total length 18 mm. ..... <i>Euphoria iridescens</i>
<i>P. (P.) martinezpalaciosi</i> Morón, 1988		9' Dorsal surface with short setae. Antennal club much longer than the rest of the antennomeres. Pronotum with one pair of dark longitudinal bands in a "db" shape; each pair with anterior convergence. Total length 18 mm ..... <i>Euphoria vestita</i>
<i>Phyllophaga (P.)</i> sp.		10 Anterior tibia externally tridentate, all teeth equidistant and basal tooth smaller. Dorsal coloration green, elytra with whitish sculpture. Total length 21.0-21.5 mm ..... ..... <i>Euphoria westermanni</i>
<i>P. (P.) setifera</i> (Burmeister, 1855)		10' Anterior tibia externally tridentate, with two anterior teeth close to- gether and basal tooth slightly smaller. Total length 15-18 mm .... ..... <i>Euphoria biguttata</i>
<i>P. (P.) crenonycha</i> Saylor, 1943		
<i>P. (Ph.) obsoleta</i> (Blanchard, 1851)		
<i>P. (Listrochelus)</i> sp.		
<i>P. (Chlaenobia) scabripes</i> (Bates, 1850)		
<i>Diplotaxis atramentaria</i> Bates, 1888		
<i>D. cribriceps</i> Bates, 1889		
<i>D. megapleura</i> Vaurie, 1960		
<i>D. trapezifera</i> Bates, 1887		
<i>Polyphylla petiti</i> (Guérin-Méneville, 1844)		
B) Macroductylini		
<i>Isonychus ocellatus</i> Burmeister, 1855		
C) Incerta sedis		
<i>Chnaunanthus discolor</i> Burmeister, 1844		
2 Rutelinae		
A) Rutelini		
<i>Calomacraspis splendens</i> (Burmeister, 1844)		
<i>Macraspis aterrima</i> (Waterhouse, 1881)		
<i>Pelidnota virescens</i> Burmeister, 1844		
<i>Chrysina macropus</i> (Francillon, 1795)		
B) Anomalini		
<i>Anomala cincta</i> Say, 1835		
<i>A. foraminosa</i> Bates, 1888		
<i>A. forreri</i> Bates, 1888		
<i>A. inconstans</i> Burmeister, 1847		
<i>Anomala</i> sp.		
<i>Strigoderma sulcipennis</i> Burmeister, 1844		
<i>Strigoderma tomentosa</i> Bates, 1888		
3 Dynastinae		
A) Dynastini		
<i>Golofa imperialis</i> Thomson, 1858		
B) Oryctini		
<i>Strategus aloeus</i> (Linné, 1758)		
C) Cyclocephalini		
<i>Cyclocephala lunulata</i> Burmeister, 1847		
<i>C. stictica</i> Burmeister, 1847		
<i>C. sexpunctata</i> Laporte, 1840		
D) Pentodontini		
<i>Tomarus nasutus</i> (Burmeister, 1847)		
<i>T. sallei</i> (Bates, 1888)		
<i>Bothynus complanus</i> (Burmeister, 1847)		
4 Cetoniinae		
A) Gymnetini		
<i>Cotinis mutabilis</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>C. pauperula</i> Burmeister, 1847		
<i>Hologymnetis cinerea</i> (Gory & Percheron, 1833)		
B) Cetoniini		
<i>Euphoria basalis</i> (Gory & Percheron 1833)		
<i>E. biguttata</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. canescens</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. dimidiata</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. iridescens</i> Schaum, 1841		
<i>E. lineoligera</i> Blanchard, 1850		
<i>E. pulchella</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. sepulcralis leucographa</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. subtomentosa</i> Mannerheim, 1837		
<i>E. vestita</i> (Gory & Percheron, 1833)		
<i>E. westermanni</i> (Gory & Percheron, 1833)		

- 11 Basal half of elytra reddish, the rest black with or without variable sculpture ..... 12
- 11' Basal half of elytra always lacking reddish spots ..... 14
- 12 Clypeus almost square; posterior half of elytra black and lacking sculpture ..... *Euphoria dimidiata*
- 12' Clypeus triangular; posterior half of black elytra with sculpture ..... 13
- 13 Anterior margin of clypeus rounded; sides of pronotum rounded and with whitish sculpture ..... *Euphoria canescens*
- 13' Anterior margin of clypeus truncate; sides of pronotum angled and lacking whitish sculpture ..... *Euphoria pulchella*
- 14 Pronotum black ..... 15
- 14' Pronotum reddish ..... 16
- 15 Elytra bicolored, black with yellow *Euphoria basalis*
- 15' Elytra black with irregular whitish sculpture on posterior half and sides. Total length 10-11 mm ..... *Euphoria lineoligera*
- 16 Anterior margin of clypeus straight, projected upward and curved in a "u" shape; sides of pronotum with whitish sculpture ..... *Euphoria leucographa*
- 16' Anterior margin of clypeus slightly rounded, never projected upward; sides of pronotum lacking whitish sculpture ..... *Euphoria subtomentosa*
- 17 External border of elytra with membranous margin ..... Anomalini ..... 18
- 17' External border of elytra lacking membranous margin ..... 24
- 18 Elytrae wider than posterior region. Dorsum convex ..... *Anomala* 19
- 18' Elytrae longer in humeral than in posterior region. Dorsum flat and glabrous ..... *Strigoderma* 23
- 19 Pronotum blackish-red ..... 20
- 19' Pronotum green or yellowish-brown ..... 22
- 20 Elytra red-brown ..... *Anomala* sp.
- 20' Elytra yellowish-brown ..... 21
- 21 Second protarsal joint situated at same level as apical tooth of protibia ..... *Anomala foraminosa*
- 21' Third protarsal joint situated at same height as apical tooth of protibia . ..... *Anomala forreri*
- 22 Pronotum and scutellum green; protibia tridentate ..... *Anomala cincta*
- 22' Pronotum yellowish-brown with a blackish-red anterocentral spot variable in shape; protibia bidentate .. ..... *Anomala inconstans*
- 23 Pronotum with a longitudinal furrow and two diagonal furrows on each side; pronotal setae widely spaced .... *Strigoderma sulcipennis*
- 23' Pronotum lacking furrows and setiferous, setae abundant and erect ..... *Strigoderma tomentosa*
- 24 Basal margin line of pronotum complete. Exterior border of mandibles clearly indented. Dorsal coloration yellow with green highlights. Total length 22-26 mm ..... *Pelidnota virescens*
- 24' Basal margin line of pronotum incomplete or absent ..... 25
- 25 Basal margin of pronotum incomplete ..... *Chrysinia macropus*
- 25' Basal margin line of pronotum absent ..... 26
- 26 Scutellum longer than pronotum. Color shiny black. Metaepisternum rugose and punctate. Total length 23-29 mm ..... *Macraspis aterrima*
- 26' Scutellum shorter than pronotum. Clypeus semitrapezoidal. Labrum visible above. Protibia bidentate in males, tridentate in females, with very small basal tooth. Dorsal coloration bright metallic green. Total length 14-16 mm ..... *Calomacraspis splendens*
- 27 Protarsus equal to or larger than protibia. Male pronotum with tubercle; head with thin horn ..... *Golofa imperialis*
- 27' Protarsus shorter than protibia . 28
- 28 Head and pronotum without carinae, tubercles, or depressions. Tarsomeres semicylindrical. Meso- and metatibiae with wide apex ..... *Cyclocephala* ..... 29
- 28' Head and pronotum with carinae, tubercles, and depressions. Tarsomeres triangular or semicylindrical. Meso- and metatibiae apex, scalloped or dentate ..... 31
- 29 Elytra glabrous. Anterior margin of clypeus straight. Pronotum and elytra with irregular spots ..... *Cyclocephala lunulata*
- 29' Elytra setiferous. Anterior margin of clypeus sinuate. Pronotum and elytra with a more or less defined pattern ..... 30
- 30 Each elytra with three irregular black points. Disc of pronotum with two black spots ..... *Cyclocephala sexpunctata*
- 30' Each elytra with three longitudinal spots: two short lateral spots and one large spot that widens at the posterior half ..... *Cyclocephala stictica*
- 31 Apex of meso- and metatibiae truncate or with dorsolateral projection; sexual dimorphism rare. Head with carinae or tubercles . Pentodontini ..... 32
- 31' Apex of metatibiae denticulate or scalloped. Sexual dimorphism accentuated. Males and females without horns on head, only two transversal tubercles. Male pronotum with three horns or bumps that surround a wide central fovea. Total length 30-50 mm ..... *Strategus aloeus*
- 32 Apex of meso- and metatibiae extended dorsolaterally; propygidium extended towards the back with a stridulatory area. Pronotum with one tubercle and a postapical concavity. Total length 27-36 mm ..... *Bothynus complanus*
- 32' Apex of meso- and metatibiae truncate; propygidium not extended backwards and lacking stridulatory area. Pronotum lacking tubercles and depressions. Clypeus lacking preapical carina; front with transversal carina ..... *Tomarus* ..... 33
- 33 Protibia tetridentate with a well-formed denticle between the second and third tooth. Frontal carina bituberculate. Pygidium smooth, polished, and punctate. Total length 20-21 mm ..... *Tomarus sallei*
- 33' Protibia tridentate, lacking denticles between teeth. Frontal carina continuous. Pygidium smooth, polished, with three scattered punctures. Total length 17-19 mm ..... *Tomarus nasutus*
- 34 Dorsal and ventral region covered with yellow scale-like setae ..... *Isonychus ocellatus*



- 34' Dorsal region smooth or covered with setae of varying lengths ... 35
- 35 Anterior coxae more or less conical, prominent. Length less than 12 mm. Sexual dimorphism rare ..... 37
- 35' Anterior coxae transversal. Total length generally greater than 12 mm (except in *Phyllophaga oblongula*, which measures 8.5 mm). Sexual dimorphism apparent or quite noticeable. Reproductive organ complex ..... 36
- 36 Antennal club formed by three antennomeres, both in males and females. Sexual dimorphism apparent or quite noticeable. *Phyllophaga* ..... 41
- 36' Antennal club formed by seven antennomeres in males and five in females ..... *Polyphylla petiti*
- 37 Antennal club small and oval. Abdominal sternites totally or partially fused to each other at medial thirds. Head, pronotum, and ventral regions dark brown, elytra shiny straw-yellow. Total length 3 mm ..... *Chnaunanthus discolor*
- 37' Antennal club elongate. Abdominal sternites never totally or partially fused to each other at medial thirds *Diploaxis* ..... 38
- 38 Species longer than 8 mm. Clypeus: trapezoidal, anterior margin truncate with rounded lateral angles ..... 39
- 38' Small species, length less than 8 mm. Clypeus trapezoidal, anterior margin sinuate and sharply elevated with lateral angles projected. Lateral margins of elytra with long setae .. 40
- 39 Elytra twice as long as pronotum. Second elytral interval unipunctate. Lateral margins of pronotum near apex not strongly marginate or elevated. Color black with red highlights. Total length 9 mm ..... *Diploaxis cribriceps*
- 39' Elytra three times longer than pronotum. Second elytral interval multipunctate. Lateral margins of pronotum near apex strongly marginate and slightly elevated. Color reddish black. Total length 9 mm . ..... *Diploaxis atramentaria*
- 40 Pygidium setiferous, setae long and abundant. Total length 7.5-8.2 mm ..... *Diploaxis megapleura*
- 40' Pygidium setiferous, setae short and sparse. Total length 8.0 mm ..... *Diploaxis trapezifera*
- 41 Vertex generally with a well-marked transversal carina. Claws serrate or pectinate ..... *Phyllophaga (Listrochelus)* sp.
- 41' Vertex lacking transversal carina. All three pairs of claws bifid, grooved, or dentate, especially in males ..... 42
- 42 Tarsal claws unidentate ..... *Phyllophaga (sensu stricto)* ..... 46
- 42' Tarsal claws grooved or bifid.. 43
- 43 Ventral region of tarsomeres with abundant setae (more conspicuous in males). Dorsum glabrous, shiny. Body elongate and yellow ..... *Phyllophaga (Chlaenobia) scabripygga*
- 43' Ventral region of tarsomeres with sparse or no setae. Dorsal appearance variable ..... *Phyllophaga (Phytalus)* ..... 44
- 44 Pronotum opaque. Front with abundant, erect, medium-length setae; pronotum and elytra setiferous, setae short; anterior region of pronotum with sparse, long setae in anterior region and area in front of apical callus of elytra ..... *P. (Ph.) epulara*
- 44' Pronotum shiny ..... 45
- 45 Elytra and scutellum shiny. Front and anterocentral region of pronotum with short setae, conspicuous and/or inconspicuous ..... *P. (Ph.) obsoleta*
- 45' Elytra and scutellum opaque. Long setae on front and anterocentral region of pronotum ..... *P. (Ph.) crenonycha*
- 46 Claws with dilated and dentate base, intermediate tooth flanked by narrow, deep indentations. External claws of male mesotarsus with apical portion curved or angled downward so that intermediate tooth juts out laterally causing deformation *P. (Phyllophaga) ravidata* group ..... 47
- 46' Claws with intermediate tooth far from apex or base or from both ends. Claws with intermediate denticle variable in structure and position, inferior border seldom serrate ... 49
- 47 External claws of male mesotarsus deformed with a distal bifurcate appearance due to their great length and sharpness of intermediate tooth. Body length 14 to 19 mm (*P. ravidata* group, *P. dentex* complex). Color reddish-chestnut. Total length 15-17 mm ..... *Phyllophaga ravidata*
- 47' External claws of male mesotarsus slightly deformed and lacking distal bifurcate appearance, as intermediate tooth is very short and rounded. Body length 16 to 23 mm (*ravidata* group, *dasydota* complex) ..... 48
- 48 Clypeus semicircular, slightly sinuate. Tegument shiny. Antennal lamella in males as long as the first seven antennomeres combined. Pygidium with long setae ..... *P. dasydota*
- 48' Clypeus with anterior margin sinuate. Tegument shiny. Antennal lamella in males shorter than first seven antennomeres combined. Pygidium with short setae. Color reddish-chestnut. Total length 21-22.5 mm ..... *Phyllophaga fulviventris*
- 49 Claws of intermediate denticle as long as or longer than apical denticle; widely separated from both ends, with a slight, rounded basal dilation. Tropical species ..... 50
- 49' Claws with intermediate denticle of variable length and position. Both male metatibial spurs articulate with apical border ..... 51
- 50 Exterior spur of male metatibiae fused to apical border and at least 60% shorter than interior spur. Parameres short, compact, fused to base and apex. Dorsal surface variable although generally velvety. Aedeagus slightly sclerotized and lacking complex ornamentation... ..... *P. (Phyllophaga), P. rorulenta* group *P. martinezpalaciosi*
- 50' Exterior spur of male metatibiae articulate with apical border, length greater than 50% that of interior spur. Dorsal and pygidial dressing velvety or setiferous. Dorsal and pygidial surface formed by short, very abundant setae. Male and female claws similar. Parameres short, wide, fused at base and apex. Aedeagus long, sclerotized, with thick, very conspicuous setiferous ornaments. .... *P. (Phyllophaga) setidorsis* group ..... 53
- 51 Male anal plate with anterior flange that reaches lateral ends, middle sec-

tion indented, one sinus or bilobed or bidentate projection. Frequently fifth sternite visible with dark, grainy medial area. Dorsum pruinose or setiferous dorsum. Parameres short, fused, ring-like, with a small ventral bidentate projection and symmetrical latero-distal denticles. Aedeagus highly ornamented, with thorns, setae, and curved filaments *P. (Phyllophaga) anodentata* group..... 52

- 51' Male anal plate narrow and slightly excavated, but lacking notable flange in anterior margin. Parameres short, fused, ring-shaped. Dorsal region with velvety or setiferous cover. Aedeagus sclerotized, highly ornamented with plates and groups of macroscopic setae ..... *P. (Phyllophaga), P. porodera* group *P. eniba*
- 52 Antennae formed by 10 antennomeres. Dorsum opaque .. *P. ardara*
- 52' Antennae formed by 9 antennomeres. Dorsum shiny. Total length 15-16 mm ..... *P. brevidens*
- 53 Superior metatibial spur curved in an open "s" shape. 3-6 antennal antennomeres of equal length, 7 shorter ..... *P. crinalis*
- 53' Superior metatibial spur curved. 3-4 antennomeres of equal length, 5-7 shorter ..... *P. setifera*

#### General comments about phytophagous Scarabaeidae found in the Central Region of the State of Guerrero, Mexico

*Phyllophaga* Harris. Adults exhibit crepuscular or nocturnal habits and feed on the foliage of various plants; larvae, in contrast, eat roots (Deloya *et al.* 1995; Morón *et al.* 1988). 293 specimens from 17 species were captured at lights in Mochitlán (9), Atlixactac (172), Chilpancingo (84), and Tixtla (28) during May (130), June (75), July (1), August (1), and September (2).

*Diploptaxis* Kirby. Adults exhibit crepuscular or nocturnal habits; larvae consume roots (Deloya *et al.* 1995). 39 samples from 4 species were captured at lights, *D. megapleura* (4), *D. cribriceps* (2), *D. atramentaria* (30), and *D. trapezifera* (3) in Mochitlán (1), Atlixactac (37), and Tixtla (1) during May (20) and June (19).

*Polyphylla* Harris. The genus is widely distributed from Canada to Guatemala. In Mexico, captures have been made in

eight states at an altitude of 300 to 1.650 m (Deloya *et al.* 1995). The only *P. petiti* sample was captured at lights in Tixtla in December in an area near croplands.

*Isonychus* Mannerheim. *Isonychus ocellatus* is a common species of wide distribution; its food preferences are unknown (Morón *et al.* 1997). In May, the 3 specimens were captured at lights in Atlixactac (2) and Tixtla (1).

*Chnaunanthus* Burmeister. *Chnaunanthus discolor* is a very common species in central Mexico (Morón *et al.* 1997). The four samples reviewed were captured in Compositae blossoms during October in Chilpancingo (3) and Atlixactac (1).

*Calomacraspis* Bates. *Calomacraspis splendens* has been found on verbena and asclepiadaceous flowers; larvae develop on detritus deposits of the ant *Atta mexicana* (Fr. Smith) (Deloya 1988). The species is exclusive to Mexico (Jameson *et al.* 1994) and lives in warm parts of Jalisco, Puebla, Veracruz, Chiapas, Morelos, Hidalgo, and Guerrero (Deloya *et al.* 1994, 1995; Morón, 1994). The only specimen in this study was captured on Compositae plants during October in Chilpancingo.

*Macraspis* MacLeay. *Macraspis aterrima* is a species exclusive to Mexico; adults consume annona fruits, and larvae develop on rotten *Persea americana* trunks (Deloya *et al.* 1995). The only specimen reviewed was captured in flight during September in Mochitlán.

*Pelidnota* MacLeay. *Pelidnota virescens* adults exhibit nocturnal habits and feed on the foliage of various trees. Larvae are found inside rotten stumps, and the life cycle is complete in one year; they are widely distributed between Mexico and Costa Rica (Deloya *et al.* 1995; Morón *et al.* 1997). The only specimen collected was captured at lights in Mochitlán during May.

*Chrysina* Kirby. *Chrysina macropus* adults are frequently attracted to various types of light. Their alimentary preferences are unknown; larvae have been collected from rotten stumps. This species life cycle requires two years (Morón *et al.* 1997). The two specimens studied were captured at lights in Atlixactac during May.

*Anomala* Samouelle. 87 specimens from 5 species were captured at lights: *A. forreri* (5), *A. cincta* (2), *A. foraminosa* (1), *A. inconstans* (48), and one undetermined species (31) during March (2),

May (43), June (33), July (2), and October (3) in Mochitlán (3), Atlixactac (27), and Chilpancingo (57).

*Strigoderma* Burmeister. The 8 specimens captured correspond to two species, *S. sulcipennis* (6) and *S. tomentosa* (2) and were collected in Mochitlán (3), Chilpancingo (1), and Tixtla (4) during September (2), October (3), November (1), and December (1). *Strigoderma sulcipennis* was captured on *Tagetes erecta* (Cempanzuchitl) flowers and *S. tomentosa* on Compositae flowers.

*Golofa* Hope. *Golofa imperialis* lives at an altitude of 500-2.100 m on the internal slopes of principal mountains and mesetas or woody high plateaus (Morón 1993). The only specimen was captured at lights in Tixtla during October.

*Strategus* Kirby. *Strategus aloeus* has wide neotropical distribution (Morón *et al.* 1988). The 16 specimens were collected at light (15) and on rotting wood (1) during May (7), June (1), July (4), and August (4) in Mochitlán (7), Tixtla (2), Atlixactac (2), and Chilpancingo (5).

*Cyclocephala* Dejean. This genus has a wide neotropical distribution. The 168 specimens represent three species: *C. lunulata* (166), *C. stictica* (1), and *C. sexpunctata* (1), all of which were captured at lights during the months of May (113), June (46), September (1), and October (8) in Mochitlán (3), Atlixactac (15), Chilpancingo (148), and Tixtla (2).

*Tomarus* Erichson. The 9 specimens represent 2 species: *T. sallei* (8) and *T. nasutus* (1) and were collected at lights lighting during the months of May (6), July (2), and August (1) in Chilpancingo (6) and Tixtla (3).

*Bothynus* Hope. *Bothynus complanus*, 5 specimens were captured at lights during May (3) and November (2) in Tixtla.

*Cotinis* Burmeister. It has a wide distribution from northern South America to the southern United States. Most species are diurnal and favor flowers and ripe fruits (Deloya *et al.* 1995). A total of 75 samples from 2 species were collected: *C. mutabilis* (65) and *C. pauperula* (10) during January (5), May (14), June (23), July (2), September (6), October (9), November (7), and December (9) in Mochitlán (24), Atlixactac (2), Chilpancingo (34), and Tixtla (15). *Cotinis mutabilis* was collected from *Tagetes erecta* flowers and *Pithecelobium dulce* foliage as well in flight and from fermented fruit traps.

*Hologymnetis* Martínez. *Hologymnetis cinerea* is found in Guatemala and widely distributed throughout the Mexican territory, except on the Baja California peninsula and in Yucatán (Deloya *et al.* 1995). The 9 samples were captured in fermented fruit traps and on *Tagetes erecta* flowers during the months of September (1), October (5), and November (3) in Mochitlán (1), Atlixac (2), Chilpancingo (4), and Tixtla (2).

*Euphoria* Burmeister. It is widely distributed across most of the American continent. Adults favor flowers, while larvae are saprophagous (Morón *et al.* 1988; Deloya *et al.* 1995). The 585 samples collected represent 11 species: *E. basalis* (112), *E. leucographa* (17), *E. dimidiata* (12), *E. iridescens* (43), *E. canescens* (3), *E. vestita* (1), *E. biguttata* (23), *E. subtomentosa* (365), *E. lineoligera* (3), *E. pulchella* (2), and *E. westermanni* (4), all captured in fermented fruit traps and on pumpkin flowers (*Cucurbita pepo*), campanzuchitl (*Tagetes erecta*), huizache (*Acacia schaffneri*) and other Compositae in Mochitlán (96), Atlixac (309), Chilpancingo (140), and Tixtla (40) during January (8), May (5), June (3), September (3), October (460), November (95), and December (11).

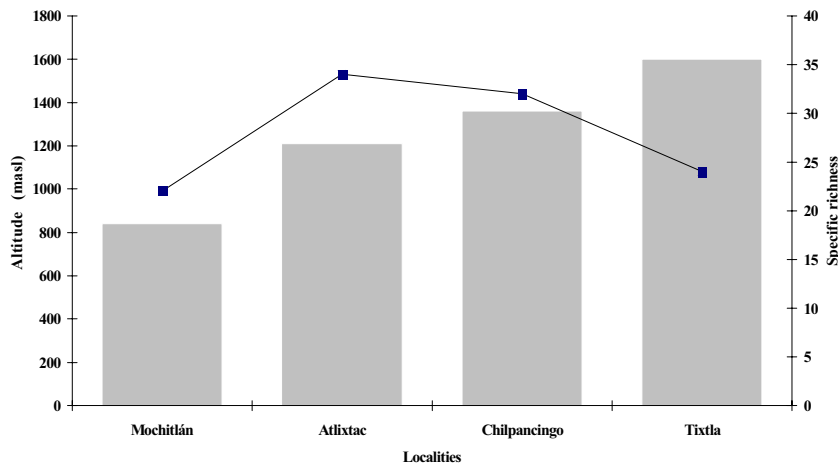
### Discussion

With regard to specific richness in each region, 22 species were captured in Mochitlán, 34 in Atlixac, 32 in Chilpancingo, and 23 in Tixtla (Table 3; Fig. 2); 43.65% of the specimens were obtained in Atlixac, 36.92% in Chilpancingo, 11.39% in Mochitlán, and only 8.02% in Tixtla. Of the 57 species studied, *C. mutabilis*, *H. cinerea*, *E. leucographa*, *E. dimidiata*, *E. subtomentosa*, *S. aloeus*, *P. ardara* and *P. brevidens* were found in the four regions at an altitude of 840-1.600 meters. The similarity index (Sørensen 1948) between the localities is as follows: Mochitlán-Atlixac 53%, Mochitlán-Chilpancingo 55%, Mochitlán-Tixtla 48%, Atlixac-Chilpancingo 60%, Atlixac-Tixtla 38% and Chilpancingo-Tixtla 47%; this indicates a greater similarity between Atlixac and Chilpancingo, intermediate regions found at altitudes of 1.210 and 1.360 m, respectively.

The vegetation of Balsas River Basin and the Mexican Pacific slope is mainly deciduous tropical forest, xerophyllous scrub, and lowland oak forest mixed with pine forest at intermediate altitudes. As such, studies of Scarabaeidae Pleurosticti were carried out in the south of Morelos

**Table 3.** Phytophagous Scarabaeidae (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae) species captured by region in Central Guerrero, Mexico. (Numbers correspond to abundance).

Species/ Altitude	Mochitlan 840 m	Atlixac 1210 m	Chilpancingo 1360 m	Tixtla 1600m
<i>Cotinis mutabilis</i>	22	2	27	14
<i>C. pauperula</i>	2	0	7	1
<i>Hologymnetis cinerea</i>	1	2	4	2
<i>Euphoria basalis</i>	0	0	1	12
<i>E. s. leucographa</i>	8	4	3	2
<i>E. dimidiata</i>	3	1	7	1
<i>E. iridescens</i>	0	43	0	0
<i>E. canescens</i>	0	3	0	0
<i>E. vestita</i>	0	0	0	1
<i>E. biguttata</i>	15	8	0	0
<i>E. subtomentosa</i>	67	247	16	35
<i>E. lineoligera</i>	2	1	0	0
<i>E. pulchella</i>	0	2	0	0
<i>E. westermanni</i>	1	0	2	1
<i>Macraspis aterrima</i>	1	0	0	0
<i>Calomacraspis splendens</i>	0	0	1	0
<i>Strigoderma sulcipennis</i>	2	0	0	4
<i>S. tomentosa</i>	1	0	1	0
<i>Anomala forreri</i>	0	2	3	0
<i>A. cincta</i>	0	0	2	0
<i>A. foraminosa</i>	0	0	1	0
<i>A. inconstans</i>	3	25	20	0
<i>Anomala sp.</i>	0	0	31	0
<i>Pelidnota virescens</i>	1	0	0	0
<i>Chrysina macropus</i>	0	2	0	0
<i>Strategus aloeus</i>	7	2	5	2
<i>Cyclocephala lunulata</i>	3	15	148	0
<i>C. stictica</i>	0	0	0	1
<i>C. sexpunctata</i>	0	0	0	1
<i>Golofa imperialis</i>	0	0	0	1
<i>Tomarus nasutus</i>	0	0	1	0
<i>T. sallei</i>	0	0	5	3
<i>Bothynus complanus</i>	0	0	0	5
<i>Chnaunanthus discolor</i>	0	1	3	0
<i>Polyphylla petiti</i>	0	0	0	1
<i>Isonychus ocellatus</i>	0	2	0	1
<i>Diploptaxis megapleura</i>	1	3	0	0
<i>D. cribriceps</i>	0	2	0	0
<i>D. atramentaria</i>	0	30	0	0
<i>D. trapezifera</i>	0	2	0	1
<i>Phyllophaga ardara</i>	1	5	6	14
<i>P. dasypoda</i>	0	0	0	4
<i>P. crinalis</i>	0	1	14	6
<i>P. setifera</i>	0	2	5	0
<i>P. integriceps</i>	0	4	18	0
<i>P. eniba</i>	0	2	2	0
<i>P. disca</i>	0	0	1	0
<i>P. brevidens</i>	1	4	10	2
<i>P. ravidia</i>	0	7	4	0
<i>P. fulviventris</i>	0	0	13	2
<i>P. martinezpalaciosi</i>	0	3	7	0
<i>Phyllophaga sp.</i>	0	2	0	0
<i>P. epulara</i>	1	0	0	0
<i>P. crenonycha</i>	0	23	0	0
<i>P. obsoleta</i>	0	80	0	0
<i>Phyllophaga sp.</i>	1	1	3	0
<i>P. scabripyga</i>	5	38	1	0



**Figura 2.** Relation between altitude (bars) and specific richness (line) by locality of the phytophagous Scarabaeidae (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae) from the Central Region of Guerrero, Mexico (July 1999-June 2000).

and Tepic, Nayarit between 800 and 1.200 masl, where there is deciduous tropical forest. Species richness was 72 and 78 species in these two locales, respectively. In Cuernavaca, Morelos (1.250-1.850 masl) for tropical deciduous forest and *Pinus-Quercus* forest there were 93 species. In Tentzo, Puebla (2.000-2.350 masl) in xerophyll scrub and oak forest there were only 32 species (Deloya *et al.* 1993, 1995; Morón *et al.* 1998, 2000). Considering the altitudinal ranges (350, 400 and 600 masl) and the species richness recorded, in the central region of Guerrero over an altitudinal range of 760 masl, 57 species were recorded; a relatively low number for the

sites located between 850 and 1.850 masl, and relatively high compared to Tentzo, Puebla. Results in central Guerrero suggest that as altitude increases (840 to 1.360 masl) species richness increases (Mochitlán<sub>840m</sub> S = 22, Atlixac<sub>1210 m</sub> S = 34, Chilpancingo<sub>1360 m</sub> S = 32), up to 1.600 masl in Tixtla where it decreases (S = 23).

Based on the feeding habits of Scarab larvae and adults in the regions studied, the following guilds were represented: a) phylo-rizophagous (61.4%), covering *Phyllophaga*, *Diplotaxis*, *Polyphylla*, *Anomala*, *Strigoderma*, *Strategus*, *Cyclocephala* and *Tomarus*; b) sapro-meli-

phagous (28%), grouping *Calomacraspis*, *Cotinis*, *Hologymnetis* and *Euphoria*; c) phylo-xilophagous (3.5%), represented by *Macraspis aterrima* and *Pelidnota virescens*, and d) sapro-rizo-xilophagous (3.5%), which included *Golofa imperialis* and *Chrysina macropus*. Feeding habits are unknown for adults and larvae of the species *Isonychus ocellatus* and *Bothynus complanus*.

The structure of the trophic guilds in central Guerrero suggests that there is a predominance of phylo-rhizophages during spring owing to the reproductive habits of the Melolonthinae: larvae must feed and make it to the third larval instar as quickly as possible because the rainy season – when vegetation renews its foliage and roots are produced – is very short. Sapro-meliphages predominate during autumn when the Asteraceae are flowering and when the cellulose based material that the larvae consume has accumulated (decomposing litter and wood) on the soil. The limited representation of the phylo-rhizophages and the sapro-meliphages could be an indication that small scale removal of wood from the forest could be contributing to the extinction of these populations on a local scale.

**New Records.** Of the total species captured (N=57), 30% (17) represent new records for Guerrero; they correspond to the genera *Anomala*, *Strigoderma*, *Euphoria*, *Phyllophaga*, *Polyphylla* and *Chnaunanthus* (Table 4), making the to-

**Table 4.** New records of phytophagous Scarabaeidae species for the State of Guerrero, Mexico (Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Cetoniinae).

Species	Distribution	New records for Guerrero
<i>Phyllophaga ar dara</i>	Hgo	Mochitlan, Atlixac, Chilpancingo, Tixtla
<i>P. dasy poda</i>	Chis, Oax, Pue, Ver	Tixtla
<i>P. crinalis</i>	Hgo, Pue	Atlixac, Chilpancingo, Tixtla
<i>P. setifera</i>	Hgo, Jal, Mex, Nay, Oax, Pue, Sin	Atlixac, Chilpancingo
<i>P. eniba</i>	Mex, Nay, Sin, Son	Chilpancingo
<i>P. disca</i>	Mex	Chilpancingo
<i>P. brevidens</i>	Jal, Mex, Mor, Nay, Pue, Sin	Mochitlan, Atlixac, Chilpancingo, Tixtla
<i>P. fulviventris</i>	Chis, Col, Jal, Mich, Mor, Nay	Chilpancingo, Tixtla
<i>P. crenonycha</i>	Mex	Atlixac
<i>P. scabrip yga</i>	Oax	Mochitlan, Atlixac, Chilpancingo
<i>Isonychus ocellatus</i>	Sin, Hgo, Oax, Pue, Ver	Atlixac, Tixtla
<i>Polyphylla petiti</i>	Mor, Pue	Tixtla
<i>Chnaunanthus discolor</i>	Gto, Mich, Oax, Pue	Atlixac, Chilpancingo
<i>Anomala forreri</i>	Sin	Atlixac, Chilpancingo
<i>A. foraminosa</i>	BCS, Chis, Hgo, Mor, Oax, Pue, QRo, Sin, Tab, Tamps, Ver	Chilpancingo
<i>Strigoderma tomentosa</i>	Oax	Mochitlan, Chilpancingo
<i>Euphoria canescens</i>	Ags, Gto, Pue, Ver	Atlixac

Ags (Aguscalientes), BCS (Baja California Sur), Chis (Chiapas), Col (Colima), Gto (Guanajuato), Hgo (Hidalgo), Jal (Jalisco), Mex (México), Mich (Michoacán), Mor (Morelos), Nay (Nayarit), Oax (Oaxaca), Pue (Puebla), QRo (Quintana Roo), Sin (Sinaloa), Son (Sonora), Tab (Tabasco), Tamps (Tamaulipas), Ver (Veracruz).

tal present number of phytophagous scarab species 137.

**Agricultural aspects.** In the central part of Guerrero, the so-called "wire worms" (Coleoptera: Elateridae) and "white grubs" (Coleoptera: Scarabaeidae) are serious agricultural pests, having caused great economic losses to basic crops in most temporal zones (Morón 1999, 1988; Cortés *et al.* 1994). Species of *Phyllophaga*, *Diplotaxis*, *Anomala*, *Cyclocephala*, *Strategus* and *Tomarus* could also be considered potential pests, given that in the phylo-rhizophagous guild, there are species with rhizophagous, saprophagous or facultative larvae, as observed for *Cyclocephala lunulata*. This species behaves like a saprophage in soils with a high content of decomposing organic material, and eats the remains of harvested rice and sugar cane crops, but has been observed eating roots in sandy soils with little organic material (DeLOYA 1998).

**Zoogeographical aspects.** The fauna obtained from the central region of Guerrero makes up 5.6% of all phytophagous scarabs recorded in the country and 13.47% of all species recorded in the state. Melolonthinae (24) and Cetoniinae (14) are the subfamilies with the greatest specific richness; *Phyllophaga* and *Euphoria* are the most diverse genera and include 66.66% of species. In terms of genera, six are in the subfamily Rutelinae, five each in Dynastinae and Melolonthinae, and only three in Cetoniinae. The composition of the fauna observed was compared in that of five different regions previously studied: Cuernavaca, southern Morelos, Sierra del Tentzo, Puebla in the Balsas Basin and Chamela, Jalisco, and Tepic, Nayarit on the Mexican Pacific slopes. Similarity (Sørensen 1948) was greatest between southern Morelos (QS = 0.46) and Cuernavaca, Morelos (QS = 0.38; Morón *et al.* 1988, 1998, 2000; DeLOYA *et al.* 1993), compared with Chamela, Jalisco (QS = 0.30), Tepic, Nayarit (QS = 0.29) and Tentzo, Puebla (QS = 0.23). Geographic distance could influence the similarity between the fauna of central Guerrero and that of southern Morelos and Cuernavaca. The latter are the two closest localities, at 123 km and 169 km from the central region of Guerrero and they also share a common biogeographi-

cal history in the Balsas River Basin. This is in contrast to Chamela and Tepic which are farther away from the central region of Guerrero at 577 km and 692 km, respectively. Although Tentzo is located at an intermediate distance (307 km), its altitude and cold climate could be a cause of the low similarity and species richness. The other sites are located at an altitude of 1,200 masl, with the exception of Chamela at 100 masl, which has a humid tropical climate.

#### Acknowledgments

We are grateful to Miguel Angel Morón and Leonardo Delgado for determinations of *Phyllophaga* and *Diplotaxis* species respectively. This work is a contribution to the project "Systematics and ecology of phytophagous and saprophagous insects" of the Department of Entomology (902-08/044), Instituto de Ecología, A.C.

#### References cited

- CORTÉS GENCHI, P.; MARURIS, M. R.; ACEVEDO ROSAS, J. L. 1994. Pruebas en campo con *Metarhizium anisopliae* para el control de la «gallina ciega» en el cultivo del maíz. p. 137. En: 1er. Encuentro de Investigación y Educación Agropecuaria y Forestal en Guerrero.
- DELOYA, C. 1988. Coleópteros Lamellicornios asociados a depósitos de detritos de *Atta mexicana* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) en el sur del estado de Morelos, México. *Folia Entomológica Mexicana* 75: 77-91.
- DELOYA, C.; A. BURGOS, A.; BLACKALLER, J.; LOBO, J. M. 1993. Los coleópteros Lamellicornios de Cuernavaca, Morelos, México (Passalidae, Trogidae, Scarabaeidae y Melolonthidae). *Boletín Sociedad Veracruzana de Zoología* 3 (1): 15-55.
- DELOYA, C.; MORÓN, M. A. 1994. Listados faunísticos de México, V. Coleópteros Lamellicornios del Distrito de Jojutla, Morelos, México (Melolonthidae, Scarabaeidae, Trogidae y Passalidae). Instituto de Biología, UNAM, México. 49 p.
- DELOYA, C.; MORÓN, M. A.; LOBO, J. M. 1995. Coleoptera Lamellicornia (Macleay, 1819) del Sur del Estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 65: 1-42.
- DELOYA, C. 1998. *Cyclocephala lunulata* Burmeister, 1847 (Coleoptera: Melolonthidae, Dynastinae) asociada al cultivo de maíz en Pueblo Nuevo, Morelos, México. p. 121-130. En: Morón M.A.; Aragón A. (eds.). Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros edafícolas americanos. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología.
- GARCÍA, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, México. p. 113-117.
- JAMESON, M. L.; RACTCLIFFE, B. C.; MORÓN, M. A. 1994. A synopsis of the neotropical genus *Calomacraspis* Bates with a key to larvae of the American genera of Rutelini (Coleoptera: Scarabaeidae: Rutelinae) *Annals of the Entomological Society of America* 87 (1): 43-58.
- MORÓN, M. A. 1984. Escarabajos, 200 millones de años de evolución, Publ. 14, Instituto de Ecología, México. 132 p.
- MORÓN, M. A. 1988. Las especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae) con mayor importancia agrícola en México. p. 81-102. En: III Mesa Redonda sobre plagas del suelo. Sociedad Mexicana de Entomología, Morelia, Michoacán, México.
- MORÓN, M. A.; DELOYA, C.; DELGADO, L. 1988. Fauna de coleópteros Melolonthidae, Scarabaeidae y Trogidae de la región de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana*. 77: 313-378.
- MORÓN, M. A. 1997. Inventarios faunísticos de los Coleoptera Melolonthidae neotropicales con potencial como bioindicadores. *Giornale Italiano di Entomologia* 8: 265-274.
- MORÓN, M. A.; RATCLIFFE, B. C.; DELOYA, C. 1997. Atlas de los escarabajos de México, Coleoptera: Lamellicornia, Vol. I, Familia Melolonthidae. Sociedad Mexicana de Entomología, México, México. 274 p.
- MORÓN, M. A.; DELOYA, C.; RAMÍREZ, A. C.; HERNÁNDEZ, S. R. 1998. Fauna de Coleoptera Lamellicornia de la región de Tepic Nayarit. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 75: 73-116.
- MORÓN, M. A. 1999. Coleoptera Melolonthidae. p. 43-59. En: DeLOYA López, A. C.; Valenzuela González, J. E. (eds.). Catálogo de insectos y ácaros plagas de los cultivos agrícolas de México. Sociedad Mexicana de Entomología, Publicaciones Especiales No. 1, México.
- MORÓN, M. A.; ARAGÓN, A.; TAPIA-ROJAS, A. M.; ROJAS-GARCÍA, R. 2000. Coleoptera Lamellicornia de la Sierra del Tentzo, Puebla, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 79: 77-102.
- SØRENSEN, T. 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analysis of the vegetation on Danish commons. *Biologiske Skrifter* 5: 1-34.

## Estructura de las comunidades de Orthoptera (Insecta) en un gradiente altitudinal de un bosque andino

Structure of the Orthoptera communities (Insecta) in an altitudinal gradient of an Andean cloud forest

ANDRÉS SANDOVAL MOJICA<sup>1</sup>, GIOVANNY FAGUA<sup>2</sup>

**Resumen.** Se estudió la variación de la composición, abundancia, riqueza, diversidad y dominancia de las comunidades de ortópteros de un gradiente altitudinal entre los 2.000 y 3.000 m, en un bosque andino del Santuario de Flora y Fauna Guanentá - Alto Río Fonce (Santander, Colombia), entre enero y octubre de 2004. A lo largo del gradiente se ubicaron cinco estaciones de muestreo, una cada 250 m en altitud (a los 2.000 m, 2.250 m, 2.500 m, 2.750 m y 3.000 m). En cada estación se delimitaron cuatro cuadrantes de 50 m x 5 m, donde se realizó captura manual diurna. El muestreo general obtuvo un elevado porcentaje de eficacia (98,8% ACE; 82,2% Jackknife 1). Los análisis de correspondencia destendido y similitud definieron dos comunidades: la integrada por los ortópteros de las estaciones 2.000 - 2.250 m y la de los 2.750 - 3.000 m, evento relacionado posiblemente con las diferencias en la estructura y composición de la vegetación a lo largo del gradiente. La riqueza y la diversidad declinaron directamente con el aumento de la altitud, lo que se relacionó con la reducción de la diversidad y disponibilidad de recursos vegetales en altitudes superiores. La dominancia aumentó con la altitud por el mayor aporte en abundancia de especies generalistas, probablemente de mayor tolerancia a condiciones adversas. La abundancia de ortópteros no presentó una asociación evidente con el nivel altitudinal. Se presentan regresiones lineales para obtener valores de riqueza, diversidad y dominancia de ortópteros.

**Palabras clave:** Ecología de comunidades. Riqueza de Insectos. Altitud. Bosque tropical montano.

**Abstract.** The variation in composition, abundance, richness, diversity and dominance of the orthopteran communities was studied along an altitudinal gradient, between 2.000 and 3.000 m, in an Andean forest at "Santuario de Flora y Fauna Guanentá - Alto Río Fonce" (Santander, Colombia), from January to October of 2004. Five surveys sites were established along the length of the gradient, one every 250 m in altitude (at 2.000 m, 2.250 m, 2.500 m, 2.750 m and 3.000 m). Four 50 m x 5 m quadrants were laid out at each station where daytime manual sampling was conducted. The general sampling had a high percentage of efficiency (98.8 % ACE; 82.2 % Jackknife 1). The correspondence analysis and the similarity coefficients defined two communities: that comprised of orthopterans from the stations at 2.000 m – 2.250 m and at 2.750 m – 3.000 m, possibly due to the differences in vegetation structure and composition along the gradient. Species richness and diversity decreased directly with increasing altitude, related to the reduction in the diversity and availability of plant resource at higher elevations. Dominance increased with altitude due to a higher contribution of generalist species, probably due to greater tolerance of adverse conditions. There was no evident association between orthopteran abundance and elevation. Linear regressions to obtain values of orthopteran richness, diversity and dominance are presented.

**Key words:** Community ecology. Insect richness. Altitude. Tropical mountain forest.

### Introducción

Estudiar la distribución de plantas y animales a lo largo de gradientes ambientales puede evidenciar los factores que gobiernan y mantienen la diversidad de especies en el planeta (Sanders 2002). Dentro de la variación altitudinal de la fauna, la relación existente entre la riqueza de especies y la elevación es un patrón ecológico frecuentemente documentado pero polémico, debido a que generalizaciones o expli-

caciones universales del fenómeno no han podido ser desarrolladas. Esto se debe a que el comportamiento de la curva de riqueza de especies es muy variado, ya que puede diferir entre taxones idénticos o disímiles y cambiar local o regionalmente (Rahbek 1995).

Existen dos patrones generales de la asociación entre la altitud y la riqueza de especies (Lomolino 2001; Rahbek 1995): una disminución de la riqueza con el aumento de la elevación (Brehm y Fiedler

2004, 2003; Brehm *et al.* 2003; Lobo y Halffter 2000; Davis *et al.* 1999; IAvH 1999; Fisher 1996; Lobo 1992; McCoy 1990; Lawton *et al.* 1987; Wolda 1987; Hebert 1980; Claridge y Singhrao 1978; Alexander y Hillard 1969) o una relación en forma de joroba, en donde los valores máximos de riqueza se observan en las altitudes medias (Escobar *et al.* 2005; Braun 2002; Sanders 2002; Pycz y Wojtusiak 2002; Donovan *et al.* 2002; Blanche y Ludwig 2001; Fagua 1999; IAvH 1999; Rincón 1999; Fleishman *et*

<sup>1</sup> Laboratorio de Entomología. Pontificia Universidad Javeriana. Biólogo, email:artropodo\_sandoval@hotmail.com

<sup>2</sup> Autor para correspondencia. Profesor Asistente. M.Sc., Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 # 43-82, Edificio 53. Laboratorio 106b. Email: fagua@javeriana.edu.co

al. 1998; Gutiérrez y Menéndez 1995; Rahbek 1995; Olson 1994; McCoy 1990; Morón y Terrón 1984; Janzen *et al.* 1976; Janzen 1973).

Por lo menos cuatro razones han sido sugeridas para explicar el decline directo de la riqueza de especies con el aumento de la altitud (Lawton *et al.* 1987): disminución del área de los hábitats con la altitud; reducción de la diversidad de recursos; aumento de ambientes hostiles y extremos con la altitud; y reducción de la productividad primaria en altitudes elevadas. Por otro lado, se han propuesto diferentes mecanismos para explicar la cresta de la riqueza de especies en altitudes medias. McCoy (1990), con base en varios estudios, ha planteado dos procesos: el primero, “los finales son malos”, enfatiza la restricción ambiental sobre la distribución de las poblaciones de insectos. Los límites superiores de la distribución de las especies están establecidos principalmente por la severidad climática y la restricción de recursos, mientras que los límites inferiores están determinados esencialmente por la veleidad del clima y la depredación (Fleishman *et al.* 1998; Gutiérrez y Menéndez 1995; Randall 1982). El segundo proceso, “la mitad es buena”, recalca el incremento de los recursos disponibles en altitudes intermedias. Se asume que las tasas fotosintéticas y respiratorias de las plantas son mayores en altitudes bajas y menores en altitudes elevadas; como resultado, la acumulación neta de compuestos fotosintéticos es superior en altitudes medias. El aumento de la productividad primaria neta en estos niveles altitudinales intermedios se debe a que las plantas emplean menos fotosintato diario en la respiración nocturna, debido a que la temperatura del periodo nocturno no es tan alta como en las tierras bajas ni tan baja como en las cumbres montañosas. El fotosintato extra de las plantas provee a los insectos herbívoros de un recurso base mayor, lo que incrementa sus densidades poblacionales y la de los insectos omnívoros y carnívoros de los que son recurso (Janzen *et al.* 1976; Janzen 1973).

Rahbek (1995) presentó una revisión de literatura crítica sobre los patrones de la riqueza de especies en relación con la altitud, demostrando que la mayoría de estudios detectan los máximos valores de riqueza en altitudes medias. Discute también la influencia del régimen de muestreo y del efecto del área, factores que influyen drásticamente en la relación altitud – riqueza. En Colombia se han rea-

lizado pocos trabajos sobre variación altitudinal de la fauna de artrópodos, centrándose la mayoría en escarabajos coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae), mariposas (Lepidoptera: Papilionoidea, Hesperioidea) y hormigas (Hymenoptera: Formicidae). Escobar y Valderrama (1995) realizaron una comparación de la distribución altitudinal de coleópteros coprófagos, arañas orbiculares y hormigas en el costado Oeste de la Cordillera Occidental, encontrando un patrón de riqueza y abundancia diferente para cada taxón: declinación en coleópteros coprófagos con la altitud, mayor riqueza en elevaciones intermedias en arañas y ninguna asociación para hormigas. Amat y Reyes-Castillo (1996) definen dos grupos altitudinales que componen la fauna pasávida (Coleoptera: Passalidae) del país: las especies de Tierras Bajas (0 – 1.000 m) y las de Tierras Altas (1.000 – 2.800 m). Estos mismos autores encuentran comportamientos opuestos para la relación de riqueza de pasávidos con la altitud: declinación en Girardot–Soche, e incremento en Honda-Aguadas (Amat y Reyes-Castillo 1999), aunque un análisis de su tabla de distribución de especies de la Cordillera Oriental revela una curva con incremento de la riqueza a altitudes intermedias. Fagua (1999) en un gradiente en la Cordillera Oriental, encontró una correlación inversa entre la altitud, la riqueza (con una cresta en las altitudes medias para mariposas) y la diversidad, así como una correlación positiva entre la altitud y la dominancia de especies. El patrón de mayor riqueza intermedia es registrado también por Escobar y Fagua para escarabajos coprófagos y mariposas, respectivamente, en varios gradientes andinos, dentro del trabajo general de caracterización de la biota del flanco oriental de la Cordillera Oriental (IAvH 1999). Así mismo, Rincón (1999), para tricópteros, y Barriga (2000), para arañas orbiculares, observaron mayor diversidad y abundancia en altitudes intermedias. Arias y Huertas (2001) mencionan, aunque no presentan, una declinación de la riqueza de especies de mariposas con la altitud. Prieto (2003) presenta un trabajo en mariposas satirinas. Escobar *et al.* (2005), en seis transectos del flanco oriental de la Cordillera Oriental, ratifican el modelo de incremento de la riqueza de escarabajos coprófagos a alturas intermedias.

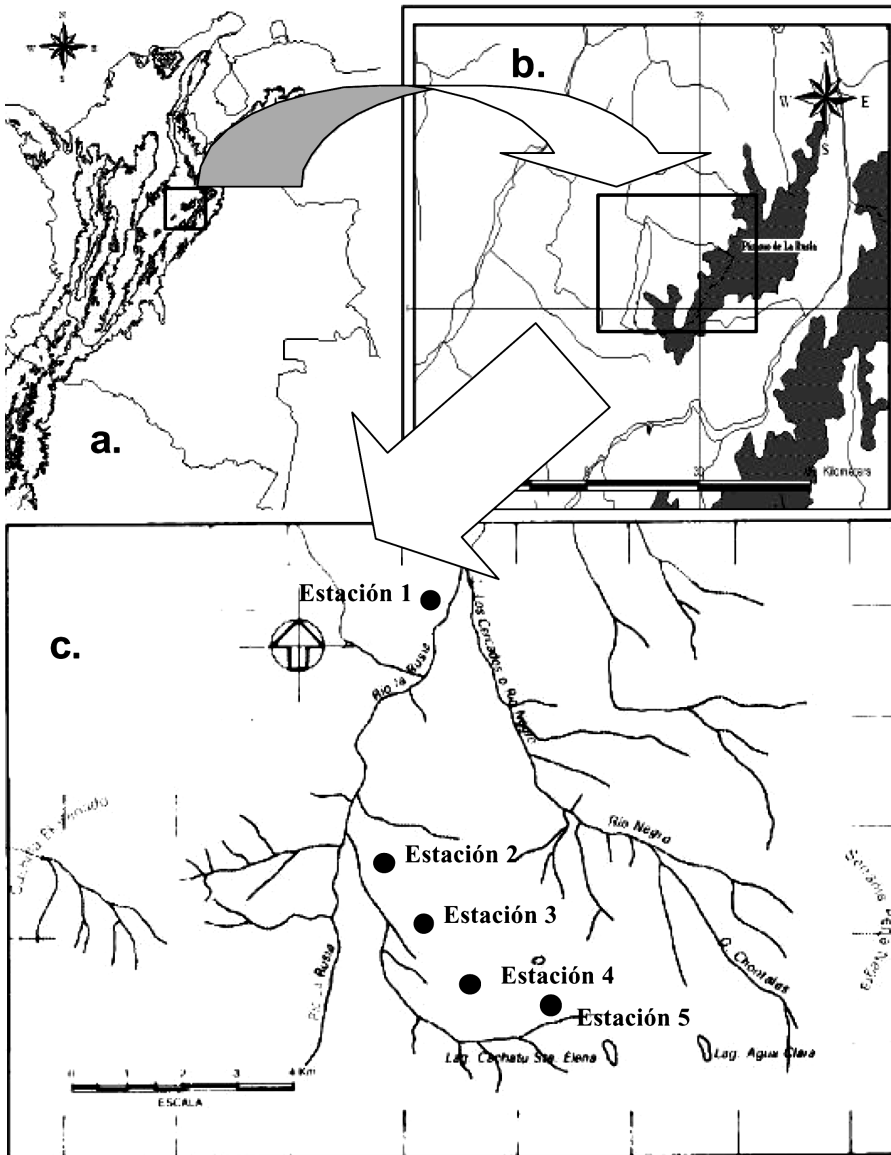
Pese a los trabajos mencionados, es insuficiente la información en la distribución altitudinal de los organismos, en especial de insectos (Sanders 2002); lo que

demanda su obtención para revelar si existe un patrón general o no, o por qué éste varía. Es necesario un entendimiento profundo de la distribución altitudinal de estos artrópodos para evaluar la efectividad de las estrategias de conservación de los sistemas montañosos tropicales, ya que estos organismos representan la mayoría de especies en los bosques tropicales y típicamente exponen, junto con las plantas, la diversidad beta más alta (Olson 1994).

Por lo tanto, el presente estudio describe la variación en la riqueza, diversidad y composición de la comunidad de ortópteros a lo largo de un gradiente altitudinal, comprendido entre los 2.000 m y los 3.000 m, en un bosque andino del municipio de Encino (Santander, Colombia), en predios del Santuario de Fauna y Flora Guantá - Alto Río Fonce. El estudio empleó puntos de muestreo detallados a diferentes altitudes, en donde se evaluaron las propiedades emergentes de la comunidad de ortópteros; utilizados por ser uno de los tres taxones más importantes en el aporte de biomasa de artrópodos en ecosistemas arbóreos (Greenberg y Forrest 2003). Además, los ortópteros son de gran importancia en la dinámica de las redes tróficas de los biomas tropicales por constituir una fuente primaria de proteína animal para primates, roedores, murciélagos, aves, reptiles, y anfibios entre los vertebrados, y arañas, avispas, hormigas, mantis y otros insectos (Nickle 1992a, 1992b).

## Materiales y Métodos

**Área de estudio.** La investigación se realizó en el costado occidental de la Cordillera Oriental, en predios del Santuario de Fauna y Flora Guantá - Alto Río Fonce, correspondientes a la vereda Río Negro, municipio de Encino, Santander (Fig. 1). El clima del área se encuentra en la transición entre el tropical húmedo tipo isotérmico hacia el isomicrotérmico (según la clasificación de Koeppen), con temperaturas promedio de 21°C. El régimen de lluvias es de tipo bimodal, con valores máximos entre abril-mayo y octubre – noviembre y una precipitación anual promedio de 1.950 mm (UAESPNN 1998). El relieve se caracteriza por ser quebrado y escarpado, debido a la estructura de anticlinales, con plegamientos y fallas que han sido labrados en profundos valles fluvio-glaciales (UAESPNN 1998). El santuario conserva el reducto forestal más grande y de mayor



**Figura 1.** a. Localización del área de estudio. b. Santuario de Flora y Fauna Guanentá-Alto Río Fonce; municipio de Encino (Santander) c. Acercamiento a los sitios de estudio **Estación 1.** 2.000 m ( $6^{\circ}3'42''\text{N}$  y  $73^{\circ}08'4''\text{W}$ ). **Estación 2.** 2.250 m ( $6^{\circ}02'19''\text{N}$  y  $73^{\circ}07'12''\text{W}$ ). **Estación 3.** 2.500 m ( $6^{\circ}1'32''\text{N}$  y  $73^{\circ}06'28''\text{W}$ ). **Estación 4.** 2.750 m ( $6^{\circ}01'10''\text{N}$  y  $73^{\circ}05'56''\text{W}$ ). **Estación 5.** 3.000 m ( $6^{\circ}00'55''\text{N}$  y  $73^{\circ}05'48''\text{W}$ ).

representatividad altitudinal de los bosques de la vertiente occidental del área del alto río Fonce; se pueden diferenciar como formaciones vegetales dominantes los bosques húmedos montanos (sub-montanos a montano alto) y páramo. En el bosque sobresalen las asociaciones de roble (*Quercus humboldtii*), especie registrada como dominante, seguida por especies de los géneros *Clusia* y *Miconia*, así como algunos representantes de las familias Lauraceae y Araliaceae (UA-ESPNN 1998). Del Pino (2006) y Ríos (2006) presentan un detallado análisis de la vegetación del área de estudio.

De acuerdo con Acosta *et al.* (2006), en los sitios específicos de trabajo se obser-

varon, a lo largo del gradiente, 212 especies vegetales, siendo las familias más ricas Melastomataceae, Rubiaceae, Araliaceae, Lauraceae, Arecaceae, Clusiaceae y Euphorbiaceae. La abundancia y riqueza presentaron una disminución con la altitud (Tabla 1). Entre los 2.000 y los 2.500 m no se compartieron las especies con índice de valor de importancia (IVI) e índice de predominio fisonómico (IPF) más altos (Tabla 2): para los 2.000 m los valores respectivos más elevados fueron para *Clusia* sp.1; a los 2.250 m los alcanzó Rubiaceae sp.5. A partir de los 2.500 m *Quercus humboldtii*, en general, fue dominante tanto para IVI como para IPF (Tabla 2). Los valores de IVI e IPF presentaron un aumento con la altitud, com-

partiendo la misma especie los más altos valores en varios casos.

**Fase de campo.** Se realizaron tres muestreos; el primer muestreo se llevó a cabo entre enero y mayo de 2004, comprendiendo periodo seco y periodo lluvioso, mientras que el segundo y tercer muestreo correspondieron, respectivamente, a periodo seco (junio – julio 2004) y lluvioso (septiembre – octubre 2004).

Los sitios de muestreo fueron seleccionados dentro de los bosques primarios pertenecientes a las cuencas de los ríos La Rusia y Cercados (Fig. 1), empleando para su ubicación geográfica (coordenadas y altitud) altímetro y sistema de posicionamiento global (GPS). Sobre el gradiente se ubicaron cinco estaciones de muestreo separadas entre sí por 250 m en altitud, iniciando desde la cota altitudinal más baja que presentó el área de estudio, para el caso los 2.000 m, hasta obtener un gradiente de 1.000 m (estaciones a los: 2.000 m, 2.250 m, 2.500 m, 2.750 m y 3.000 m; Fig. 1).

En cada altitud o estación se delimitaron cuatro cuadrantes de 50 m x 5 m, separados entre sí por una distancia igual o superior a los 25 m. En los cuadrantes se realizó captura manual diurna de todos los insectos pertenecientes al orden Orthoptera; el muestreo se hizo sistemáticamente recorriendo los cuadrantes en un zigzag irregular, removiendo exhaustivamente la hojarasca presente, revisando el fuste y el follaje (haz y envés de las hojas) de árboles y arbustos, inspeccionando detenidamente las epífitas, líquenes y briofitos, escudriñando entre troncos caídos y levantando rocas. Todos los cuadrantes fueron recorridos dos veces en direcciones contrarias (cinco horas por recorrido) en cada uno de los muestreos efectuados; para un total de 120 horas de esfuerzo de muestreo por estación (40 horas por estación por salida) y 600 h de muestreo efectivo para el estudio. También se instalaron 20 trampas tipo pitfall por estación que permanecieron activas por 48 horas (dos días con sus noches). No obstante, dada su comparativamente muy baja eficiencia de colecta y representatividad, no fueron contempladas en el presente análisis.

**Fase de laboratorio.** Los ortópteros recolectados se conservaron en alcohol al 70%, debidamente rotulados. Para la identificación de los ortópteros se utilizaron: las claves e ilustraciones de Rentz (1996) para la determinación de familias y



**Tabla 1.** Valores de abundancia y riqueza de plantas leñosas por estación altitudinal (*sensu* Acosta *et al.* 2006).

Altitud	Cuadrante	Abundancia	Riqueza (Nºespecies)
2000 m	1	100	38
	2	58	23
	3	117	27
	4	99	36
	Promedio	93,5	31
	SD*	25,06	7,16
	SE*	12,53	3,58
2250 m	1	68	29
	2	81	35
	3	74	26
	4	156	38
	Promedio	94,75	32
	SD	41,17	5,47
	SE	20,58	2,73
2500 m	1	81	26
	2	82	32
	3	56	18
	4	133	33
	Promedio	88	27,25
	SD	32,32	6,9
	SE	16,16	3,44
2750 m	1	100	30
	2	89	27
	3	98	23
	4	95	22
	Promedio	95,5	25,5
	SD	4,79	3,7
	SE	2,4	1,84
3000 m	1	39	10
	2	62	19
	3	37	14
	4	60	18
	Promedio	49,5	15,25
	SD	13,32	4,11
	SE	6,66	2,05

\*Sd: Desviación Estándar; SE: Error Estándar.

**Tabla 2.** Valores más altos de índice de predominio fisonómico (IPF) e índice de valor de importancia (IVI) de especies de plantas leñosas para cada estación altitudinal (*sensu* Acosta *et al.* 2006).

Estación	IPF	Especie	IVI	Especie
2000 m	38.9	<i>Clusia</i> sp. 1	31.5	<i>Clusia</i> sp. 1
	36.7	Rubiaceae sp. 5	18.7	Rubiaceae sp. 5
	16.9	<i>Ficus</i> sp. 2	13.3	<i>Piper</i> sp. 4
2250 m	51	Rubiaceae sp.5	33.5	Rubiaceae sp. 5
	16	Indeterminada 4	13.5	Indeterminada 5
	12.6	<i>Clusia</i> sp. 2	10.4	<i>Billia</i> sp. 1
2500 m	59.6	<i>Quercus humboldtii</i>	35.7	Indeterminada 5
	43.4	Indeterminada sp. 7	30.6	<i>Quercus humboldtii</i>
	22.4	Solanaceae sp. 3	20.2	Solanaceae sp. 3
2750 m	103.9	<i>Quercus humboldtii</i>	67.3	<i>Quercus humboldtii</i>
	18.1	Rubiaceae sp. 6	15.7	Rubiaceae sp. 7
	16.6	<i>Clusia</i> sp.3	13.6	Cyatheaceae sp. 1
3000 m	145.2	<i>Quercus humboldtii</i>	94.4	<i>Quercus humboldtii</i>
	21.7	Melastomataceae sp. 4	20.5	Melastomataceae sp. 4
	17.6	Indeterminada sp. 8	16	<i>Meriania</i> sp. 1

subfamilias de Ensifera y Caelifera; las claves e ilustraciones de Nickle (1992a, 1992b) para la identificación de subfamilias y géneros de Ensifera únicamente; y el catálogo ilustrado de Naskrecky y Otte (1999) para corroborar los géneros obtenidos de la familia Tettigoniidae. También se consultaron los estudios de Hebard (1927, 1933) realizados en Colombia.

Aunque estas fuentes permitieron identificar familias, subfamilias y géneros, debido a la ausencia de claves taxonómicas a especie se optó por establecer morfoespecies, es decir, un patrón morfológico definido, constante, independiente del tamaño, y distinguible de los otros patrones morfológicos. El nivel de desarrollo que se empleó para la determinación de ortópteros fue principalmente de adultos pero se tuvieron en cuenta también ninfas cuyas características morfológicas permitieran asociarlas con ejemplares adultos. El material está depositado en la Colección Entomológica del Museo Javeriano de Historia Natural (MPUJ).

**Análisis de datos.** Con la información recolectada, se elaboraron matrices con el número de ejemplares obtenidos de cada morfoespecie en las cinco estaciones, para cada muestreo. Para los tres muestreos independientes y el muestreo total se obtuvo la riqueza de morfoespecies observada y estimada para cada altitud mediante los estimadores Chao 1, Jackknife 1, ACE, MMMean y Coleman, junto con sus respectivas curvas de acumulación mediante el programa EstimateS versión 6.0b1 (Colwell 1994 - 2000). La diversidad fue descrita a través del índice de heterogeneidad de Shannon y el índice de dominancia de Simpson (Magurran 1989). La diversidad  $\beta$  de las estaciones de muestreo y su composición se comparó mediante análisis de similitud, empleando el coeficiente de Jaccard y el método de ligamiento por la media aritmética no ponderada (UPGMA), mediante el programa PAST-PALaeontological STatistics (Ryan *et al.* 1995). Se realizó también un análisis de correspondencia “destendido” (DCA) para observar la ordenación entre las estaciones, en los tres muestreos efectuados y el grado de asociación con las especies presentes en cada altitud, por medio del programa PCORDWIN (McCune y Mefford 1997).

Los datos de abundancia, riqueza, diversidad o dominancia por cuadrante, para cada estación altitudinal, en el muestreo total y en los tres muestreos independientes, fueron comparados mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) o

pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, dependiendo de lo obtenido en las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas. Pruebas paramétricas a posteriori LSD fueron aplicadas para identificar cuales eran las estaciones significativamente disímiles entre sí, de acuerdo con la variable observada. El grado de asociación entre el nivel altitudinal y las variables evaluadas, tanto para el muestreo total como para los tres muestreos independientes se estableció por medio del coeficiente de correlación Pearson ( $r_p$ ) o el coeficiente de correlación de Spearman ( $r_s$ ). Para aquellas variables que presentaron correlaciones significativas, se realizaron regresiones lineales para establecer una relación de dependencia funcional entre las variables estudiadas; es decir, un cambio estimable en las variables estudiadas según la variación en la altitud. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas mediante el programa STATISTICA versión 6.0 (StatSoft Inc. 2001).

## Resultados

**Riqueza, eficiencia del muestreo y composición.** Se capturaron en total de 4.128 ortópteros, identificándose 56 morfoespecies contenidas en 16 subfamilias, siete familias, siete superfamilias y dos subórdenes (Anexo 1). Las morfoespecies *Eugryllina* sp.1 y *Eugryllina* sp.2 (Gryllidae, Phalangopsinae) fueron los taxones más abundantes en las cinco altitudes y en los tres muestreos; junto con *Acla* sp. 2, fueron también las únicas presentes a lo largo de todo el gradiente (Tabla 3). Los valores de abundancia por especie y por altitud revelaron un continuo decrecimiento para la gran mayoría de los taxones; algunos fueron más abundantes a altitudes intermedias y solamente seis fueron exclusivas de las dos últimas estaciones, a las que se adicionaron las tres únicas especies comunes a todo el gradiente (Tabla 3).

Los estimadores y las curvas de acumulación de especies indicaron un elevado porcentaje de eficacia del muestreo general a lo largo de todo el gradiente altitudinal (Fig. 2a), comprendiendo las capturas entre el 98,8% (según el estimador ACE) y el 82,2% (Jackknife 1) de las morfoespecies esperadas. Se observó una coincidencia entre el número de las morfoespecies que son representadas en la muestra por solo un individuo (singletons) y las morfoespecies representadas exactamente por dos individuos (doubletons; Fig. 2a), lo que es considerado

indicador de muestreo con eficiencia “óptima”, es decir, que contempla la gran mayoría de las especies que tiene el ecosistema para el muestreo efectuado (Mao y Colwell 2005). De igual forma, los estimadores y las curvas de acumulación de especies indicaron un muestreo eficiente para cada estación en altitud, aunque con el efecto local del aporte de las especies raras (*sensu* Mao y Colwell 2005), que no permite el obtener un óptimo: 2.000 m obtuvo entre el 93,8% (MMMean) y el 76,1% (ACE) de lo esperado (Fig. 2b); 2.250 m entre un 87% (MMMean) y un 74,1% (Jackknife 1; Fig. 2c); 2.500 m entre un 91% (Chao 1) y un 80,7% (Jackknife 1; Fig. 2d); 2.750 m entre un 88,5% (MMMean) y un 58,7% (Chao 1; Fig. 2e); 3.000 m entre un 93,4% (MMMean) y un 62,3% (ACE) de las morfoespecies esperadas (Fig. 2f). Lo anterior permite suponer que el muestreo general y por estación constituyó una muestra representativa de las comunidades estudiadas.

Al evaluar la similitud entre las muestras de las cinco altitudes en la totalidad del muestreo (Jaccard cualitativo; Fig. 3) fue posible distinguir dos grupos: las estaciones de 2.750 m y 3.000 m, que se asociaron en un 60%, y las altitudes de 2.000 m y 2.250 m, que se agruparon con un porcentaje de semejanza del 54,76%; la tercera estación (2.500 m) se relacionó más al grupo 2.750 m - 3.000 m con un porcentaje de similitud del 43% (Fig. 3). Si bien la similitud fue baja, la aun más baja relación entre los dos grupos extremos de estaciones permite suponer, de acuerdo con su composición, que se trata de dos comunidades diferentes.

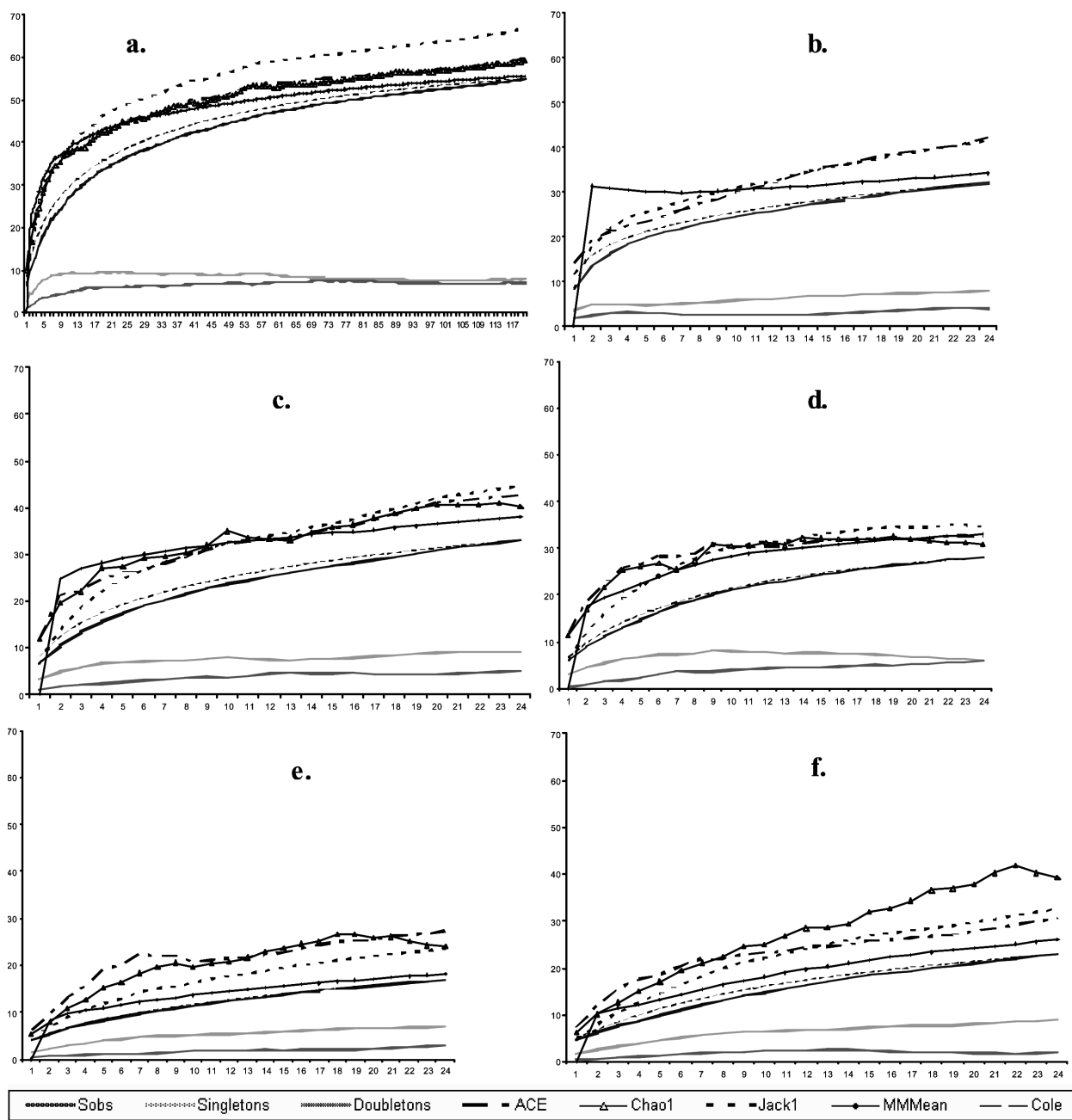
El análisis de correspondencia destendido (DCA), empleando todas las morfoespecies de los tres muestreos (Fig. 4), ordenó los datos en dos ejes principales los cuales presentaron valores *eigen* de 0.250 y 0.112 respectivamente; estos valores expresaron un reducido grado de asociación entre las morfoespecies de ortópteros y las tres muestras obtenidas en cada una de las cinco altitudes. Sin embargo, se observó un agrupamiento por parte de las muestras pertenecientes a la misma elevación y una organización de las altitudes en forma secuencial de derecha a izquierda (2.000-2.250-2.500-2.750-3.000 m; Fig. 4); fue posible apreciar también una gran semejanza entre los tres muestreos en las dos últimas estaciones del gradiente altitudinal (2.750 m y 3.000 m). Por otra parte, los dos ejes presentaron una baja diversidad beta total (longitud del gradiente del eje

1 = 1.458, longitud del gradiente del eje 2 = 1.202), es decir que los extremos opuestos en los ejes expusieron especies comunes. Aunque la fuerza de la relación entre las altitudes y las morfoespecies fue baja, se observó que estas últimas se ubicaron cerca de las elevaciones en las cuales fueron capturadas, o por lo menos en el mismo cuadrante, lo que permite diferenciar ortópteros de altitudes bajas (2.000 m y 2.250 m), intermedias (2.500 m) y elevadas (2.750 m y 3.000 m).

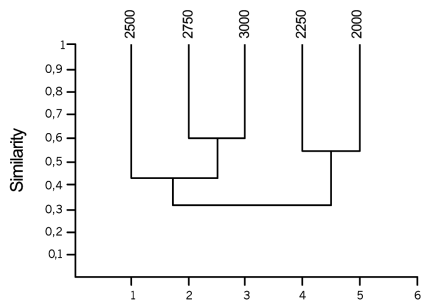
Para confirmar esta organización se realizó otro análisis de correspondencia destendido (Fig. 5) eliminando las dos morfoespecies más abundantes (*Eugryllina* sp.1 y *Eugryllina* sp.2). De igual forma se apreció un agrupamiento por parte de las muestras de cada altitud y un ordenamiento de las altitudes en forma secuencial, pero el grado de asociación entre las morfoespecies de ortópteros y las cinco altitudes fue elevado para el primer eje (*eigenvalue* = 0.720); lo anterior corrobora la diferenciación de ortópteros de altitudes elevadas (3.000 y 2.750 m), medias (2.500 m) y bajas (2.250 y 2.000 m). La diversidad beta total para el primer eje aumentó también (longitud del gradiente del eje 1 = 3.801), al eliminar las dos morfoespecies más abundantes, las cuales estuvieron presentes en todas las estaciones.

**Relación entre las variables de la comunidad de ortópteros y altitud.** La abundancia total de morfoespecies presentó una correlación positiva con el nivel altitudinal en el primer muestreo ( $r_p=0.78$ ,  $p<0.01$ ,  $N=20$ ), una correlación negativa en el segundo ( $r_p=-0.46$ ,  $p=0.04$ ,  $N=20$ ) y ninguna en el tercero ( $r_p=-0.078$ ,  $p=0.743$ ,  $N=20$ ). Tampoco presentó relación alguna en el muestreo general ( $r_p=0.032$ ,  $p=0.808$ ,  $N=60$ ; Fig. 5a, b). Por el contrario, la riqueza de ortópteros exhibió una asociación negativa con la altitud en el segundo ( $r_p=-0.906$ ,  $p<0.01$ ,  $N=20$ ) y tercer muestreo ( $r_p=-0.845$ ,  $p<0.01$ ,  $N=20$ ), así como en el muestreo total ( $r_s=-0.78$ ,  $p<0.01$ ,  $N=60$ ; Fig. 5d), presentándose los mayores valores de riqueza en la altitud más baja del gradiente (2.000 m; Fig. 5c, d). No se encontraron diferencias significativas en la riqueza de las cinco estaciones para el primer muestreo (Kruskal-Wallis = 8.09,  $p=0.88$ ,  $N=20$ ), pero si una correlación negativa con la altitud ( $r_s=-0.61$ ,  $p<0.01$ ,  $N=20$ ).

Igualmente, la diversidad (Shannon) disminuyó con el incremento de la altitud (Fig. 6e, f) en cada uno de los tres muestreos (primero:  $r_p=-0.87$ ,  $p<0.01$ ,



**Figura 2.** Curvas de acumulación de especies observadas y estimadas. **a.** Muestreo total unificando las cinco estaciones estudiadas. **b.** Muestreo total estación uno (2.000 m). **c.** Muestreo total estación dos (2.250 m). **d.** Muestreo total estación tres (2.500 m). **e.** Muestreo total estación cuatro (2.750 m). **f.** Muestreo total estación cinco (3.000 m). ACE, Chao1, Jack1, MMMean y Cole: estimadores de riqueza *sensu* Colwell (1994-2000).



**Figura 3.** Dendrograma de similitud entre las cinco estaciones del gradiente altitudinal, utilizando el coeficiente de Jaccard para la totalidad del muestreo de ortópteros.

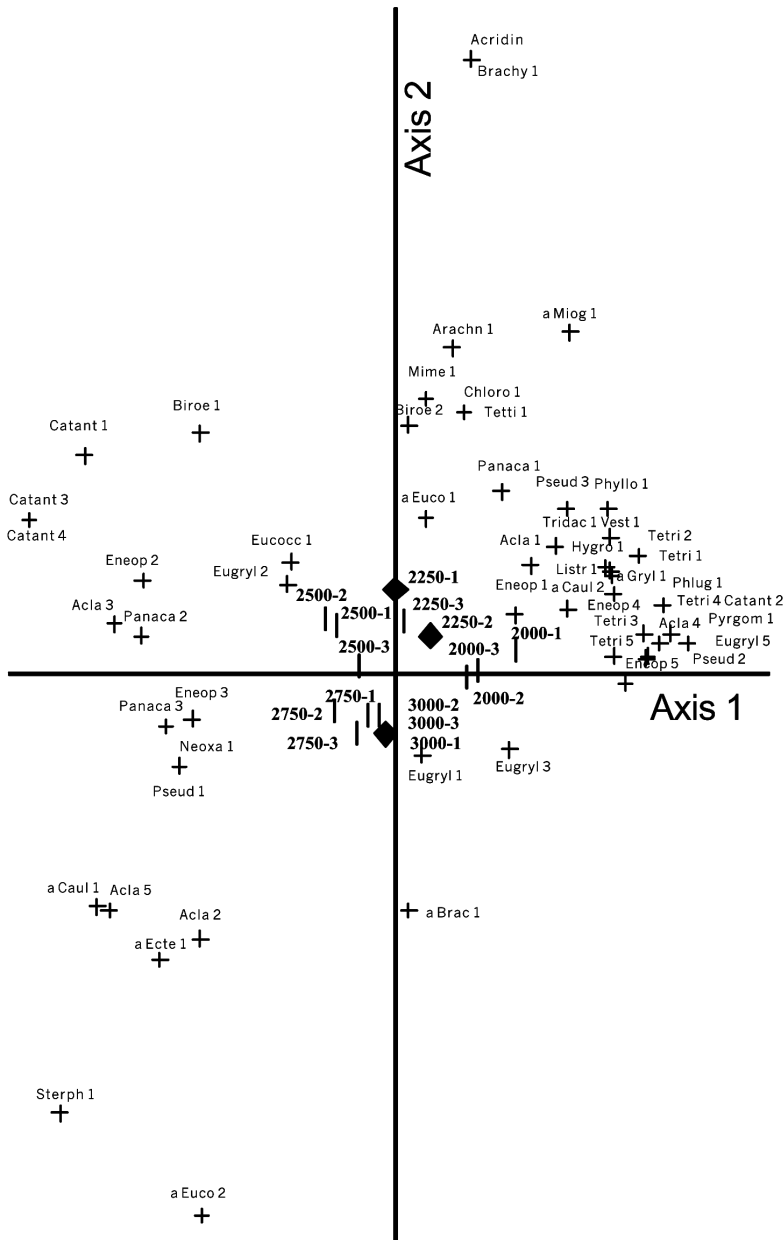
N= 20; segundo:  $r_p = -0.822$ ,  $p < 0.01$ , N= 20; tercero:  $r_p = -0.815$ ,  $p < 0.01$ , N= 20) y en el muestreo general ( $r_p = -0.831$ ,  $p < 0.01$ , N= 60; Fig. 6f). Pese a un aparente comportamiento inverso en cuanto a la diversidad de las dos primeras estaciones (Fig. 6e), las pruebas a posteriori LSD no revelaron diferencias significativas entre la primera y la segunda estación (primer muestreo:  $p = 0.845$ ; segundo muestreo:  $p = 0.802$ ), lo que esclareció la propensión de la diversidad a disminuir con el aumento del nivel altitudinal. La dominancia (Simpson), por el contrario,

se correlacionó positivamente con la altitud (Fig. 5g, h), tendencia observada en cada uno de los tres muestreos efectuados (primero:  $r_p = 0.88$ ,  $p < 0.01$ , N= 20; segundo:  $r_p = 0.67$ ,  $p < 0.01$ , N= 20; tercero:  $r_p = 0.818$ ,  $p < 0.01$ , N= 20) y en el total ( $r_p = 0.79$ ,  $p < 0.01$ , N= 60; Fig 5h), presentándose los mayores valores de dominancia en la última estación del gradiente altitudinal (3.000 m).

Las ecuaciones de las regresiones lineales simples relacionan valores conocidos de altitud con valores predecibles de la

**Tabla 3.** Abundancia de ortópteros por estación y por muestreo.

Especie/Altitud (m)	Primer muestreo					Segundo muestreo					Tercer muestreo				
	2.000	2.250	2.500	2.750	3.000	2.000	2.250	2.500	2.750	3.000	2.000	2.250	2.500	2.750	3.000
<i>Acla</i> sp.1	0	0	1	0	0	7	2	5	0	0	9	2	2	0	0
<i>Acla</i> sp.2	0	1	3	12	10	5	1	5	29	3	3	1	2	31	12
<i>Acla</i> sp.3	0	1	3	0	1	0	0	3	5	0	0	0	1	1	0
<i>Acla</i> sp.4	0	1	1	0	1	0	0	5	2	0	0	0	1	4	0
<i>Acla</i> sp.5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0
<i>Acla</i> sp.6	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	3	0
Acridinae sp.1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>aff. Brachyauchenus</i> sp.1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
<i>aff. Brachyauchenus</i> sp.2	0	1	0	0	0	0	4	3	0	1	1	2	2	1	0
<i>aff. Caulopsis</i> sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0
<i>aff. Caulopsis</i> sp.2	2	0	0	1	0	4	10	1	0	0	4	1	1	0	0
<i>aff. Ectemma</i> sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
<i>aff. Eucocconotus</i> sp.3	0	0	0	0	4	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>aff. Gryllodes</i> sp.1	8	2	4	0	0	33	9	5	0	0	39	2	0	0	0
<i>aff. Miogryllus</i> sp.1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Arachnoscelis</i> sp.1	0	5	3	0	0	0	3	0	0	0	0	5	0	0	0
<i>Santanderia insignis</i>	1	11	16	0	0	0	2	35	0	0	0	5	9	0	0
<i>Temnomastax</i> sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
<i>Brachyauchenus</i> sp.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Catantopinae sp.1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Catantopinae sp.2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Catantopinae sp.3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Catantopinae sp.4	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chloroscirtus</i> sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Eneoptera</i> sp.1	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0
<i>Eneoptera</i> sp.2	0	0	1	0	0	0	0	3	1	2	0	1	4	4	0
<i>Eneoptera</i> sp.3	0	0	0	4	1	0	0	0	0	4	0	0	4	2	4
<i>Eneoptera</i> sp.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>Eneoptera</i> sp.5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eucocconotus</i> sp.1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	4	0	0	2	1	0
<i>Eugryllina</i> sp.1	76	34	64	146	265	229	78	99	139	169	192	67	139	187	235
<i>Eugryllina</i> sp.2	5	38	101	62	34	52	68	204	118	54	47	59	106	68	51
<i>Eugryllina</i> sp.3	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Eugryllina</i> sp.5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	0	0	0	0
<i>Hygronemobius</i> sp.1	2	2	0	0	0	12	11	0	0	0	18	6	0	0	0
Listroscolidinae sp.1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1	0	0	0
<i>Mimetica</i> sp.1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0
<i>Neoxabea</i> sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Panacanthus</i> sp.1	2	2	2	0	0	0	3	2	0	0	4	5	1	0	1
<i>Panacanthus</i> sp.2	0	0	4	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Panacanthus</i> sp.3	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2
<i>Phlugis</i> sp.1	6	1	0	0	0	8	3	0	0	0	12	0	0	0	0
<i>Phylloscirtus</i> sp.1	8	5	0	0	0	4	7	0	0	0	8	6	0	0	0
Pseudophyllinae sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudophyllinae sp.2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudophyllinae sp.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Pyrgomorphidae sp.1	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	11	0	0	0	0
<i>Sterphoter</i> sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0
Tetriginae sp.1	16	2	1	1	0	10	4	1	0	0	7	6	1	3	0
Tetriginae sp.2	9	3	0	0	0	8	3	0	0	0	4	0	1	1	0
Tetriginae sp.3	10	0	0	1	0	7	2	1	0	1	4	0	1	0	0
Tetriginae sp.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Tetriginae sp.5	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Tettigoniidae sp.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Tridactylinae sp.1	12	3	6	0	0	27	0	5	0	0	1	0	8	0	0
<i>Vestria</i> sp.1	13	6	0	0	0	14	9	3	0	0	10	5	0	0	0



**Figura 4.** Análisis de correspondencia destendido (DCA) de los ortópteros capturados en cinco altitudes, en los tres muestreos realizados (Rombos: Estaciones de muestreo; Cruces: Morfoespecies de ortópteros). El número que precede a la estación hace referencia al muestreo (1: primer muestreo; 2: segundo muestreo; 3: tercer muestreo).

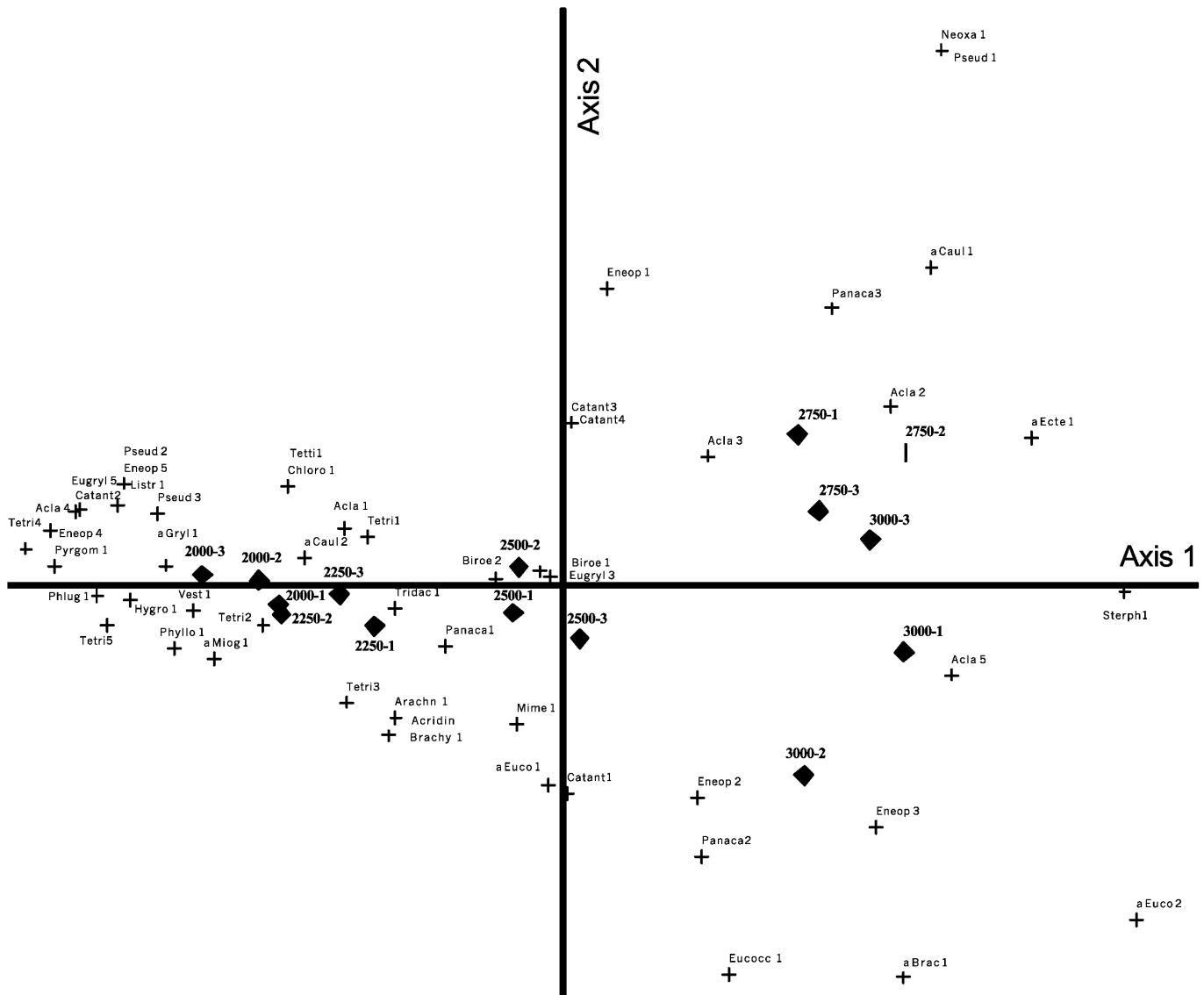
**Tabla 4.** Análisis de regresión lineal que relaciona la altitud con la riqueza, diversidad y dominancia de la comunidad de ortópteros (Ri: Riqueza, Di: Diversidad, Do: Dominancia).

VARIABLE	MUESTREO	REGRESIÓN LINEAL
Riqueza	1° Muestreo	$Ri = 19,6 - 0,005 \times \text{Altitud}$
	2° Muestreo	$Ri = 34,15 - 0,0102 \times \text{Altitud}$
	3° Muestreo	$Ri = 34,9 - 0,0101 \times \text{Altitud}$
	<b>Muestreo Total</b>	<b><math>Ri = 29,55 - 0,0084 \times \text{Altitud}</math></b>
Diversidad	1° Muestreo	$Di = 4,354 - 0,0012 \times \text{Altitud}$
	2° Muestreo	$Di = 3,6421 - 0,0000936 \times \text{Altitud}$
	3° Muestreo	$Di = 4,159 - 0,00112 \times \text{Altitud}$
	<b>Muestreo Total</b>	<b><math>Di = 4,0518 - 0,0011 \times \text{Altitud}</math></b>
Dominancia	1° Muestreo	$Do = -0,7479 + 0,00046 \times \text{Altitud}$
	2° Muestreo	$Do = -0,1831 + 0,00023 \times \text{Altitud}$
	3° Muestreo	$Do = -0,44625 + 0,0003 \times \text{Altitud}$
	<b>Muestreo Total</b>	<b><math>Do = -0,4591 + 0,00034 \times \text{Altitud}</math></b>

riqueza, diversidad y dominancia de ortópteros para los muestreos independientes y para el muestreo general dentro del rango de 2.000 m a 3.000 m de altitud (Tabla 2). Los valores de mayor interés, por contener la mayor variabilidad, fueron los del muestreo general; de acuerdo con lo obtenido, cabría esperar que, por ejemplo, la riqueza de ortópteros en un muestreo del estrato rasante y hasta los dos metros en bosques primarios del flanco oeste de la Cordillera Oriental fuese de, aproximadamente, 13 morfoespecies a los 2.000 m de altitud y ésta disminuiría hasta cerca de cuatro morfoespecies a los 3.000 m. Según la ecuación, cabría esperar cerca de 27 especies para bosques entre los 100 y 300 m. La validación de este modelo es una labor que debe ser constatada en campo por posteriores estudios y se insiste que el valor propuesto sería para una parcela de 50 por 5 metros.

**Discusión**

La riqueza y la diversidad de ortópteros declinaron directamente con el aumento de la altitud. Este patrón concuerda con lo observado por numerosos autores que trabajaron con diferentes órdenes de insectos (Brehm y Fiedler 2004, 2003; Lobo y Halffter 2000; Davis *et al.* 1999; Fisher 1996; Lobo 1992; McCoy 1990; Lawton *et al.* 1987; Wolda 1987; Hebert 1980), e inclusive con investigaciones que involucraban a los ortópteros como grupo de estudio (Wolda 1987; Claridge y Singhrao 1978; Alexander y Hillard 1969). Sin embargo, si se aumenta la escala de observación, no se puede descartar la otra opción, la de un incremento a altitudes intermedias, debido a lo extremo del gradiente tomado. Los 2.000-3.000 m en altitud pueden representar el tercio final de la curva de variación altitud-riqueza, que siempre es una declinación directa (Rahbek 2005). Faltaría observar qué ocurre entre los 0 y los 2.000 m del gradiente; infortunadamente, conseguir un continuo con vegetación conservada entre los 100 m y los 3.000 m de altitud en el flanco occidental de la Cordillera Oriental es actualmente imposible. Para estudios en sitios con tales condiciones, los datos para otros organismos indican el incremento a altitudes intermedias (Escobar *et al.* 2005; Prieto 2003; Barriga 2000; Fagua 1999; IAvH 1999). No obstante, estos trabajos contemplaron en su mayoría altitudes hasta los 2.400 m, o a 2.750 m pero en transectos discontinuos, por lo que un trabajo en gradiente completo aun hace falta por realizar.



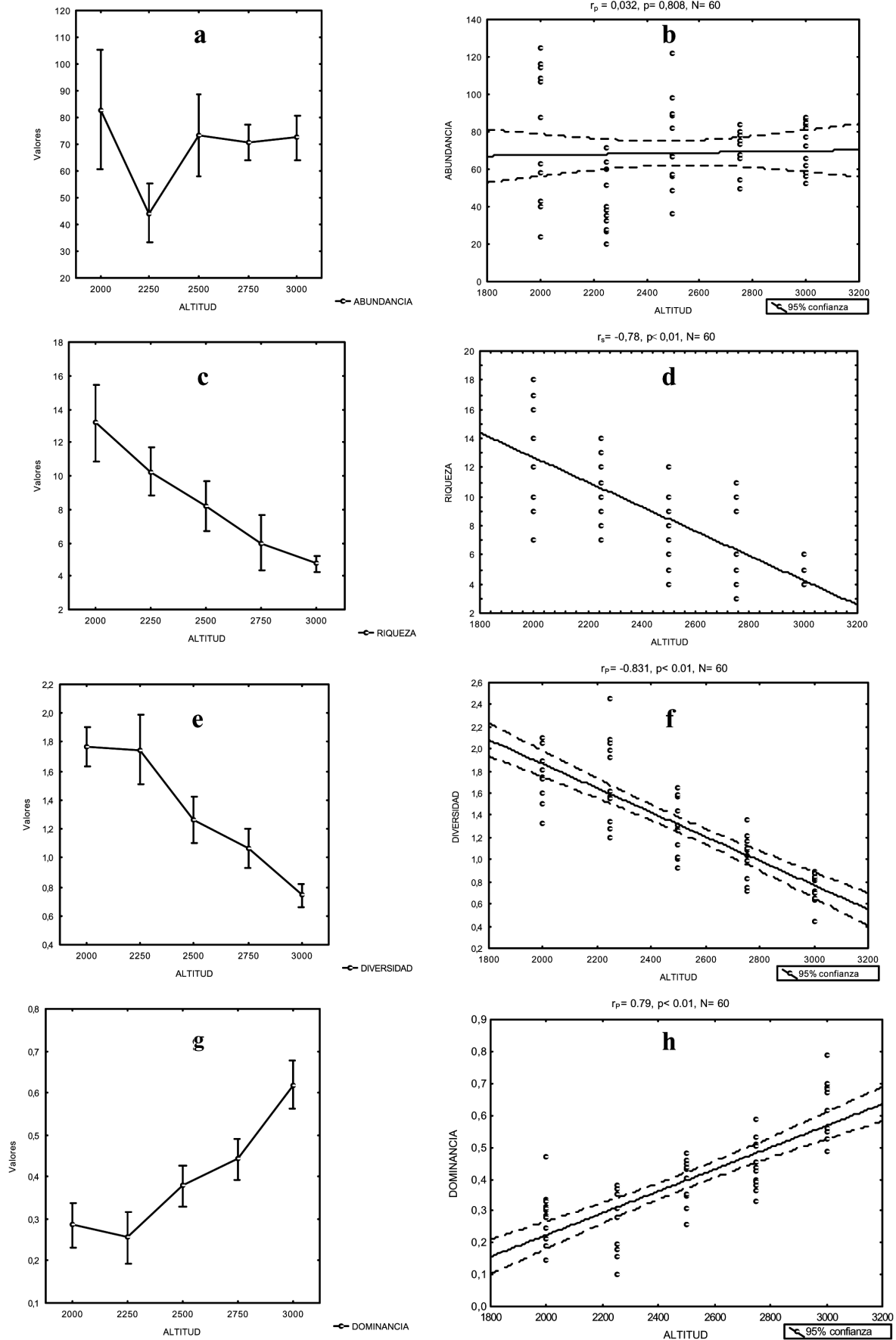
**Figura 5.** Análisis de correspondencia destendido de los ortópteros capturados en las cinco estaciones altitudinales, en los tres muestreos realizados eliminando a *Eugryllina* sp.1 y *Eugryllina* sp.2 (Rombos: Estaciones de muestreo; Cruces: Morfoespecies de ortópteros). El número que precede a la estación hace referencia al muestreo (1: primer muestreo; 2: segundo muestreo; 3: tercer muestreo).

El presente trabajo, con un porcentaje de eficiencia general elevado (Fig. 2), así como la ubicación del muestreo en bosques primarios, permite suponer que otros factores que pueden alterar la relación entre la altitud y las variables de comunidad como son la eficiencia del muestreo o los disturbios antrópicos (*sensu* Wolda 1987) estarían atenuados en el área elegida, por lo que los patrones observados serían representativos. Al respecto Wolda (1987) sugirió que la obtención de patrones divergentes en distintos estudios –declinación gradual o cresta intermedia– podían atribuir al tipo de muestreo, indicando que los muestreos continuos a lo largo de periodos largos evidenciarían el pico de riqueza y diversidad en las

altitudes bajas, mientras que muestreos en periodos cortos expresarían los mayores valores de diversidad y riqueza en elevaciones medias. Por otro lado, los disturbios de tipo antrópico, en especial los que tienen lugar en los niveles altitudinales más bajos, pueden establecer una cresta de riqueza y diversidad en altitudes medias como una condición permanente (Escobar y Valderrama 1995, inédito; McCoy 1990; Wolda 1987), al alterar la composición vegetal presente en dichas altitudes.

La declinación de la riqueza y diversidad de ortópteros observada al incrementar la altitud podría explicarse a la luz de algunas de las razones expuestas por Lawton *et al.* (1987), siendo consecuen-

cia de la reducción de la diversidad y disponibilidad de recursos alimentarios y de la menor productividad primaria en altitudes elevadas, lo que concuerda con las características de los bosques de niebla andinos. La diversidad vegetal de los bosques andinos disminuye linealmente con la altitud por encima de los 1500 m (Gentry 1995), evento que también se presentó en este gradiente (Acosta *et al.* 2006; Del Pino 2006; Ríos 2006) lo que limita la heterogeneidad del recurso alimenticio disponible para el orden Orthoptera, cuyas especies son en su mayoría fitófagas que consumen follaje, flores o semillas (Rentz 1996). Con el aumento de la altitud, las hojas en los bosques andinos tienden hacia la microfilia y



**Figura 6.** Relación de la altitud con las variables de estudio de la comunidad de ortópteros para la totalidad de los muestreos; a, c, e, g muestran los promedios e intervalos de confianza del 95% para los datos obtenidos en cada altitud; b, d, f, h presentan la dispersión de puntos de cada correlación y su tendencia. Variables: **a, b:** abundancia. **c, d:** riqueza. **e, f:** diversidad. **g, h:** dominancia.

## ANEXO 1. Estatus taxonómico y clasificación de las morfoespecies de ortópteros colectados.

Suborden	Superfamilia	Familia	Subfamilia	Género	Morfoespecie						
Ensifera	Grylloidea	Gryllidae	Eneopterinae	<i>Eneoptera</i>	<i>Eneoptera</i> sp.1						
					<i>Eneoptera</i> sp.2						
					<i>Eneoptera</i> sp.3						
					<i>Eneoptera</i> sp.4						
					<i>Eneoptera</i> sp.5						
					Gryllinae	<i>aff. Gryllodes</i>	<i>aff. Gryllodes</i> sp.1				
						<i>aff. Miogryllus</i>	<i>aff. Miogryllus</i> sp.1				
					Nemobiinae	<i>Hygronemobius</i>	<i>Hygronemobius</i> sp.1				
					Oecanthinae	<i>Neoxabea</i>	<i>Neoxabea</i> sp.1				
					Phalangopsinae	<i>Acla</i>	<i>Acla</i> sp.1				
							<i>Acla</i> sp.2				
							<i>Acla</i> sp.3				
							<i>Acla</i> sp.4				
							<i>Acla</i> sp.5				
							<i>Eugryllina</i>	<i>Eugryllina</i> sp.1			
								<i>Eugryllina</i> sp.2			
								<i>Eugryllina</i> sp.3			
								<i>Eugryllina</i> sp.4			
								<i>Eugryllina</i> sp.5			
							Tettigonioidea	Tettigoniidae	Trigonidiinae	<i>Phylloscyrtus</i>	<i>Phylloscyrtus</i> sp.1
										Copiphorinae	<i>aff. Caulopsis</i>
									<i>Panacanthus</i>	<i>Panacanthus</i> sp.1	
										<i>Panacanthus</i> sp.2	
										<i>Panacanthus</i> sp.3	
					<i>Vestria</i>	<i>Vestria</i> sp.1					
						Listroscelidinae			<i>Arachnoscelis</i>	<i>Arachnoscelis</i> sp.1	
					<i>Phlugis</i>				<i>Phlugis</i> sp.1		
Phaneropterinae	*	Listroscelidinae sp.1									
	<i>Chloroscirtus</i>	<i>Chloroscirtus</i> sp.1									
Pseudophyllinae	<i>aff. Ectemma</i>	<i>aff. Ectemma</i> sp.1									
	<i>Brachyauchenus</i>	<i>Brachyauchenus</i> sp.1									
	<i>aff. Brachyauchenus</i>	<i>aff. Brachyauchenus</i> sp.1									
	<i>Eucocconotus</i>	<i>Eucocconotus</i> sp.1									
	<i>aff. Eucocconotus</i>	<i>aff. Eucocconotus</i> sp.1									
	<i>aff. Eucocconotus</i>	<i>aff. Eucocconotus</i> sp.2									
	<i>Mimetica</i>	<i>Mimetica</i> sp.1									
	<i>Sterphoter</i>	<i>Sterphoter</i> sp.1									
	*	<i>Pseudophyllinae</i> sp.1									
	*	<i>Pseudophyllinae</i> sp.2									
*	<i>Pseudophyllinae</i> sp.3										
Caelifera	Acridoidea	Acrididae	Acridinae	*	Tettigoniidae sp.1						
				<i>Acridinae</i> sp.1							
				Catantopinae	*	<i>Catantopinae</i> sp.1					
					*	<i>Catantopinae</i> sp.2					
					*	<i>Catantopinae</i> sp.3					
			*	<i>Catantopinae</i> sp.4							
			Eumastacoidea	Eumastacidae	Eumastacinae	<i>Santanderia</i>	<i>Santanderia insignis</i>				
					Temnomastacinae	<i>Temnomastax</i>	<i>Temnomastax</i> sp. 1				
			Pamphagoidea	Pyrgomorphidae	*	*	<i>Pyrgomorphidae</i> sp.1				
					Tetrigoidea	Tetrigidae	Tetriginae	*	<i>Tetriginae</i> sp.1		
*	<i>Tetriginae</i> sp.2										
*	<i>Tetriginae</i> sp.3										
*	<i>Tetriginae</i> sp.4										
*	<i>Tetriginae</i> sp.5										
Tridactyloidea	Tridactylidae	Tridactylinae	*	<i>Tridactylinae</i> sp.1							

\* No se logró obtener una categoría inferior de identificación.



nanofilia, al ser más pequeñas, gruesas y coriáceas (Bruijnzeel y Veneklaas 1998), lo que representa una barrera física para insectos con un aparato bucal masticador. Las especies vegetales de altitudes superiores podrían ser más resistentes a la herbivoría, si las bajas temperaturas restringen más al crecimiento vegetal que a la fotosíntesis: en temperatura bajas, los carbohidratos fotosintetizados se acumulan en exceso, más allá de lo necesario para el crecimiento y mantenimiento de las plantas, lo que termina en un aumento de los metabolitos secundarios con base de carbono (Erelli *et al.* 1998). Altas concentraciones de flavonoides (compuesto fenólico reductor de la digestibilidad) han sido reportadas en las hojas de los bosques de niebla tropicales (Bruijnzeel y Veneklaas 1998). Cabe recordar que la productividad primaria disminuye con la elevación, como respuesta a una reducción en la temperatura promedio (aproximadamente 1°C cada 180 m altitudinales) y a la menor radiación solar como consecuencia de la mayor nubosidad (Bruijnzeel y Veneklaas 1998).

Los herbívoros generalistas son más resistentes que los especialistas a los reductores de digestibilidad (Stiling 1999). Esto, y la reducción en la heterogeneidad vegetal (Tabla 1; Acosta *et al.* 2006; Del Pino 2006; Ríos 2006), sería coherente con el incremento en la dominancia de ortópteros que se presentó con la altitud. Las comunidades de ortópteros sufrieron una paulatina transición desde la más rica, heterogénea y taxonómicamente diversa comunidad de los 2.000-2.250 m a la muy pobre comunidad de los 2.750-3.000 m. Precisamente *Eugryllina* sp.1, *Eugryllina* sp.2 y *Acla* sp.2 que presentaron el mayor número de individuos en las cinco altitudes y en cada uno de los tres muestreos, pertenecen a taxones registrados como generalistas omnívoros (Gangwere 1961). Esto podría estar relacionado con que, al no verse limitados por la reducción de la diversidad de recursos con el aumento de la altitud, y al estar libres de la competencia, estarán "llenando" el vacío dejado por morfoespecies más especialistas o menos tolerantes a las adversas condiciones de los sitios de mayor altitud. En efecto, la proporción de individuos de *Eugryllina* sp.1 más sp.2, respecto del total por estación, pasa de cerca del 60% en 2.000-2.250 m a cerca del 93% a los 3.000 m (Tabla 1). Esta tendencia ha sido también observada por Lobo (1992) en

escarabajos coprófagos del Sistema Central Ibérico, quien lo interpretó como un posible mecanismo compensatorio para adecuar las poblaciones de coleópteros a los recursos disponibles. Igualmente Fagua (1999), en un gradiente altitudinal en la Cordillera Oriental, relacionó el aumento de la dominancia de grupos de mariposas generalistas como Satyrinae, Pieridae y Lycaenidae con el tipo de estrategias defensivas de plantas de media y alta montaña, con gran acumulación de reductores de digestibilidad.

La abundancia de ortópteros no presentó una asociación evidente con el nivel altitudinal, tendencia que ha sido observada también en escarabajos coprófagos (Lobo 1992) e insectos herbívoros (Lawton *et al.* 1987). Diferentes patrones han sido registrados por Wolda (1987), una relación inversa en insectos capturados mediante trampas de luz en Panamá, y Janzen *et al.* (1976), mayor abundancia de insectos en altitudes intermedias en los andes venezolanos. La ausencia de un patrón predominante de relación entre abundancia de insectos y altitud indicaría que esta no es necesariamente un factor muy influyente.

Acorde con el análisis de correspondencia (DCA) y de similitud de Jaccard, es posible deducir que existen dos grupos de comunidades de ortópteros, ubicadas en los extremos superior (2.750 m - 3.000 m) e inferior (2.000 m - 2.250 m) del gradiente altitudinal, presentándose, más que un cambio en la composición de especies, una paulatina reducción en la riqueza a medida que se aumenta en altitud en el bosque andino presente en el Santuario de Fauna y Flora Guanentá - Alto Río Fonce. Dicho cambio en las especies de ortópteros presentes estaría relacionado, principalmente, con las diferencias en la estructura y composición de la vegetación, que pasa de bosques montanos heterogéneos a los 2.000 m y 2.250 m a robledales típicos en la cuarta (2.750 m) y en la quinta estación (3.000 m), con amplia predominancia de *Quercus humboldtii* (Tablas 1, 2; Del Pino 2006; Ríos 2006). Esta relación ha podido ser apreciada en otros trabajos como el de Fisher (1996), quien encontró una división en la comunidad de hormigas de Madagascar entre las de menor (785-825 m) y mayor (1.275-1.680 m) altitud de sus gradientes, lo que coincidió con la transición de las selvas bajas al bosque nublado. También Davis *et al.* (1999) observaron una zonación altitudinal de escarabajos estercoleros en Sur Africa, definiendo tres

comunidades según las discordancias estructurales de la vegetación a medida que la altitud aumentaba.

### Conclusiones

Los análisis de correspondencia y similitud definieron dos comunidades: una muy rica y con bajo aporte de las especies dominantes, la integrada por los ortópteros de las estaciones 2.000-2.250 m; y otra más pobre, de las estaciones 2.750-3.000 m, caracterizada por el gran aporte de sólo dos especies dominantes. Los 2.500 m son una zona de transición, que evidencia el paulatino proceso de declinación de la riqueza entre uno y otro extremo del gradiente, que fue el modelo encontrado en el presente estudio. Este evento se asociaría con las diferencias en la estructura y composición de la vegetación a lo largo del gradiente, que pasa de un bosque montano a un robledal, ecosistema con pocas especies vegetales y menos complejo en estructura. Esta transición explicaría también la declinación en la riqueza y la diversidad de ortópteros con el aumento de la altitud y el aumento en la dominancia, por la reducción de la diversidad y disponibilidad de recursos vegetales en altitudes superiores. En adición, el mayor aporte en abundancia de especies generalistas probablemente se deba también a su mayor tolerancia a condiciones adversas. La abundancia de ortópteros no presentó una asociación evidente con el nivel altitudinal.

Dada la alta dependencia de los insectos por las plantas, bien como recurso, refugio o como generadoras de microhábitats, es frecuente relacionar los cambios en la composición faunística de insectos con los cambios en la composición, diversidad y estructura de la vegetación (Brehm y Fiedler 2003; Fagua 1999). En este sentido, y según las ecuaciones obtenidas por los análisis de regresión, cabría esperar que en un muestreo de ortópteros semejante al acá propuesto, en bosques primarios de tierras bajas (300 m - 500 m) del flanco oeste de la Cordillera Oriental, mucho más heterogéneos, complejos y ricos en vegetación, se tendría una comunidad con cerca de 26 morfoespecies de ortópteros, muy diversa ( $H' = 3,7$  a  $3,5$ ) y con una baja dominancia, aunque para esta variable el modelo propuesto no es muy fiable por debajo de los 2.000 m. Es labor de próximos trabajos el corroborar y mejorar los modelos propuestos.

### Agradecimientos

A la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN) y la Vicerrectoría

Académica de la Pontificia Universidad Javeriana por el apoyo al presente proyecto (No. Registro 1580). A la Fundación Natura por la ayuda logística. A Diana Montañez, por la localización del sitio de estudio. A José Sinisterra, de la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales por su diligencia en la obtención del permiso de colecta. A Diana Del Pino y Julián Ríos. A Mitzzy Fernanda Porras.

### Literatura citada

- ACOSTA, A.; FAGUA, G.; DIAZGRANADOS, M. 2006. "Variación de la comunidad de ortópteros, anuros y vegetación a lo largo de un gradiente altitudinal en bosque andino del municipio de Encino (Santander, Colombia). Informe final, Vicerrectoría académica, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. 39 p.
- ALEXANDER, G.; HILLARD, J.R. 1969. Altitudinal and seasonal distribution of Orthoptera in the Rocky Mountains of northern Colorado. *Ecological Monographs* 39: 385-431.
- AMAT, G.; REYES-CASTILLO, P. 1996. Capítulo IV. Los escarabajos-pasálidos (Coleoptera: Passalidae) de Colombia-II: Distribución geográfica y altitudinal. p. 75-92. En: Andrade - C., M. G.; Amat, G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia Vol 1. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras No. 10. Centro Editorial Javeriano (CEJA). Bogotá. Colombia. 541 p.*
- AMAT, G.; REYES-CASTILLO, P. 1999. Capítulo VIII. Escarabajos-pasálidos (Coleoptera: Passalidae) de Colombia-IV: Tipificando las especies de montaña. p. 249-266. En: En: Amat, G.; Andrade-C., M. G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia Vol 2. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No 13. Bogotá. Colombia. 433 p.*
- ARIAS B., J. J.; HUERTAS H., B. C. 2001. Mariposas diurnas de la Serranía de los Churumbelos, Cauca. Distribución altitudinal y diversidad de especies (Lepidoptera: Rhopalocera: Papilionoidea). *Revista Colombiana de Entomología* 27 (3-4): 169-176.
- BARRIGA BERNAL, J. 2000. Cambios en la diversidad de arañas constructoras de tela a lo largo de un gradiente altitudinal en el Parque Nacional Natural Munchique. Tesis de grado, Biología, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 103 p.
- BLANCHE, K. R.; LÜDWIG, J. A. 2001. Species richness of gall-inducing insects and host plants along an altitudinal gradient in Big Bend National Park, Texas. *The American Midland Naturalist* 145: 219-232.
- BRAUN, H. 2002. Die Laubheuschrecken (Orthoptera, Tettigoniidae) eines Bergregenschwaldes in Süd - Ecuador faunistische, bioakustische und ökologische Untersuchungen. Erlangung des Doktorgrades. Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen - Nürnberg. Deutschland. 142 p.
- BREHM, G.; FIEDLER, K. 2003. Faunal composition of geometrid moths changes with altitude in an Andean montane rain forest. *Journal of Biogeography* 30: 431-440.
- BREHM, G.; FIEDLER, K. 2004. Bergmann's rule does not apply to geometrid moths along an elevational gradient in an Andean montane rain forest. *Global Ecology and Biogeography* 13: 7-14.
- BREHM, G.; HOMEIER, J.; FIEDLER, K. 2003. Beta diversity of geometrid moths (Lepidoptera: Geometridae) in an Andean montane rainforest. *Diversity and Distributions* 9: 351-366.
- BRUIJNZEEL, L. A.; VENEKLAAS, E. J. 1998. Climatic conditions and tropical montane forest productivity: The fog has not lifted yet. *Ecology* 79 (1): 3-9.
- CLARIDGE, M. F.; SINGHRAO, J. S. 1978. Diversity and altitudinal distribution of grasshoppers (Acridoidea) on a Mediterranean mountain. *Journal of Biogeography* 5: 239-250.
- COLWELL, R. K. 1994-2000. EstimateS. Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Sitio web: <http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>. Fecha última revisión: diciembre 2000. Fecha último acceso: 09 enero 2006.
- DAVIS, A. L. V.; SCHOLTZ, C. H.; CHOWN, S. L. 1999. Species turnover, community boundaries and biogeographical composition of dung beetle assemblages across an altitudinal gradient in South Africa. *Journal of Biogeography* 26: 1039-1055.
- DEL PINO, D. F. 2006. Variación de la composición, la riqueza y la diversidad de la vegetación a lo largo de un gradiente altitudinal, en un bosque andino del Santuario de fauna y flora Guanentá-Alto Río Fonce Santander, Colombia). Trabajo de grado, Carrera de Biología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 170 p.
- DONOVAN, S. E.; EGGLETON, P.; MARTIN, A. 2002. Species composition of termites of the Nyika plateau forests, northern Malawi, over an altitudinal gradient. *East African Wild Life Society* 40: 379-385.
- ESCOBAR, F.; VALDERRAMA, C. 1995. inédito. Comparación de la biodiversidad de artrópodos de bosque a través del gradiente altitudinal Tumaco-Volcan de Chiles (Nariño): Evaluación del efecto de la deforestación. Informe Final, Fondo José Celestino Mutis FEN-Colombia. Bogotá. Colombia. 39 p.
- ESCOBAR, F.; LOBO, J. M.; HALFFTER, G. 2005. Altitudinal variation of dung beetle (Scarabaeidae: Scarabaeinae) assemblages in the Colombian Andes. *Global Ecology and Biogeography* 14: 327-337.
- ERELLI, M. C.; AYRES, M. P.; EATON, G. K. 1998. Altitudinal patterns in host suitability for forest insects. *Oecologia* 117: 133-142.
- FAGUA, G. 1999. Capítulo XI. Variación de las mariposas y hormigas de un gradiente altitudinal de la Cordillera Oriental (Colombia). p. 317-362. En: Amat, G.; Andrade-C., M. G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia Vol 2. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No 13. Bogotá. Colombia. 433 p.*
- FISHER, B. L. 1996. Ant diversity patterns along an elevational gradient in the Reserve Naturelle Integrale d' Andringitra, Madagascar. *Fieldiana Zoologica* 85: 93-108.
- FLEISHMAN, E.; AUSTIN, G. T.; WEISS, A. 1998. An empirical test of Rapoport's rule: elevational gradients in montane butterfly communities. *Ecology* 79: 2472-2483.
- GANGWERE, S. K. 1961. A monograph on food selection in Orthoptera. *Transactions of the American Entomological Society* 87: 67-230.
- GREENBERG, C. H.; FORREST, T. G. 2003. Seasonal abundance of ground-occurring macroarthropods in forest and canopy gaps in the southern Appalachians. *Southeastern Naturalist* 2 (4): 591-608.
- GENTRY, A. H. 1995. Patterns of diversity and floristic composition in neotropical montane forests. p. 103-126. En: Churchill, S. P.; Balslev, H.; Forero, E.; Luteyn, J. L. (eds.). *Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forests. The New York Botanical Garden, New York. USA. 702 p.*
- GUTIÉRREZ, D.; MENÉNDEZ, R. 1995. Distribution and abundance of butterflies in a mountain area in the northern Iberian peninsula. *Ecography* 18: 209-216.
- HEBARD, M. 1927. Studies in the Dermaptera and Orthoptera of Colombia, fourth paper. *Transactions of the American Entomological Society* 52: 275-354, pl. 18-22.
- HEBARD, M. 1933. Studies in the Dermaptera and Orthoptera of Colombia. Supplement to papers one to five. *Transactions of the American Entomological Society* 59 (970): 13-67, 2 pls.
- HEBERT, P. D. N. 1980. Moth communities in montane Papua New Guinea. *Journal of Animal Ecology* 49: 593-602.
- IAvH, INSTITUTO ALEXANDER VON HUMBOLDT. 1999. Caracterización de la biodiversidad en áreas prioritarias de la vertiente oriental de la cordillera oriental. Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Villa de Leyva, Colombia. 25 pp. <http://www.humboldt.org.co/humboldt/home-Files/inventarios/VOCO.pdf> Fecha última revisión: diciembre 2001. Fecha último acceso: 09 enero 2006.
- JANZEN, D. H. 1973. Sweep samples of tropical foliage insects: effects of seasons, vegetation types, elevation, time of day, and insularity. *Ecology* 54: 687-708.

- JANZEN, D. H., ATAROFF, M.; FARINAS, M.; REYES, S.; RINCÓN, N.; SOLER, A.; SORIANO, P.; VERA, M. 1976. Changes in the arthropod community along an elevational transect in the Venezuelan Andes. *Biotropica* 3: 193-203.
- LAWTON, J. H.; MACGARVIN, M.; HEADS, P. A. 1987. Effects of altitude on the abundance and species richness of insects herbivores on bracken. *Journal of Animal Ecology* 56: 147-160.
- LOBO, J. M. 1992. Modificación de las comunidades de Scarabaeoidea coprófagos (Coleoptera) en pastizales de altura del sistema central ibérico (España) a lo largo de un gradiente altitudinal. *Acta Zoológica Mexicana* 53: 15-31.
- LOBO, J. M.; HALFFTER, G. 2000. Biogeographical and ecological factors affecting the altitudinal variation of mountainous communities of coprophagous beetles (Coleoptera: Scarabaeoidea): a comparative study. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 115-126.
- LOMOLINO, M. B. 2001. Elevation gradients of species density: historical and prospective views. *Global Ecology & Biogeography* 10: 3-13.
- McCOY, E. D. 1990. The distribution of insects along elevational gradients. *Oikos* 58: 313-332.
- MAGURRAN, A. 1989. *Diversidad ecológica y su medición*. Ediciones VEDRA. Barcelona. España. 200 p.
- MAO, C. X.; COLWELL, K.R. 2005. Estimation of species richness: mixture models, the role of rare species, and inferential challenges. *Ecology* 86 (5): 1143-1153.
- McCUNE, B.; MEFFORD, M. J. 1997. *Multivariate Analysis of Ecological Data Version 3.17*. MJM Software. Gleneden Beach, Oregon. U. S. A.
- MORÓN - R, M. A.; TERRÓN - S., R. A. 1984. Distribución altitudinal y estacional de los insectos necrófilos en la sierra norte de Hidalgo, México. *Acta Zoológica Mexicana* 3: 1-47.
- NASKRECKI, P.; OTTE, D. 1999. An illustrated Catalog of Orthoptera. Vol. I. Tettigoniodea (CD ROM). The Orthopterists' Society at the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Philadelphia. USA.
- NICKLE, D. A. 1992. Katydidids of Panama (Orthoptera: Tettigoniidae). p. 142 – 184. En: Quintero, D.; Aiello, A. *Insects of Panama and Mesoamerica (Selected Studies)*. Oxford Science Publications, Washington D.C. USA. 692 p.
- NICKLE, D. A. 1992. The Crickets and Mole Crickets of Panama (Orthoptera: Gryllidae and Gryllotalpidae). P. 185 – 197. En: Quintero, D.; Aiello, A. *Insects of Panama and Mesoamerica (Selected Studies)*. Oxford Science Publications, Washington D.C. USA. 692 p.
- OLSON, D. M. 1994. The distribution of leaf litter invertebrates along a neotropical altitudinal gradient. *Journal of Tropical Ecology* 10: 129-150.
- PRIETO M., C. H. 2003. Satirinos (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae) del Parque Nacional Natural Munchique, diversidad de especies y distribución altitudinal. *Revista Colombiana de Entomología* 29 (2): 203-211.
- PYRCZ, T. W.; WOJTUSIAK, J. 2002. The vertical distribution of pronophiline butterflies (Nymphalidae, Satyrinae) along an elevational transect in Monte Zepa (Cordillera de Mérida, Venezuela) with remarks on their diversity and parapatric distribution. *Global Ecology & Biogeography* 11: 211-221.
- RAHBK, C. 1995. The elevational gradient of species richness: a uniform pattern? *Ecography* 18: 200-205.
- RAHBK, C. 2005. The role of spatial scale and the perception of large-scale species-richness patterns. *Ecology Letters* 8: 224-239.
- RANDALL, M. G. M. 1982. The dynamics of an insect population throughout its altitudinal distribution: *Coleophora alticolella* (Lepidoptera) in northern England. *Journal of Animal Ecology* 51: 993-1016.
- RENTZ, D. C. F. 1996. Chapter 24. Orthoptera. p. 369-393. En: Waterhouse, D. F.; Carne, P. B.; Naumann, I. D. *The Insects of Australia: A textbook for students and research workers*. Vol. I. Segunda Edición. Melbourne University Press. Melbourne. Australia. 1137 p.
- RÍOS, J. F. 2006. Variación de la estructura de la vegetación a lo largo de un gradiente altitudinal, en un bosque andino del Santuario de Fauna y Flora Guantá-Alto Río Fonce Santander, Colombia). Trabajo de grado, Carrera de Biología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 96 p.
- RINCÓN H., M. E. 1999. Capítulo IX. Estudio preliminar de la distribución altitudinal y espacial de los tricópteros en la Cordillera Oriental (Colombia). p. 267-284. En: Amat, G.; Andrade-C., M. G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia Vol 2. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras*. No 13. Bogotá. Colombia. 433 p.
- RYAN, P. D.; HARPER, D. A. T.; WHALLEY, J. S. 1995. PAST-PALaeontological Statistics. Web site: <http://folk.uio.no/ohammer/past>. Fecha última revisión: diciembre 1999. Fecha último acceso: 09 enero 2006.
- SANDERS, N. J. 2002. Elevational gradients in ant species richness: area, geometry, and Rapoport's rule. *Ecography* 25: 25-32.
- STATSOFT, INC. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- STILING, P. D. 1999. *Ecology, theories and applications*. Tercera Edición. Prentice-Hall. New Jersey. USA. 638 p.
- UAESPNN. 1998. Santuario de Fauna y Flora Guantá – Alto Río Fonce. p. 315–318. En: Castaño–Uribe, C.; Cano Correa, M. *El sistema de parques nacionales naturales de Colombia*. Editorial Nomos. Bogotá. Colombia.
- WOLDA, H. 1987. Altitude, habitat and tropical insect diversity. *Biological Journal of the Linnean Society* 30: 313-323.

## Composición y diversidad de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) en algunas áreas protegidas del Valle de Aburrá

Composition and diversity of ants (Hymenoptera: Formicidae) in some protected areas of the Aburrá Valley

ELMER TORO A.<sup>1</sup>, OSCAR EFRAÍN ORTEGA<sup>2</sup>

**Resumen.** Se estudiaron las comunidades de hormigas en tres áreas protegidas del Valle de Aburrá (Departamento de Antioquia – Colombia). En cada sitio se instalaron 50 estaciones de muestreo en dos épocas (marzo de 2000 y mayo de 2001). Se colectaron hormigas usando trampas de caída, sacos mini-Winkler y captura manual. Adicionalmente, se instalaron diez estaciones en el jardín botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín, el cual aportó ocho especies exclusivas. Se identificaron 96 morfoespecies pertenecientes a 33 géneros, 18 tribus y seis subfamilias. Myrmicinae fue la subfamilia dominante del paisaje. Los estimadores no paramétricos de riqueza ICE y Jackknife1 produjeron estimaciones de 105 y 107 especies respectivamente para las tres áreas juntas y sólo en una de ellas presentaron diferencia significativa en los valores de riqueza estimada. Las curvas acumuladas de especies mostraron que la metodología de muestreo fue eficaz para coleccionar la mayoría de las especies del estrato rasante. La distribución de frecuencias se ajustó a un modelo logarítmico y se encontraron valores de equidad relativamente altos, debido a la presencia de un gran número de especies con sólo un individuo. Los sitios comparten la mayor parte de la mirmecofauna, por consiguiente cuentan con una organización funcional similar. Para la escala local, se observó una disminución de la diversidad con el incremento en la altitud. Cada una de las áreas aportó especies exclusivas a la diversidad total de Formicidae; lo cual sugiere que deben ser conservadas para mantener la biodiversidad local.

**Palabras clave:** Biodiversidad. Estimadores de riqueza. Especies exclusivas. Muestreo. Organización funcional.

**Abstract.** Ant communities were studied in three protected areas of the Aburrá Valley (Department of Antioquia-Colombia). In each site, 50 sampling stations were installed over two time periods (March 2000 and May 2001). Ants were collected using pitfall traps, mini-Winkler bags and manual capture. Additionally, ten stations were installed in the botanical garden Joaquín Antonio Uribe of Medellín, which contributed eight unique species. 96 morphospecies belonging to 33 genera, 18 tribes and six subfamilies were identified. Myrmicinae was the dominant subfamily in the landscape. The non-parametric estimators of richness ICE (Incidence Coverage Estimator) and Jackknife1 produced estimates of 105 and 107 species, respectively, for the three areas together, and one of these had a significantly different value of estimated richness. The cumulative species curves showed that the sampling methodology was effective for collecting most of the species from the substrate. The frequency distribution fit a logarithmic model, and relatively high values of evenness were found due to the presence of a great number of species with just one individual. The sites share most of the ant fauna and consequently have a similar functional organization. For the local scale, a decrease in diversity was observed with increase in altitude. Each area contributed unique species to the total diversity of Formicidae, which suggests that they should be conserved to maintain the local biodiversity.

**Key words:** Biodiversity. Richness estimators. Exclusive species. Sampling. Functional organization.

### Introducción

En Colombia son escasos los estudios que sobre diversidad en paisajes urbanos se han desarrollado. Sin embargo, las zonas urbanas cuentan con sitios que pueden tener un papel importante en la conservación de especies. Los fragmentos de bosque, los parches de vegetación

con crecimiento secundario y los hábitats degradados en paisajes dominados por el hombre, pueden ofrecer muchas posibilidades para la preservación biológica (Kattan y Álvarez 1996). Actualmente, se reconoce que la persistencia de fragmentos pequeños de ecosistemas es fundamental, y tal vez la única posibilidad para la conservación de un gran número de

especies (Kattan y Álvarez 1996; Schellhas y Greenberg 1996; Shafer 1995).

Medellín y el área metropolitana del Valle de Aburrá en Antioquia, cuentan con áreas protegidas catalogadas por las autoridades ambientales regionales como reservas ecológicas, reservas forestales, cerros tutelares y parques ecológicos en-

1 Universidad Nacional de Colombia, Posgrado en Entomología. Calle59a N°64-50, Medellín, Colombia. Tel: 430 93 44. Fax: 496 06 11. E-mail: 43551309@epm.net.co

2 Profesor Posgrado en Entomología, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. E-mail: oeortega@perseus.edu.co

tre otras (Contraloría de Medellín 1998). Estos sitios podrían tener un papel importante en la conservación de muchos organismos, al actuar como puentes para el flujo poblacional y permitir el movimiento y dispersión de muchas especies entre las fuentes y los sumideros, como señalan Dinerstein *et al.* (1995) para la zona andina.

En este trabajo se evalúa la importancia de tres áreas protegidas en la conservación de la biodiversidad del Valle de Aburrá, a través del estudio de la composición, la diversidad y la organización funcional de las comunidades de hormigas como grupo indicador. Se reporta además, la similitud ecológica entre los sitios y el aporte de cada uno de ellos a la diversidad total de la familia Formicidae a escala local.

### Materiales y Métodos

**Área de trabajo.** Se estudiaron las comunidades de hormigas en tres áreas protegidas del Valle de Aburrá, localizadas entre los municipios de Medellín y Envigado en el Departamento de Antioquia (Colombia) (Fig. 1). Los sitios seleccionados corresponden a los cerros tutelares del Volador (1.635 msnm; 6°16'12,7"N, 75°35'07"W), La Asomadera (1.640 msnm; 6°14'20,6"N, 75°34'05"W) y el Seminario Mayor (2.050 msnm; 6°13'16,5"N, 75°32'52"W). Con el fin de complementar el inventario, se realizó también un muestreo de sólo 10 estaciones en un área boscosa de 0,5 ha ubicada en el Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín (1.525 msnm; 6°16'24,1"N, 75°34'03,1"W).

De acuerdo con Espinal (1990), la zona de vida de El Seminario (85 ha de extensión) corresponde a un bosque húmedo montano bajo (bh-MB) de dedicación forestal con plantaciones de *Eucalyptus* spp., *Cupressus* sp. y *Pinus* sp. La de los cerros El Volador (106 ha) y La Asomadera (30,5 ha) corresponden a un bosque húmedo premontano (bh-PM). El primero, desde 1997 dedicado parcialmente a un programa de reforestación con *Eucalyptus* sp. cuenta además, con una cobertura vegetal compuesta de varias especies de pastos y arbustos de las familias Mimosaceae, Berbenaceae, Asteraceae. La Asomadera, se encuentra sembrada de *Eucalyptus* sp. y árboles pequeños de las familias Bignoniaceae, Cecropiaceae y arbustos de Mimosaceae, Myrtaceae, Berbenaceae y Solanaceae.

**Muestreo.** En cada uno de los tres sitios se establecieron al azar 50 estaciones de

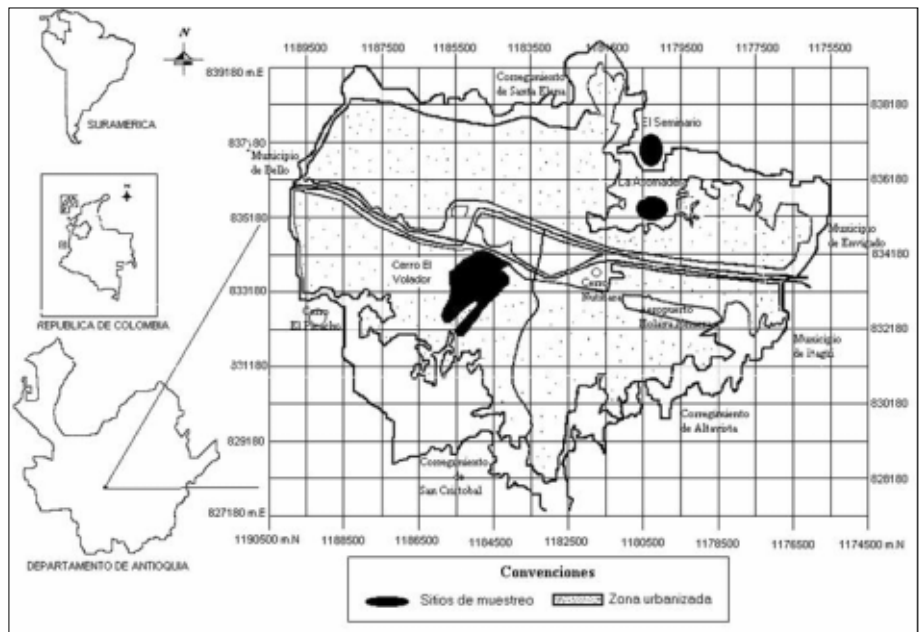


Figura 1. Área de estudio.

Fuente: Plano elaborado con base en la restitución aerofotogramétrica del año 1993. Con origen Bogotá, coordenadas geográficas 06°3'55"N y 75°34'05"W. Contrato de Medellín-DANE al año 1996.

muestreo (25 en época seca y 25 en época lluviosa), a una distancia mínima de 10 m cada una, para un total de 150 estaciones en toda el área de estudio. Las estaciones, se dispusieron al azar tomando un punto de referencia a partir del cual se eligió por sorteo entre seis puntos cardinales (norte, sur, este, oeste, noreste, noroeste, sur-este y sur-oeste) la dirección de una trayectoria en zig-zag. Por el tamaño reducido del bosque y el bajo número de estaciones en el Jardín Botánico, las muestras de este sitio no se tuvieron en cuenta para los análisis cuantitativos de diversidad. Las capturas se hicieron utilizando tres métodos:

**Trampa de caída.** Adaptada de Majer y Delabie (1994), consistió en un vaso plástico de 6 cm de profundidad por 6 cm de diámetro con agua y alcohol al 70%, enterrado a ras del suelo. Las trampas se recogieron 24 horas después de su instalación y las hormigas se preservaron en frascos de vidrio con alcohol al 70%.

**Saco mini-Winkler.** En cada estación, se recogió hojarasca en un área de 1 m<sup>2</sup>, se pasó por un cernidor y se depositó luego en dos pequeñas bolsas de malla, las cuales se introdujeron durante 48 horas dentro de pequeños sacos de Winkler (mini-Winkler) similares a los utilizados por Fisher (1996). Las hormigas se recogieron por separado en vasos de plástico, luego se pasaron a frascos para su preservación.

**Colecta manual.** Consistió en la recolección de hormigas durante cinco minutos en cada estación, con un esfuerzo de muestreo total de 250 minutos/persona (4,16 h) por sitio. Se inspeccionaron troncos en descomposición, tallos, ramas, piedras y, en general, los lugares en donde las hormigas pueden anidar y/o forrajear, en un radio de 3 a 4 m alrededor de cada estación. Este último método permitió tomar muestras de la mirme-cofauna arbórea, principalmente la que pudo encontrarse a menos de 2 m de altura.

Se consideró como unidad muestral cada estación de muestreo con todos los métodos de captura (trampa de caída, mini-Winkler y colecta manual). Las muestras se trasladaron al Museo Entomológico Francisco Luis Gallego de la Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín), donde se realizaron las labores de curaduría y posterior identificación, usando las claves de Longino (2004), Bolton (2003), Serna (1999), Palacio (1998), Bolton (1994), Hölldobler y Wilson (1990), Mackay y Mackay (1989). Dentro de cada género, los especímenes fueron separados en morfoespecies, algunas de las cuales fueron identificadas hasta el nivel de especie.

Se calculó a partir de la frecuencia de aparición, es decir, según el número de estaciones donde las especies fueron encontradas sin importar el número de

especímenes por estación. El término "número de individuos" se usó para referirse al número total de eventos de captura de una especie. Para calcular los índices N1 de especies abundantes, N2 de especies muy abundantes y E5 de equidad, se usó el programa en Basic SPDIVERS de Ludwig y Reynolds (1988).

Debido a que los datos obtenidos fueron de presencia – ausencia, se usaron los estimadores no paramétricos de riqueza ICE (Incidence Coverage Estimator) y Jackknife1, calculados con 100 aleatorizaciones del orden de las muestras en el programa EstimateS 5.0 (Colwell 1998). La diferencia de la riqueza entre sitios se analizó con una prueba de  $X^2$ . Con base en la riqueza de especies de cada uno de los sitios se hicieron análisis de agrupamientos con los índices de similitud de Sorensen cualitativo y el de Sorensen modificado (Magurran 1988).

La asignación de gremios o grupos funcionales se hizo con base en los hábitos alimenticios y de nidificación, utilizando la metodología propuesta por Majer y Delabie (1994). Para designar las categorías de gremios se partió de los reportes de literatura sobre biología y ecología de hormigas y de las observaciones realizadas en campo durante el muestreo. Se calculó la proporción de gremios en cada sitio y en el área total de estudio con el fin de establecer posibles diferencias entre los tres sitios estudiados.

## Resultados y Discusión

**Composición y riqueza.** Se capturaron 12.750 hormigas, pertenecientes a 96 morfoespecies, 33 géneros, 18 tribus y nueve subfamilias (Tabla 1). La diferencia en la riqueza específica de los sitios fue significativa, siendo mayor la de El Volador con 61 especies ( $X^2 = 14.75$ ;  $gl = 3$ ;  $0.001 < p < 0.005$ ). El bosque del Jardín Botánico aportó cinco especies más que el Seminario, sitio en el cual se encontraron 38 especies.

Se destaca además que pese a lo reducido de su tamaño, el Jardín botánico aportó también con ocho especies exclusivas, tal aporte de especies a la diversidad local, se debe en gran parte quizás, a la gran heterogeneidad del bosque, debida a la presencia de una alta diversidad vegetal, la mayor de todos los sitios. Tales características, crean condiciones específicas favorables para albergar muchas especies. Los resultados, sugieren que los pequeños parches de bosque del Valle de Abu-

rrá y que cuentan con una alta diversidad vegetal, ofrecen condiciones microclimáticas y físicas con recursos adecuados disponibles para albergar muchas especies de hormigas.

Para toda el área de estudio, *Hypoponera* y *Pachycondyla* (Ponerinae), *Solenopsis* y *Pheidole* (Myrmicinae) con ocho especies, fueron los géneros con la mayor riqueza, le siguieron *Pseudomyrmex* (Pseudomyrmecinae) y *Strumigenys* (Myrmicinae) con seis. El 18% de los géneros encontrados cuentan con una riqueza de entre seis y ocho especies, el 43% entre dos y cinco, y el 39% de los mismos, con sólo una especie. *Myrmelachista* (Formicinae), *Eurhopalothrix* y *Myrmicocrypta* (Myrmicinae) por su parte, fueron los géneros más raros, pues de cada uno de ellos se encontró una sola especie y un solo espécimen.

En un área de rastrojo bajo en el sitio El Volador, se encontró una especie del género *Anochetus* considerado poco común en áreas abiertas (Shattuck y Bamett 2001). Igualmente, *Pachycondyla* sp.7 se encontró sólo en una pequeña mancha de vegetación arbórea en el Seminario. La presencia de estas especies obedece posiblemente a que ciertos elementos vegetales como bordes o reducidos parches en sucesión avanzada, circunscritos a las áreas protegidas, proveen refugio adecuado para especies que son propias de bosques.

Los estimadores de riqueza ICE y Jackknife1, determinados para toda el área de estudio con todos los métodos de captura, mostraron valores esperados máximos de 105 y 107 especies respectivamente. Los mismos, fueron también similares para cada uno de los sitios, excepto para El Seminario, que a pesar de su pequeña diferencia numérica entre los valores (50 para el ICE y de 53 para el de Jackknife1), presentó diferencia significativa ( $K-S = 2.6$ ,  $d_{max} = 0.52$ ,  $P = 0,000002$ ) (Tabla 2).

Los valores estimados de riqueza para el estrato rasante de toda el área de estudio, mostraron que con el esfuerzo de muestreo invertido se colectaron más del 80 % de las especies; así, con el ICE se estima el 84% de la riqueza total y con el Jackknife1 el 82%. Sin embargo, es probable que los estimadores hayan sido afectados por el alto número de especies únicas que se encontraron y por la distribución agrupada de las especies. Para Morrison (1996), la curva acumulada de especies basada en el estimador Jackknife1, nunca alcanza una asíntota definitiva cuando existen especies raras o localizadas debido a que este estimador es sensible al número de especies únicas. Para Richardson (1999), la fortaleza del estimador Jackknife1 contra distribuciones agregadas es relativa, de modo que éste puede hacer una sobreestimación de la riqueza de un sitio donde muchas especies se distribuyen en parches. Por su

**Tabla 1.** Número de géneros y especies (entre paréntesis) por subfamilia de Formicidae en cada uno de los sitios de muestreo y para el área total.

Subfamilia	Cerro El Volador	Cerro La Asomadera	Seminario	Jardín Botánico	Área de estudio
Myrmicinae	11 (28)	12 (29)	8 (20)	9 (24)	15 (46)
Formicinae	4 (11)	3 (7)	3 (4)	3 (4)	4 (12)
Dolichoderinae	2 (3)	3 (4)	3 (5)	2 (3)	3 (5)
Ponerinae	4 (12)	3 (13)	3 (6)	4 (7)	4 (20)
Amblyoponinae	---	---	---	1 (1)	1 (1)
Ectatomminae	---	1 (1)	---	1 (1)	2 (2)
Proceratiinae	1 (1)	---	1 (1)	1 (1)	1 (1)
Pseudomyrmecinae	1 (6)	1 (3)	---	1 (2)	1 (6)
Ecitoninae	---	1 (1)	2 (2)	---	2 (3)
Total	23 (61)	24 (58)	20 (38)	22 (43)	33 (96)
% Ponerinae	21.31	24.13	18.42	---	25.0
% Myrmicinae	45.90	50.0	52.63	---	47.91
Relación P/M	0.46	0.48	0.35	---	0.52

**Tabla 2.** Riqueza de especies observada y estimada para el área de estudio (sin incluir el Jardín Botánico) y para cada sitio de muestreo.

Sitio	Especies Observadas	Estimación ICE $\pm$ SD*	Estimación Jackknife1 $\pm$ SD	Especies únicas**
Área de Estudio	88	105 $\pm$ 0,01	107 $\pm$ 4,6	20
El Volador	61	77 $\pm$ 0,01	77 $\pm$ 3,6	17
La Asomadera	58	73 $\pm$ 0,01	74 $\pm$ 3,6	17
El Seminario	38	53 $\pm$ 0,02	50 $\pm$ 3,6	13

\* SD (desviación estándar).

\*\* Especies encontradas en sólo una estación de muestreo.

parte, aunque el estimador ICE se considera uno de los mejores estimadores de riqueza de especies (Chazdon *et al.* 1998), no es totalmente insensible a la distribución agregada y su eficacia puede también disminuir en sitios con una distribución espacial de este tipo muy fuerte.

Las curvas acumuladas de especies en cada sitio (Fig. 2a, 2b, 2c y 2d) tienden más a estabilizarse que a incrementarse si se agregan estaciones de muestreo, por lo que se puede considerar que el tamaño de muestra usado (50 estaciones por sitio) fue adecuado para evaluar la riqueza de los sitios. El mismo tamaño de muestra por sitio, pero con sólo dos de los métodos de captura usados en este estudio, fue empleado por Fisher (1996) en un estudio de diversidad de hormigas a lo largo de un gradiente altitudinal en Madagascar. También ha sido frecuente el uso de tamaños de muestra mucho menores con más métodos de captura (Samson *et al.* 1997; Armbrrecht 1995).

La abundancia de la mayoría de las especies para toda el área de estudio fue menor a diez individuos; sólo siete, en toda el área de estudio tuvieron abundancias mayores a 25 individuos; cuatro de ellas en El Volador y dos tanto en La Asomadera como en el Seminario. *Solenopsis geminata*, cuya distribución está estrechamente relacionada con las variaciones en el microclima en áreas

abiertas, donde predominan temperaturas altas (Torres 1984), fue la más abundante en La Asomadera, con 35 individuos y una de las más abundantes en El Volador (con 29), por tratarse posiblemente de sitios en los cuales predominan tales características.

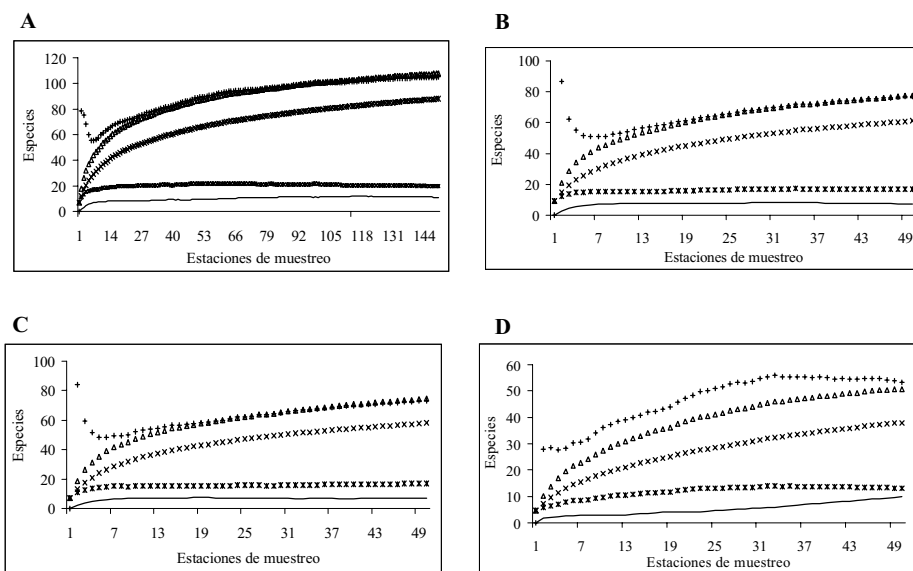
La abundancia de las especies, se ajustó a una serie logarítmica (Magurran 1988), pues la clase que contiene un sólo individuo fue la que predominó (Figs. 3a y 3b). Muchas comunidades biológicas tienen un alto número de especies poco abundantes de forma natural (Begon *et al.* 1999). Tal idea se aplica en general para muchas comunidades de organismos en ecosistemas tropicales, así lo han demostrado también muchos estudios para las comunidades de hormigas (Armbrrecht y Ulloa-Chacón 1999; Serna 1999; Samson *et al.* 1997; Fisher 1996; Bustos y Ulloa-Chacón 1996-1997; Roth *et al.* 1994; Majer 1983). Así mismo, a pesar de la perturbación de las áreas protegidas en el Valle de Aburrá, estas cuentan también con una alta diversidad de especies de hormigas a escala local.

De acuerdo con las curvas de dominancia-diversidad (Figs. 3a y 3b), la de mayor pendiente fue la correspondiente al Seminario, por consiguiente, la del valor más bajo en la equidad (0,66), la razón de tal resultado se debe a que en este sitio, *Linepithema* sp.1 y *Solenopsis* sp.4 con 40 y 34 individuos respectivamente,

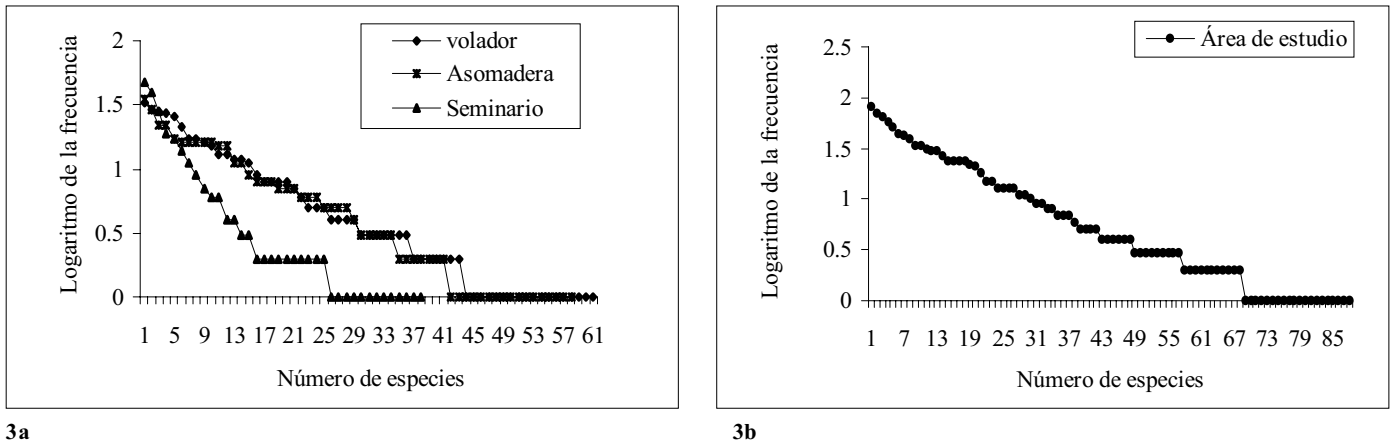
fueron especies muy dominantes. Tanto para El Volador como para La Asomadera, el valor obtenido fue de 0,79, lo que indica también la presencia de algunas especies dominantes (en El Volador: *Strumigenys* sp.3 con 33, *Solenopsis geminata* con 29 y *Pheidole* sp.2 con 27; en La Asomadera: *Paratrechina* sp.1 con 29 y *Solenopsis geminata* con 35), aunque la distribución de abundancias fue más equitativa. Por tratarse de sitios intervenidos, la dominancia de algunas pocas especies es una tendencia normal en este tipo de ecosistemas. Resultados similares fueron reportados también por Serna (1999) en ecosistemas húmedos tropicales al nororiente de Antioquia.

Por los resultados obtenidos en los valores de la relación P/M (Ponerinae/Myrmicinae) (Tabla 1), se esperaría que las comunidades de hormigas, al menos del estrato rasante, en otros sitios con características similares a las de El Volador y La Asomadera, estén compuestas de un 20% a 25% de especies de Ponerinae y un 45% a 50% de Myrmicinae. Pues de acuerdo con Fisher (1996), cuando la relación P/M mantiene valores aproximados en distintas áreas dentro de una misma región, se puede usar el número de especies de Ponerinae o de Myrmicinae como un indicador general de la composición de la comunidad de hormigas en otras áreas.

Con el saco mini-Winkler se recolectaron 77 especies, con el método manual 60 y con la trampa de caída 42. Los ensamblajes de especies observados para los métodos manual y mini-Winkler resultaron ser muy diferentes debido al número de especies exclusivas encontradas en cada uno de ellos. El método que más especies exclusivas capturó fue el de los sacos mini-Winkler con 25, seguido por el método manual con 13 y el de las trampas de caída con tres. Combinando el saco mini-Winkler y el método manual se colectaron el 97% de las especies para toda el área de estudio; el número de especies capturadas con el método del saco fue mayor y el de especies exclusivas fue casi el doble que con la colecta manual. Las curvas acumuladas de especies para cada método de captura señalan la tendencia asintótica en cada una de ellas, lo cual sugiere que aunque se incrementa el esfuerzo de muestreo, la posibilidad de encontrar especies nuevas con cada método será muy baja, principalmente en el caso de las trampas de caída, cuya asíntota se evidencia más rápidamente a



**Figura 2.** Curvas de acumulación de especies observadas y estimadas. **A.** para el área de estudio, construidas a partir de 150 estaciones de muestreo y 100 aleatorizaciones del orden de las muestras. **B.** Cerro El Volador. **C.** Cerro La Asomadera. **D.** El Seminario, (en las tres localidades se usaron 50 estaciones y 100 aleatorizaciones). xxxx: Sobs (especies observadas); +++++: ICE (incidence coverage estimator); ΔΔΔΔ: Jack1 (Estimator Jackknife de primer orden); \*\*\*: únicos; \_\_\_: duplicados.



**Figura 3.** Curvas de dominancia - diversidad. **3a.** curvas para cada sitio de muestreo. **3b.** para toda el área de estudio. La escala logarítmica de la frecuencia está dada según la transformación  $\log_{10}$ .

medida que se agregan nuevas estaciones (Fig. 4).

Fue evidente la mayor eficiencia del saco mini-Winkler; con éste se colectó un 22% más especies que con el método manual y un 45% más que con la trampa de caída. Además, este método logró reunir el 80% de las especies observadas en el área de estudio y presentó el mayor número de especies exclusivas. Este hallazgo respalda los resultados de Fisher (1996), quien después de modificar el saco de Winkler tradicional, convertirlo en mini-Winkler y usarlo en forma cuantitativa, documentó una mayor eficiencia del saco frente a las trampas de caída y a la colecta manual.

Una parte del total de especies capturadas con cada método comprende también las especies únicas (especies encontradas en solamente una estación o unidad

muestral), cuyo número fue 19 para el método manual, 24 para el saco mini-Winkler, 16 para la trampa de caída. El hecho de que cada una de esas especies haya sido registrada en sólo una estación en toda el área de estudio, es indicativo de que ellas presentan una marcada distribución en parches. De manera similar, los "duplicados" (especies encontradas en exactamente dos estaciones de muestreo), fueron evidencia de este tipo de distribución en varias especies. El número de duplicados fue de diez para el método manual, siete para el de Winkler y siete para el de las trampas de caída.

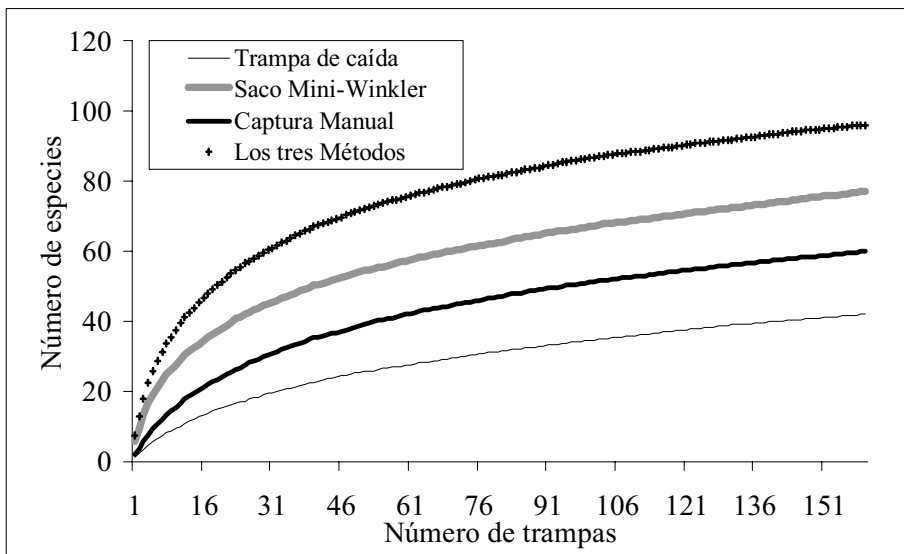
De las 96 especies capturadas, 28 fueron comunes a los tres métodos, lo que representa el 29%. Según los números de Hill N1 y N2, 19 de las 28 especies fueron abundantes y 15 muy abundantes. Así, se puede considerar que al menos el 15%

de las especies observadas en el área de estudio son conspicuas y fáciles de capturar con cualquiera de los métodos empleados.

De acuerdo con el análisis de agrupamiento y usando el porcentaje de similitud cualitativo de Sorensen, los sitios el Volador y la Asomadera comparten 44 especies que equivalen al 75%. Entre estos dos sitios y el Volador el 50%. Con el porcentaje de similitud cuantitativo de Sorensen la similitud es mayor, así, la Asomadera con el Volador comparten el 96%; entre estos dos sitios y el Seminario el 75%.

En el Seminario se encontró el mayor número de especies exclusivas (13), 10 en la Asomadera y nueve en el Volador. A pesar de que El Seminario presentó la menor riqueza de especies, fue el que aportó mayor número de especies exclusivas, tal resultado se puede atribuir a que existe una tendencia natural a disminuir la diversidad con el aumento en el gradiente altitudinal, como efectivamente se encontró. Resultados similares han sido reportados también por (Vahos 2002; Sarmiento 2000; Samson *et al.* 1997; Fisher 1996); de otro lado, tal diferencia altitudinal, permite un recambio en las especies, con algunas de ellas muy estenotípicas, es decir, muy adaptadas a esas condiciones específicas.

Los altos niveles de similitud entre los sitios sugieren que, aunque estos son fragmentos de hábitat discontinuo inmersos en una matriz antropogénica en la que predomina la urbanización, tienen una importante correlación biológica entre sí y probablemente con otros fragmentos de hábitat a escala re-



**Figura 4.** Curvas acumuladas de especies observadas con cada método de captura.



**Tabla 3.** Número y porcentaje de géneros por gremio para cada sitio de muestreo.

Gremios según hábito alimenticio	Sitio			
	El Volador	La Asomadera	Seminario	Área de estudio
Depredadoras	8 (34,8%)	9 (37,5%)	7 (35%)	13 (39,4%)
Omnívoras	4 (17,4%)	4 (16,7%)	4 (20%)	4 (12,1%)
Cultivadoras de hongos	2 (8,7%)	3 (12,5%)	2 (10%)	4 (12,1%)
Visitantes de nectarios extraflorales	4 (17,4%)	2 (8,3%)	1 (5%)	4 (12,1%)
Depredadoras – saprófagas	1 (4,3%)	1 (4,2%)	0	1 (3%)
Saprófagas – omnívoras	1 (4,3%)	2 (8,3%)	2 (10%)	2 (6,1%)
Saprófagas – visitantes de nectarios	2 (8,7%)	2 (8,3%)	2 (10%)	2 (6,1%)
No se conoce	1 (4,3%)	1 (4,2%)	2 (10%)	3 (9%)
<b>Total géneros</b>	<b>23 (100%)</b>	<b>24 (100%)</b>	<b>20 (100%)</b>	<b>33 (100%)</b>
<b>Gremios según hábito de nidificación</b>				
Nidificación en suelo	17 (74%)	18 (75%)	16 (80%)	26 (78,8%)
Nidificación en árbol	3 (13%)	3 (12,5%)	1 (5%)	4 (12,1%)
Nidificación en suelo y en árbol	3 (13%)	3 (12,5%)	3 (15%)	3 (9%)
<b>Total géneros</b>	<b>23 (100%)</b>	<b>24 (100%)</b>	<b>20 (100%)</b>	<b>33 (100%)</b>

gional. Es posible que la distancia entre los sitios de muestreo (3 a 6 Km) sea cubierta fácilmente por muchas especies de hormigas en sus vuelos nupciales. Hölldobler y Wilson (1990), reportan que los machos y hembras de algunas especies de *Solenopsis* pueden viajar entre 2 y 10 Km para copular.

Altos niveles de similitud de especies entre sitios incluyen frecuentemente especies ecológicamente similares, lo cual hace que la estructura ecológica de la comunidad se conserve (Andersen 1997). Esto es particularmente cierto para el Volador y la Asomadera puesto que mantienen los mismos grupos funcionales, al menos con relación a los hábitos alimenticios y de nidificación.

De acuerdo con los hábitos alimenticios y de nidificación, en toda el área de estudio se caracterizaron 10 grupos funcionales. En todos los sitios, predominaron las hormigas depredadoras, en el Volador ocho géneros, en la Asomadera nueve y en el Seminario siete se clasificaron dentro de este gremio. Junto con el de las Omnívoras, que estuvo representado por cuatro géneros en cada uno de los sitios, fueron los gremios con el mayor número de géneros y por lo tanto los que predominaron.

El gremio de las visitantes de nectarios extraflorales fue relevante en el Volador con cuatro géneros, que contrastan con sólo dos en la Asomadera y uno en el Seminario. El gremio con la menor proporción de géneros fue el de las depredadoras-saprófagas, que estuvo repre-

sentado únicamente por el género *Wasmannia* tanto en el Volador como en la Asomadera y no estuvo presente en el Seminario (Tabla 3).

En cada sitio se mantiene una organización funcional semejante: varios gremios con pocos géneros cada uno. La alta similitud tanto en la estructura ecológica como en la composición taxonómica entre sitios puede indicar que los ensamblajes de hormigas estudiados, están influenciados por procesos ecológicos muy similares. Por ejemplo, el Volador y La Asomadera, con los ensamblajes más semejantes, tienen características comunes en cuanto a sucesión ecológica, clima y niveles de perturbación.

Diferentes acciones tendientes a crear mayor heterogeneidad del hábitat así como estructuras vegetales más complejas en las áreas protegidas del Valle de Aburrá, podrían incrementar no sólo las diferencias en la estructura ecológica de los ensamblajes locales de hormigas, sino también probablemente su diversidad. La diversidad de insectos puede estar más relacionada con la complejidad de la vegetación y la diversidad espacial de plantas que con la diversidad taxonómica de las mismas (Magurran 1988).

Con relación al hábito de nidificación, el 79% de los géneros registrados anidan en el suelo, el 12% en árboles y el 9% en ambos estratos (Tabla 3). Esto es consecuente con el hecho de que dos de los métodos de captura estuvieron dirigidos exclusivamente al estrato suelo y un tercer método (captura manual), estuvo di-

rigido tanto al suelo como al estrato arbóreo.

### Conclusiones

Las comunidades de hormigas en el Valle de Aburrá se caracterizaron por tener un alto número de especies con distribuciones de frecuencia irregular, un considerable número de especies raras y muchas especies ampliamente distribuidas. La organización funcional fue similar a través de los sitios de muestreo. De acuerdo con los estimadores de riqueza ICE y Jackknife1, en el área de estudio se podría encontrar aún más especies. Los métodos de muestreo, que en este trabajo se dirigieron particularmente al suelo, permitieron tener una mejor representación de las especies del estrato rasante. A escala local, la diversidad de hormigas disminuyó con el incremento altitudinal. A pesar de ser pequeños y tener estructuras vegetales principalmente homogéneas, los sitios evaluados en este estudio albergan un alto número de especies de hormigas y cada uno aporta una riqueza particular a la diversidad local de Formicidae.

La diversidad de cada sitio y el aporte de especies exclusivas, los convierte en áreas de gran importancia para la conservación biológica en el Valle de Aburrá. La similitud de especies entre los sitios sugiere la existencia de una gran movilidad de especies de hormigas a través de áreas protegidas y elementos del paisaje como parques, orillas de carreteras, quebradas, vías arborizadas y fragmentos de bosque circundantes. Es necesario conservar y

proteger los sitios de estudio por ser éstos un importante reservorio de la diversidad biológica en el Valle de Aburrá.

### Literatura citada

- ANDERSEN, A. N. 1997. Using ants as bioindicators: Multiscale issues in ant community ecology. *Conservation Ecology* 18 (3): 1-18.
- ARMBRECHT, I. 1995. Comparación de la mirmecofauna en fragmentos boscosos del valle geográfico del Río Cauca, Colombia. *Boletín de Entomología de la Universidad del Valle* 3 (2): 1-14.
- ARMBRECHT, I.; CHACÓN-ULLOA, P. 1999. Rareza y diversidad de hormigas en fragmentos de bosque seco colombianos y sus matrices. *Biotropica* 31 (4): 646-653.
- BEGON, M.; HARPER, J.; TOWNSEND, C. 1999. *Ecología. Individuos, poblaciones y comunidades*. Editorial omega, Barcelona, España. 1042 p.
- BOLTON, B. 1994. *Identification Guide to the Ants Genera of the World*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, London. 222 p.
- BOLTON, B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of the American Entomological Institute*. 71: 1-370.
- BUSTOS, H. J.; ULLOA-CHACÓN, P. 1996-1997. Mirmecofauna y perturbación en un bosque de niebla neotropical (Reserva natural Hato Viejo, Valle del Cauca, Colombia). *Revista de Biología Tropical*. 44 (3) y 45 (1): 259-266.
- CHAZDON, R. L.; COLWELL, R. K.; DENSLOW, J. S.; GUARIGUATA, M. R. 1998. Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forest of NE Costa Rica, p. 285-309. En: Dallmeier, F.; Comiskey, J. A. (eds.). *Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and old world case studies*. Parthenon Publishing. Paris.
- COLWELL, R. K. 1998. EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 5. User's Guide and application. Web site: <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates> Fecha última revisión: 5 agosto 2005. Fecha último acceso: 10 noviembre 2005.
- CONTRALORÍA GENERAL DE MEDELLÍN. 1998. Informe del estado de los recursos naturales y del medio ambiente. Impacto de la gestión pública municipal. 281 p.
- DINERSTEIN, E.; OLSON, D. M.; GRAHAM, D. J. 1995. A conservation assessment of the terrestrial ecoregions of Latin America and the Caribbean. The world wildlife fund and the world bank. Washington, D.C. 129 p.
- ESPINAL, L. S. 1990. Zonas de vida de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Medellín 121 p.
- FISHER, B. 1996. Ant diversity patterns along an elevational gradient in the réserve naturelle intégrale d'Andringitra, Madagascar. *Fieldiana Zoology* (n.s) 85: 93-108.
- HÖLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. *The Ants*. Harvard University press. Cambridge, Massachusetts. 732 p.
- KATTAN, G. H.; ALVAREZ, H. 1996. Preservation and management of biodiversity in fragmented landscapes in the Colombian Andes. p. 3-18. En: Schelhas, J.; Greenberg, R. (eds.). *Forest patches in tropical landscapes*. Island Press. Washington D.C. U.S.A. 426 p.
- LONGINO, J. T. 2004. Key to *Nesomyrmex* and *Temnothorax* of Costa Rica. Web site: <http://www.evergreen.edu/ants/genera/nesomyrmex/key.html> Fecha última revisión: 5 septiembre 2004. Fecha último acceso: 10 noviembre 2005.
- LUDWIG, J. A.; REYNOLDS, J. F. 1988. *Statistical ecology: a primer of methods and computing*. Wiley Press, New York. 337 p.
- MACKAY, W. P.; MACKAY, E. E. 1989. Clave de los géneros de hormigas en México. Segundo Simposio Nacional de Insectos Sociales. México. p. 1-82.
- MAGURRAN, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton university press. Princeton, New Jersey. 178 p.
- MAJER, J. D. 1983. Ants: Bio-indicators of minesite rehabilitation, land-use and land conservation. *Environmental Management* 7 (4): 375-383.
- MAJER, J. D.; DELABIE, J. H. 1994. Comparison of the ant communities of annually inundated and terra firme forest at Trombetas in the Brazilian Amazon. *Insectes Sociaux*. 41: 343-359.
- MORRISON, L. W. 1996. The ants. (Hymenoptera: Formicidae) of Polynesia revisited: species numbers and the importance of sampling intensity. *Ecography* 19: 73-84.
- PALACIO, G. E. E. 1998. Clave para los géneros de hormigas de Colombia. Santafé de Bogotá, Sin publicar. 25 p.
- RICHARDSON, B. A. 1999. The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. *Biotropica* 31 (2): 321-336.
- ROTH, D. S.; PERFECTO, I.; RATHCKE, B. 1994. The effects of management systems on ground-foraging ant diversity in Costa Rica. *Ecological Applications* 4 (3): 423-436.
- SAMSON, D. A.; RICKART, E. A.; GONZALES, P. C. 1997. Ant diversity and abundance along an elevational gradient in the Philippines. *Biotropica* 29 (3): 349-363.
- SARMIENTO, C. E. 2000. Comparación de tres clases de transectos para la captura de hormigas en dos formaciones vegetales. *Caldasia* 22 (2): 327-326.
- SCHELHAS, J.; GREENBERG, R. 1996. *Forest patches in tropical landscapes*. Island Press, Washington D. C. 425 p.
- SERNA, F. J. 1999. Hormigas de la zona de influencia del proyecto hidroeléctrico. Porce II. Trabajo de grado de Magister en Entomología. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Medellín. 250 p.
- SHAFFER, C. L. 1995. Value and shortcomings of small reserves. *Bioscience* 45: 80-88.
- SHATTUCK, S. O.; BAMETT, N. J. 2001. The guide to the Australian ant fauna. Australian ants online. Web site: <http://www.ento.csiro.au> Fecha última revisión: 6 febrero 2006. Fecha último acceso: 10 febrero 2006.
- TORRES, J. A. 1984. Diversity and distribution of ant communities in Puerto Rico. *Biotropica* 16 (4): 296-303.
- VAHOS, A. 2002. Muestreo de hormigas como indicadores del grado de perturbación en fragmentos de bosque. Trabajo de grado de ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Medellín. 24 p.

Recibido: 01-dic-04 • Aceptado: 12-jul-06

## Caracterización molecular de líneas de *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) mediante AFLP

Molecular characterization of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) strains by AFLP

DUVERNEY GAVIRIA A.<sup>1</sup>, ENRIQUE AGUILAR F.<sup>2</sup>, LILIANA RAMÍREZ L.<sup>3</sup>, ÁLVARO ALEGRÍA S.<sup>4</sup>

**Resumen.** Veintitrés líneas de gusano de seda *Bombyx mori* L. (12 líneas de origen japonés y 11 líneas de origen chino), pertenecientes al banco de germoplasma de gusano de seda del CDTS (Centro de Desarrollo Tecnológico de la Sericultura) se analizaron utilizando la técnica de Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLP). Se emplearon cuatro combinaciones de iniciadores. Las cuatro combinaciones ensayadas arrojaron 247 bandas con un polimorfismo promedio de 54,6%, las cuales después de ser corregidas según el criterio de Lynch y Milligan resultaron en 168 bandas con un polimorfismo de 90,4%. El dendrograma construido utilizando el algoritmo UPGMA para los datos de disimilitud, reveló dos grupos muy bien definidos que corresponden a las razas geográficas japonesa y china. El promedio de heterocigocidad fue mayor en las líneas de la raza japonesa, observándose una dispersión mayor en el análisis de UPGMA y de los componentes principales. El estudio de la estructura poblacional indica que aunque las dos razas no son muy diferentes entre sí, existe un componente de varianza mayor entre los grupos establecidos que dentro de éstos, lo que muestra un grado significativo de diferenciación genética.

**Palabras clave:** Sericultura. Estructura poblacional. Marcadores moleculares.

**Abstract.** Twenty-three silkworm *Bombyx mori* L. strains (twelve Japanese and eleven Chinese strains), belonging to the CDTS (Technological Development Center for Sericulture) silkworm germplasm bank, were analyzed using the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) technique. Four combinations of primers were used. The four assayed combinations produced 247 bands with an average polymorphism of 54,6%; which, when corrected using Lynch and Milligan's criteria, resulted in 168 bands with a polymorphism of 90,4%. The dendrogram was built using the UPGMA algorithm for the dissimilarity data, revealing two very well defined groups that correspond to the Japanese and Chinese geographical races. The heterozygosity average was higher in the Japanese race lines, showing a greater dispersion in the UPGMA and the main components analysis. The population structure study indicate that although the two races are not very different from each other, there exists a component of greater variance between the established groups than within them, which shows a significant level of genetic differentiation.

**Key words:** Sericulture. Population structure. Molecular markers.

### Introducción

Dentro de las diversas variedades de polillas que secretan fibras de seda, se incluyen *Bombyx mori* L. de la familia Bombycidae y las especies silvestres de la familia Saturniidae: *Antherae mylitta* Drury, *Antherae pernyi* Guérin-Ménéville, *Antherae assama* Westwood y *Antherae yamamai* Guérin-Ménéville. Con una historia de más de 5.000 años de domesticación, el gusano de seda, *B. mori*, es la especie más importante a nivel agronómico como productor de seda; es el lepidóptero mejor estudiado debido a su rico repertorio de mutacio-

nes bien caracterizadas que afectan virtualmente cada carácter de la morfología del organismo como también de su comportamiento y desarrollo. Su genoma haploide, con un tamaño de 560 Mb, es 3,8 veces más grande que el de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) y se distribuye en 28 cromosomas holocéntricos de tamaño muy reducido (Nagaraju 2002).

El "stock" genético del gusano de seda domesticado lo componen un gran número de ecotipos y líneas autocruzadas artificialmente que se distribuyen en regiones templadas (líneas que presentan

diapausa) y tropicales (líneas sin diapausa). Estas variedades difieren, entre otros, en los caracteres cualitativos y cuantitativos que afectan la calidad de la seda. Las líneas sin diapausa son pobres productoras de seda, presentan crecimiento rápido, peso corporal bajo y fibras de seda gruesas y cortas, son resistentes y se sabe que se pueden desarrollar aún en condiciones desfavorables como las encontradas en regiones tropicales con temperaturas altas y humedad alta propicias para condiciones de sanidad baja y el desarrollo de pestes y enfermedades. Las líneas tropicales de gusano de seda, sin embargo, presentan un gran número de

1 Biólogo. Asistente de investigación- CENBIOTEP-Universidad Tecnológica de Pereira E-mail: dugaar@utp.edu.co

2 Autor para correspondencia: Biólogo, Docente- Facultad Ciencias de la Salud CENBIOTEP-Universidad Tecnológica de Pereira. La Julita, Pereira-Risaralda, Teléfono: 3215393, E-mail: eaf578@yahoo.com

3 Licenciada Biología y Química. Técnico-Centro de Desarrollo Tecnológico de la Sericultura (CDTS).

4 Doctor en Biología Molecular y Bioquímica, Director-CENBIOTEP-Universidad Tecnológica de Pereira. E-mail: AlvaroHAlegriaSA@netscape.net

crías al año; es decir, son polivoltinas, lo que de alguna manera compensa su productividad baja. Las líneas con diapausa, producen mayor cantidad de seda y de mejor calidad, presentan una vida larval larga, peso corporal alto y fibras de seda largas y delgadas aunque sólo se pueden obtener una o máximo dos crías al año (uni o bivoltinas). En estas últimas, a pesar de ser mejores productoras de seda, su cría en regiones tropicales no es viable dada su alta susceptibilidad a pestes y malas condiciones de cría (Sharma *et al.* 1990).

Dado el trabajo que con el gusano de seda se ha llevado a cabo desde hace muchos años, en este momento se cuenta con una gran cantidad de ecotipos y más de 3.000 líneas mejoradas, y aproximadamente 400 mutantes hereditarios muchos de los cuales ya han sido mapeados (Doira 1992). La identificación y explotación de los polimorfismos al nivel de secuencias de ADN es uno de los desarrollos más significativos de la biología molecular; este tipo de polimorfismos ha sido usado con éxito en diversas especies de plantas y animales, tanto en programas de mejoramiento como de identificación varietal, QTLs y mapeo genético. El uso de marcadores moleculares posee varias ventajas sobre la identificación por caracteres morfológicos, ya que no se afectan por el ambiente, y pueden ser identificados en cualquier estadio de desarrollo (Nagaraju 2000).

En el gusano de seda, se han empleado muchas técnicas para identificar el polimorfismo a nivel molecular, como el uso de marcadores enzimáticos, estudiando amilasas de hemolinfa en líneas de gusanos tropicales y de regiones templadas (Nagaraju 2000). Los análisis permitieron identificar polimorfismo electroforético de las amilasas anódicas como cuatro bandas en las líneas sin diapausa y cinco bandas en las líneas con diapausa; la banda extra en las líneas de regiones templadas corresponde a una banda de migración lenta. Cuando la separación es catódica, se identificó una sola banda en las líneas sin diapausa y ninguna en las líneas con diapausa. En este estudio también se pudo determinar que las líneas de diapausa excretan cinco veces más almidón que las líneas sin diapausa (Nagaraju 2000). Los estudios moleculares de ADN basados tanto en marcadores que usan PCR como en aquellos que no, analizando trece líneas de gusano de seda seis con diapausa y siete sin diapausa, permitieron la separación de los individuos claramente en dos ra-

mas de un dendrograma, aquella de los individuos con diapausa y aquellos que no presentaban diapausa, al igual que permitió la identificación de marcadores exclusivos para cada uno de los dos grupos (Nagaraju *et al.* 1995). El análisis de hibridización con la sonda Bkm-2 (GATA<sub>66</sub>TA), en las mismas trece líneas de gusano de seda, separó claramente los dos grupos y permitió la identificación de bandas específicas para cada uno, además de la identificación de bandas específicas de sexo (Nagaraju *et al.* 1995). Damodar *et al.* (1999) informaron sobre el análisis de 28 loci microsátelites (SSR) que permitió la identificación de un marcador, sat 211, con alelos específicos para líneas con y sin diapausa, al igual que la identificación de un marcador muy polimórfico, sat 2763, con un total de 17 alelos y con una heterocigocidad elevada (90%) que permitiría fácilmente identificar las relaciones de parentesco y geográficas, muy útil, por ejemplo, en el análisis de variedades silvestres o de especies de gusano en peligro de extinción. Análisis similares sobre las mismas líneas, usando otras técnicas, han arrojado resultados parecidos (Reddy *et al.* 1999). Un estudio comparativo de técnicas de multilocus arrojó resultados importantes a la hora de escoger un sistema de marcadores moleculares para un trabajo en gusano de seda y aunque los agrupamientos fueron similares y se explicaban por la presencia de diapausa, origen geográfico y relaciones de parentesco de los individuos, diferían levemente en el tipo y grado de polimorfismo detectado (Nagaraju *et al.* 2001). El presente estudio tuvo como objetivos analizar las características poblacionales y el grado de diversificación presente entre las líneas de gusano de seda *B. mori* mantenidas en el CDTS.

### Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló sobre 12 líneas de origen Japonés (KOI, K02, KO5, K10, K20, K30, K40, K522, SG3, SG2, NG, KNA) y 11 líneas de origen Chino (CA, CBS, CC, CJ, CGS, CHS, CLS, CTS, SC1, SC2, SC3), todas ellas pertenecientes al Centro de Desarrollo Tecnológico de la Sericultura (CDTS) mantenidas en la finca "El Pilamo", Risaralda.

**Extracción de ADN.** El ADN genómico fue extraído de la porción posterior de la glándula serígena (Suzuki *et al.* 1972). Se tomaron 0,3 g de glándula de seda de cada una de las líneas a analizar, manteniéndolas refrigeradas mientras se procesaban. El tejido se maceró en un tubo de microcentrífuga con amortiguador de

extracción (NaCl 50 mM, EDTA 50 mM, SDS 1%) a 50°C. A cada muestra se agregaron 10 µl de proteinasa K (100 µg/ml). Las muestras se maceraron periódicamente hasta no observar fragmentos, durante la incubación en el baño. Se llevó a cabo extracción con un volumen de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25-24-1) durante 5 min; posteriormente se centrifugó a 14.000 rpm durante 5 minutos y se recuperó la fase acuosa en otro tubo al que se le agregó un volumen de cloroformo-alcohol isoamílico (24-1), extra- yéndose durante 5 min. Después de 5 min de centrifugación se tomó la fase acuosa y se le agregaron dos volúmenes de etanol absoluto y 1/10 de acetato de sodio 3M para precipitar los ácidos nucleicos. Posteriormente se resuspendió en amortiguador TE (10mM de Tris-HCl, 1mM de EDTA, pH 8,0) y se incubó a 37°C durante 1 h después de la adición de ARNasa (100 µg/ml). El ADN genómico fue resuspendido y cuantificado por espectrofotometría y observado por electroforesis en gel de agarosa al 0,8%.

**AFLP y selección de iniciadores.** Las reacciones de AFLP (Vos *et al.* 1995) se llevaron a cabo usando el estuche comercial "AFLP Analysis system I" No. catálogo 10544-013, de la casa comercial INVITROGENE, siguiendo las recomendaciones del fabricante. La amplificación selectiva por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó usando una extensión de tres nucleótidos para ambos iniciadores. Las cuatro combinaciones de iniciadores empleadas se escogieron por producir un número alto de polimorfismos no ambiguos, a partir del ensayo de 10 combinaciones sobre cuatro líneas de gusano. Los productos de PCR se mezclaron con 10 µl de solución de carga para secuenciación (98% formamida, 10mM EDTA, 0,025% xileno cianol, 0,025% azul de bromofenol), se calentaron por 3 min a 90°C y rápidamente se enfriaron en hielo; 5 µl de la mezcla se agregaron al gel de secuencia de poliacrilamida al 6% y se sometieron a 90 W durante 90 min. Después de terminada la corrida, el resultado se reveló mediante tinción con plata del estuche comercial "Silver sequence™ DNA sequencing system" de la casa comercial Promega No catálogo Q-4130, siguiendo las recomendaciones del fabricante. El registro permanente de estos resultados se realizó mediante fotografía digital transfiriendo las imágenes a formato TIFF con una cámara Nikon D'100.

**Análisis estadístico.** Las bandas de ADN se tomaron como un locus genético asumiendo además que los alelos marcadores de diferentes loci no comigran y que

cada locus puede ser tratado como un sistema de dos alelos (Lynch y Milligan 1994). De esta manera, se construyeron matrices de datos con 1 para la presencia y 0 para la ausencia de cada uno de los loci. Los datos se organizaron y analizaron por separado en razón de su origen geográfico y dentro de cada una de estas poblaciones se definieron subpoblaciones basándose en su relación de agrupamiento en el dendrograma.

#### Similaridad y análisis de agrupamiento.

La identificación de las relaciones para las 23 líneas de gusano analizadas se basó en las matrices construidas con los índices de similaridad (Nei y Li 1979). Los valores de disimilaridad se analizaron con el método de los pares de grupos no ponderados con media aritmética (UPGMA), y se construyó un dendrograma. Un análisis de componentes principales (Gower 1966) se llevó a cabo para mostrar la distribución de las relaciones en tres dimensiones. Todos estos análisis se hicieron usando NTSYS-pc ver. 2.01 (Rohlf 1998).

#### Estadística descriptiva y diversidad.

Antes de correr cada uno de los análisis el supuesto de homoscedasticidad (homogeneidad de varianzas) fue revisado mediante una prueba de Bartlett (Sokal y Rohlf 1981). Los programas POPGENE, ver. 1.32 (Yeh *et al.* 1997) y TFPGA (Tools for Population Genetic Analysis), ver. 1.3 (Miller 1999) se usaron para calcular, bajo el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg, los siguientes parámetros: (i) frecuencia del alelo recesivo (0) y consecuentemente del dominante, con el método de la expansión de Taylor (Lynch y Milligan 1994), (ii) porcentaje de loci polimórficos, (iii) promedio de heterocigocidad no sesgada de todos los loci (Nei 1978), prueba de neutralidad, prueba exacta de diferenciación poblacional (Raymond y Rousset 1995). Estos análisis se realizaron tanto con las muestras crudas, como con aquellas a las cuales se les había aplicado una restricción al análisis para evitar el sesgo en bandas que presentasen una frecuencia mayor a  $1-(3/N)$  (Lynch y Milligan 1994) datos no mostrados.

**Estructura poblacional.** El programa AMOVA-PREP (Miller 1998) se usó para transformar el conjunto de datos dominantes para el programa de Análisis Molecular de Varianza (AMOVA, ver. 1.55; Excofier *et al.* 1992). Los datos se analizaron como dos poblaciones y además como dos sub-poblaciones dentro de cada una de las poblaciones, para deter-

minar el componente aportado por cada una de las subdivisiones a los componentes de varianza total. Los análisis se realizaron tomando tanto los datos crudos como los datos corregidos con el factor  $1-(3/N)$ .

**Distancia genética.** La distancia genética se evaluó sobre las poblaciones y subpoblaciones con el programa TFPGA (Tools for Population Genetic Analysis), ver. 1.3 (Miller 1999), empleando el cálculo descrito por Nei (1978).

### Resultados

#### Similaridad y análisis de agrupamiento.

La organización de los datos se llevó a cabo definiendo subpoblaciones dentro de cada una de las razas determinadas a través de la relación en el dendrograma y analizando además solamente dos poblaciones correspondientes a cada una de las razas geográficas. La significancia en la escogencia de estos grupos se comprobó estadísticamente con la prueba exacta de diferenciación de poblaciones (Raymond y Rousset 1995), encontrándose que el nivel de estructuración correspondiente a subpoblaciones no era significativo, pero sí el nivel de población. Los análisis individuales de cada una de las combinaciones usadas arrojaron resultados similares y presentaron

índices de correlación entre los datos de las diferentes matrices superiores al 90%, lo que significa que el número de combinaciones empleadas es suficiente para explorar la diversidad presente en estas líneas de gusano de seda. El nivel de polimorfismo para las combinaciones estuvo en el rango 65,6-75,8%, aunque se generó un gran número de fragmentos de restricción (247 bandas), a partir de las muestras individuales con la técnica de AFLP (Tabla 1). Solamente se usaron para el análisis, aquellos fragmentos que fueron polimórficos y se registraron sin ambigüedad; esta corrección se hizo según el criterio establecido por Lynch y Milligan en 1994 analizándose finalmente 168 bandas de los datos totales con un promedio de polimorfismo de 90,4% (Tabla 2). El resto de los análisis se llevaron a cabo solamente para los datos corregidos.

El dendrograma generado por el análisis de UPGMA de las 168 bandas para las cuatro combinaciones de iniciadores resolvió las 23 líneas de gusano de seda en dos grupos perfectamente definidos como raza japonesa y raza china (Fig. 1), a una distancia de 0,22 para las muestras de la raza japonesa y 0,18 para las muestras de la raza china. El análisis permitió identificar perfectamente cada uno de los indivi-

**Tabla 1.** Análisis de las combinaciones de AFLP usadas.

Combinación	Número de loci	Porcentaje de loci polimórficos
E-ACG/M-CAC	72	72,2
E-ACG/M-CAT	46	69,5
E-ACG/M-CAA	67	65,6
E-AGG/M-CAC	62	75,8
Total loci	247	54,6
Total loci (corrección de Lynch y Milligan 1994)	168	90,4

**Tabla 2.** Análisis de estadística descriptiva para cada una de las combinaciones y para la sumatoria de estas combinaciones.

Combinación	Nivel de análisis	Heterocigocidad	Flujo génico (Nm)	Distancia genética	Gst
1	Población 1	0,2199	0,6550	0,3599	0,4329
	Población 2	0,1333			
	Población total	0,3044			
2	Población 1	0,2435	0,5957	0,3476	0,4563
	Población 2	0,0738			
	Población total	0,2794			
3	Población 1	0,1838	0,9350	0,2378	0,3484
	Población 2	0,1684			
	Población total	0,2659			
4	Población 1	0,2632	0,3486	0,3114	0,3486
	Población 2	0,1667			
	Población total	0,3108			
Total	Población 1	0,2446	0,7712	0,3117	0,3933
	Población 2	0,1474			
	Población total	0,2983			
Total (Lynch y Milligan 1994)	Población 1	0,2585	0,7068	0,5052	0,4143
	Población 2	0,2253			
	Población total	0,3785			

duos; sin embargo, en la rama correspondiente a la raza japonesa se obtuvieron dos líneas (K02, SG2) que presentaron patrones de AFLP casi idénticos, distancia igual a 0,08 (Figs. 1 y 2).

**Estadística descriptiva y diversidad.** El conjunto de datos obtenido con las cuatro combinaciones de iniciadores muestra en el dendrograma y en el análisis de componentes principales, que la rama correspondiente a la raza japonesa es más heterogénea que la de la raza china. Esta observación es confirmada con los datos de heterocigocidad, los cuales siempre son mayores para las líneas de raza japonesa que para las líneas de raza china. El estimado del grado de diferenciación poblacional establecido por el valor  $G_{st}$  para cada uno de los loci indica un grado alto de diferenciación (Tabla 3).

**Estructura poblacional.** Los componentes de varianza se obtuvieron a partir de las muestras corregidas, con el programa AMOVA, ver. 1.55. (Excofier *et al.* 1992). Se analizaron las diferencias existentes entre y dentro de las dos razas evaluadas. Este análisis reveló que aunque los componentes de varianza dentro y entre poblaciones son similares, el componente de varianza entre poblaciones fue un poco mayor, lo que sugiere que existe diferenciación entre las dos razas, aunque parece que el grado de diferenciación no es muy alto (Tabla 4). Este resultado se confirmó adicionalmente con una comparación de poblaciones apareadas mediante la significancia del  $F_{st}$ . Se realizó además el análisis de varianza para los subgrupos definidos a partir de los análisis de conglomerados y se determinó que no se comportaban como grupos, lo que significa que no existen en estas poblaciones analizadas niveles de subdivisión menor a aquellos evaluados.

### Discusión y Conclusiones

En el presente estudio se demuestra que la técnica de AFLPs puede ser usada exitosamente en gusano de seda para revelar polimorfismos a nivel del ADN útiles y que en algún momento pueden ser considerados como marcadores genéticos. Los resultados demuestran que esta técnica es valiosa en la identificación de la variabilidad genética en el gusano de seda. En general, la información arrojada por cada una de las combinaciones parece ser la misma, por lo cual se puede decir que el análisis parece estar abarcando la totalidad del genoma del gusano de

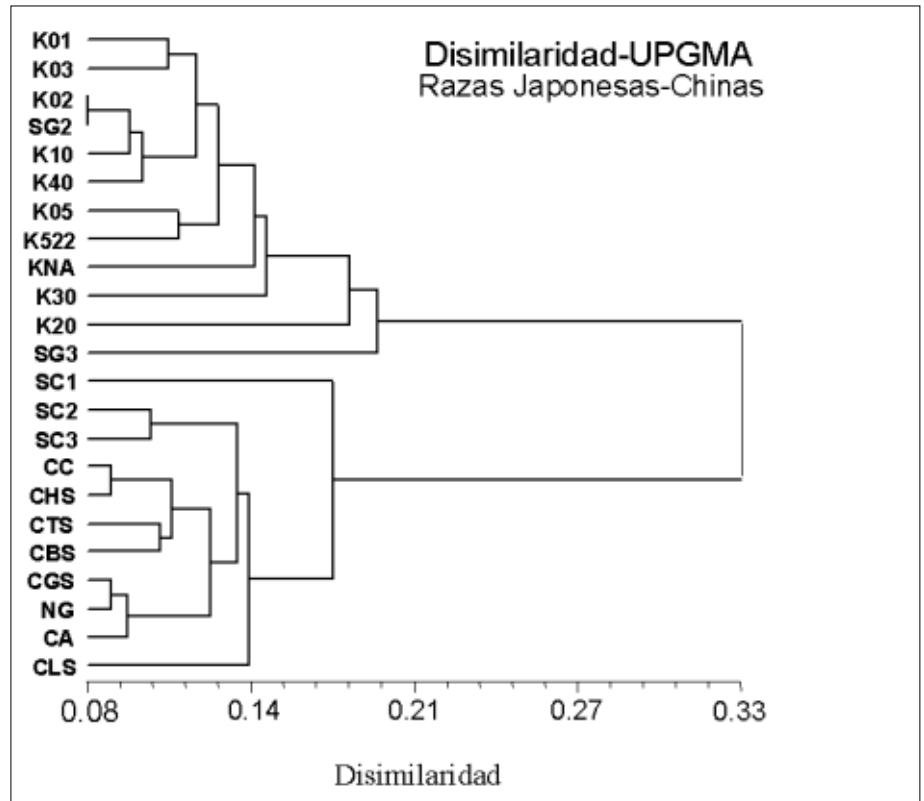


Figura 1. Dendrograma derivado de UPGMA que ilustra las relaciones entre las 23 líneas de las dos razas de gusano de seda *Bombyx mori*. Inferido a partir de los datos de las 168 bandas de AFLPs.

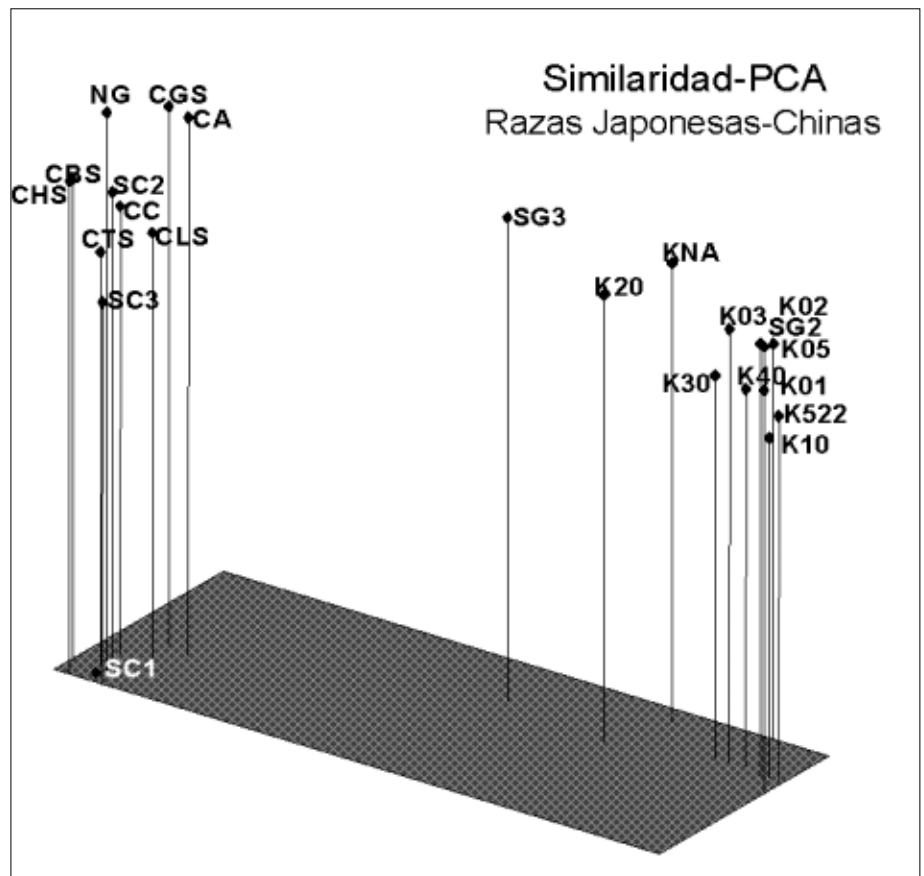


Figura 2. Análisis de componentes principales, una matriz de apareamiento simple, para los datos de similitud obtenidos a partir de los análisis de 168 bandas de AFLPs.

**Tabla 3.** AMOVA-CORREGIDA. Análisis de los componentes de varianza dentro y entre poblaciones de las muestras de gusano de seda *Bombyx mori* L.

Fuente de variación	df	MS	VC	%Total	P	B
Varianza entre poblaciones	1	353,039	28,971	58,57	< 0,0099	< 0,009901
Varianza dentro de poblaciones	21	20,497	20,497	41,43		

seda. El análisis ha permitido la identificación de bandas específicas para cada una de las razas estudiadas, las cuales pueden tener gran utilidad en establecimiento de derechos de propiedad intelectual y la determinación de pureza del germoplasma tanto en las líneas puras como en los híbridos obtenidos para uso comercial.

Los conglomerados formados identificaron perfectamente las líneas sobre la base de su origen geográfico, indicando claramente los componentes japonés y chino de cada una de las líneas, los cuales, parecen estar acentuados debido a la estrategia de cómo son mantenidas las líneas, a través de procesos de endogamia. A pesar de que la diversidad observada fue baja, menor al 10%, los resultados permiten sugerir que las líneas a partir de las cuales se está manteniendo la raza japonesa fueron originalmente menos homogéneas que aquellas con las cuales se mantiene la raza china. Sin embargo, en el grupo de origen japonés se identificaron dos líneas casi idénticas y aunque en las líneas chinas se presentan más líneas similares entre sí, no se encontró ninguna con este grado bajo de diversidad. Las variedades geográficas de gusano de seda *B. mori* comparten un gran componente de su genoma. Este nivel de similaridad hace necesario el

estudio y evaluación de mayor cantidad de caracteres en cada una de las líneas que permita decir con mayor certeza si estas líneas, con altos niveles de similaridad, deben ser mantenidas y replicadas; es decir, si vale la pena sostenerlas como "stock" de mejoramiento. De igual manera, es importante evaluar las características de líneas como SG3, K20, K30 en la raza japonesa y sobre todo de la línea SC1 de la raza china, las cuales presentan patrones de AFLP que las ubican distantes de sus conglomerados.

Los resultados de los componentes de varianza sugieren que si se quieren implementar programas de mejoramiento y de obtención de híbridos de mayor productividad, es necesario aumentar la base genética introduciendo nueva líneas ya sea del mismo o de diferente origen geográfico, que permitan un grado mayor de diversidad poblacional.

El gusano de seda, *B. mori*, comprende un gran número de ecotipos y líneas sintéticas endogámicas que muestran un alto grado de divergencia con respecto al origen geográfico, caracteres morfológicos, cuantitativos y cualitativos. Entonces, es importante el estudio de la diversidad genética de varios genotipos de gusano de seda con el propósito de adelantar un programa de mejoramiento de líneas.

**Tabla 4.** AMOVA-CORREGIDA. Análisis de los componentes de varianza dentro y entre poblaciones y subpoblaciones de las muestras de gusano de seda *Bombyx mori*.

Fuente de variación	df	MS	VC	%Total	P	B
V. entre poblaciones	1	353,039	28,033	56,67	< 0,0099	0,009901
V. entre pob. dentro de subp.	2	30,464	1,986	4,02		
V. dentro de subpoblaciones	19	19,448	19,448	39,31		

Fuente de variación	df	MS	VC	%Total	P	B
V. entre subpoblaciones	3	137,989	20,866	51,76	< 0,0099	
V. dentro de subpoblación	19	19,448	19,448	48,24		

Fuente de variación	df	MS	VC	%Total	P	B
V. entre poblaciones	1	353,039	28,971	58,57	< 0,0099	0,009901
V. dentro de población	21	20,497	20,497	41,43		

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero por parte de COLCIENCIAS del proyecto con código 1110-12-11603 y de la Universidad Tecnológica de Pereira en el marco de la convocatoria en biotecnología.

## Literatura citada

- ABRAHAM, E. G.; NAGARAJU, J.; DATTA, R. K. 1992. Biochemical studies of amylases in the silkworm, *Bombyx mori* L.: Comparative analysis in the diapausing and nondiapausing strain. *Insect Biochemical and Molecular Biology* 22 (8): 687-873.
- DAMODAR, K.; ABRAHAM, E. G.; NAGARAJU, J. 1999. Microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: Abundance, polymorphism, and strain characterization. *Genome* 42: 1057-1065.
- DOIRA, H.; FUJII, H.; KAWAGUCHI, Y.; KIHARA, H.; BANNO, Y. 1992. Genetic stock and mutation of *Bombyx mori*. Institute of Genetic Resources, Kyushu University, Japan.
- EXCOFIER, 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 data. *Genetics* 131: 479-491.
- GOWER, J. C. 1966. Some distance properties of latent roots and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53: 325-338.
- 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 ANOVA input files from dominant marker raw data. Computer software distributed by the author.
- MILLER, M. P. 1999. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A windows program for the analysis of allozymes and molecular population genetic data. Computer software distributed by the author.
- NAGARAJU, J. 2000. Recent advances in molecular genetics of the silk moth, *Bombyx mori*. *Current Science* 78 (2): 151-161.
- NAGARAJU, J. 2002. Application of the genetic principles for improving silk production. *Current Science* 83 (4): 409-414.
- NAGARAJU, J.; SHARMA, A.; SETHURAMAN, B. N.; RAO, G. V.; SINGH, L. 1995. DNA fingerprinting in the silkworm *Bombyx mori* using banded krait minor satellite DNA-derived probe. *Electrophoresis* 16: 1639-1642.
- NAGARAJU, J.; REDDY, K. D.; NAGARAJA, G. M.; SETHURAMAN, B. N. 2001. Comparison of multilocus RFLPs and PCR-based markers systems for

- genetic analysis of the silkworm, *Bombyx mori*. *Heredity* 86: 588-597.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NEI, M.; LI, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76: 5269-5269.
- REDDY, K. D.; NAGARAJU, J.; ABRAHAN, E. G. 1999. Genetic characterization of the silkworm *Bombyx mori* by simple sequence repeat (SSR)-anchored PCR. *Heredity* 83: 681-687.
- ROHLF, F. J. 1998. NTSYS-PC numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.01. Owner's manual. Exeter publication, Setauket, NY, USA.
- RYMOND, M.; ROUSSET, F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.
- SHARMA, A.; NIPHADKAR M. P.; NAGARAJU, J. SINGH, L. 1990. DNA fingerprint variability within and among the silkworm *Bombyx mori* varieties and estimation of their genetic relatedness using BKM-derived probe. *The Journal of Heredity* 90 (2): 315-319.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. 1981. *Biometry*. 2<sup>nd</sup> ed. Freeman, NY. 832 p.
- SUZUKI, Y.; GAGE, L. P.; BROWN, D. D. 1972. The genes for fibroin in *Bombyx mori*. *Journal of Molecular Biology* 70: 637-649.
- YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. B.; YE, Z. H.; MAO, J. X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, Alta.*
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DEER LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMEN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

Recibido: 30-jul-04 • Aceptado: 25-dic-05



## ÍNDICE GENERAL DEL VOLUMEN 32 (1-2) 2006

.....

- A**
- α-amilasas* 125-130
- Abejas 93, 96
- Abejas no urbanas 79
- Abejas silvestres 77-79, 81-84
- Abejas transeúntes 78, 83
- Abelia grandiflora* 80, 81, 83
- Abutilón 4, 6
- Acacia melanoxyllum* 126
- Acacia negra 155
- Acacia schaffneri* 197
- Acanthaceae 77, 80, 81, 83
- Acari 161
- Accesibilidad 19-21
- ACE 200, 204, 205
- Acla* 204, 206, 210, 211
- Acridinae 206, 210
- Acromyrmex aspersus* 151
- Acromyrmex balzani* 151
- Acromyrmex coronatus* 151
- Acromyrmex hystrix* 151
- Acromyrmex landolti* 151
- Acromyrmex octospinosus* 151
- Acromyrmex rugosus* 151
- Acromyrmex subterraneus* 151
- ADE 34
- Adenantha pavonica* 126
- ADN circular 3
- Aedes aegypti* 53, 55, 59, 60, 172-175
- Aedes triseriatus* 59, 60
- AFLP - Amplified Fragment Length Polymorphism 221-226
- Africa 2, 4, 45-48, 81, 83, 101, 103, 107, 140, 143
- African cassava mosaic 4
- Afroxydriis* 97
- Agapanthus orientalis* 81
- Agapanto azul 81
- Agregación 10-13, 15
- Agrobacterium tumefaciens* 126
- Agroecosistemas 2, 3
- Alcaparro 81
- Aleocharinae 163
- Aleurotrachelus socialis* 140-144
- Aleyrodidae 1, 140, 143, 144
- Alkindus atratus* 131
- Allium cepa* 32
- Allium fistulosum* 32
- Allomerus demerarae* 85-92
- Allosmaitia* 182
- Allosmaitia strophius* 182, 187
- Almacenamiento 24-30
- Almendro 155
- Altiplano cundiboyacense 78
- Altos de Pacora (Panamá) 136-139
- Amaranthus* 126, 130
- Amaryllidaceae 81
- Amastigotes 165-171
- Amazonia 176, 177
- Amazonía peruana 87
- Amblyoponinae 216
- América 45, 48, 131, 135, 141, 172, 174, 175
- América Central 4, 7
- América del sur 152
- América Latina 2, 4, 5, 7, 8
- América tropical 49
- AMOVA 49, 51, 52, 54-56, 224, 225
- AMOVA-CORREGIDA 225
- AMOVA-PREP 223, 225
- Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP 221-226
- Análisis Radio Inmunológico (RIA) 160
- Anastrepha* 136-139
- Anastrepha anomala* 136-138
- Anastrepha distincta* 138
- Anastrepha serpentina* 136-138
- Anastrepha striata* 138
- ANAVA 20, 34, 36
- Andes 73, 77, 78, 81, 82, 84, 93, 96
- ANDEVA 89
- Andrenidae 73, 79, 84, 93, 96
- Andropogon gayanus* 146
- Annonaceae 138
- Anochetus* 216
- Anomala* 191, 196
- Anomala cincta* 193, 194, 196, 197
- Anomala foraminosa* 193, 194, 197
- Anomala forreri* 193, 194, 196, 197
- Anomala inconstans* 192-194, 196, 197
- Anopheles albimanus* 55, 56
- Anopheles albitarsis* 50-52, 55, 56
- Anopheles darlingi* 49-55
- Anopheles marajoara* 49-55
- Anopheles nuneztovari* 49-56
- ANOVA 12, 46, 47, 58, 167, 168, 203
- Antherae assama* 221
- Antherae mylitta* 221
- Antherae pernyi* 221
- Antherae yamamai* 221
- Anthiphora bomboides stanfordiana* 76
- Anthirrhinum majus* 80, 81
- Anthonomus grandis* 68, 72
- Anthophora (Mystacanthophora) walteri* 73-77, 79-82, 84
- Anthophorini 73, 75, 76, 79, 84
- Antibiosis 125-130
- Antioquia 32, 214, 215, 217
- Apía 61, 62, 65
- Apiales 20
- Apidae 73-80, 84, 93, 161
- Apini 74
- Apis mellifera* 74, 75, 80, 93
- Apocynaceae 81, 137, 138
- Apoidea 77, 84, 93, 96
- Apuecla* 183
- Apuecla upupa* 183
- Arachis hypogaea* 31, 32
- Arachnoscelis* 206, 210
- Aragua 173, 174
- Araliaceae 202
- Araneae 161
- Araneae 161
- Arañas 201, 212
- Arawuacus* 182
- Arawuacus leucogyna* 182
- Arco iris 3
- Arecaceae 202
- Argentina 5, 6, 136, 139
- Arizona 2
- Arquitectura floral 18, 19, 21
- Arroz 131-135
- Arveja 32
- Arvensis(s) 19, 20, 22
- Asia 2, 4, 102, 140
- Asparagus officinalis* 32
- Aspergillus* 32
- Asteraceae 19, 77, 79, 80, 81, 215
- Asterales 19
- Astroemeria* 81
- Astromelia 81
- Atlántico 32
- Atlides* 182, 185, 188, 189
- Atlides atys* 182, 188
- Atlides browni* 182, 185, 188
- Atlides dahnersi* 182, 185, 188
- Atlides polybe* 182, 185, 188
- Atlixac (México) 191, 192, 196-198
- Atta cephalotes* 151-153, 155-158
- Atta colombica* 151
- Atta laevigata* 151, 152, 157
- Atta mexicana* 151, 196, 199
- Atta sexdens* 151
- Attamyces* 151
- Aubergina* 183, 185
- Aubergina hesychia* 183, 185
- Augochlora aurinasis* 79
- Augochlora bogotensis* 79
- Augochlora dorsualis* 79
- Augochlora ectasis* 79
- Augochlora esox* 79
- Augochlora foxiana* 79
- Augochlora laenifrons* 79
- Augochlora myrrhites* 79
- Augochlora repandirostris* 79
- Augochlorella (Pereirapis) simotes* 79
- Augochlorini 79
- Aveexcrenota* 182, 185
- Aveexcrenota anna* 182, 185, 188
- Avispas 201
- Azadirachta indica* 8, 45, 48

- Azalea 81  
 Azteca 86, 87, 92  
 Azteca ulei var. cordiae 86
- B**
- Badea 4  
 Bailarina 81  
 Balboa 39, 41, 42, 44  
 Balsaminaceae 81  
 Banano 67, 72  
 Barbarea vulgaris 20  
 BCaMV 6  
 BDMV 6, 7  
 Bean calico mosaic virus 6  
 Bean dwarf mosaic virus 6  
 Bean golden mosaic Gvirus 3  
 Bean golden yellow mosaic virus 5  
 Beauveria bassiana 8, 101, 102, 106, 108-118, 120, 123, 124  
 Bees 73-76  
 Beet curly top virus 3  
 Begomovirus 1-4, 6-8  
 Begonia 81  
 Begoniaceae 81  
 Belalcazar 39, 41, 44  
 Bella-helena 81  
 Bemisia argentifolii 2  
 Bemisia tabaci 1-8  
 Bemisia tuberculata 140  
 Berbenaceae 215  
 BGMV 5, 7  
 BGYMV 5-8  
 Bignoniaceae 81, 215  
 Billia 203  
 Biodiversidad 179, 181  
 Biotipo A 2, 6  
 Biotipo B 1-3, 6  
 Biotipo(s) 1-3, 6  
 Blakia granatensis 81  
 Blattaria 161  
 Blattidae 161  
 Blissus leucopterus 131  
 Boca de dragón 80, 81  
 Bogotá 73, 77-84, 93, 95, 96  
 Bolívar 32  
 Bolivia 5, 228, 229  
 Bombini 79, 80, 93  
 Bombus (Fevidobombus) atratus 74, 75, 77-82, 84, 93  
 Bombus (Robustobombus) hortulanus 93  
 Bombus atratus 74, 75, 77-82, 84  
 Bombus funebris 78-80, 83  
 Bombus hortulanus 79-81  
 Bombus robustus 79-81  
 Bombus rubicundus 78-81  
 Bombycidae 221  
 Bombyx mori 221, 224-226  
 Boraginaceae 19, 85-87, 89, 91, 92  
 Borracho officinalis 18-22  
 Borraja 19, 22  
 Bos taurus 58
- Bosque andino 200, 201, 211-213  
 Bosque tropical montano 200  
 Bothynus 191, 196  
 Bothynus complanus 193, 194, 196-198  
 Boyacá 177, 178  
 Brachiaria brizanta 146  
 Brachiaria decumbens 125-130, 146  
 Brachiaria dictyoneura 146  
 Brachiaria humudicola 146  
 Brachiaria plantaginea 146  
 Brachiaria ruziziensis 140-145  
 Brachyauchenus 206, 210  
 Braconidae 136, 137, 139, 161  
 Braconidos 19  
 Brangas 182, 185, 186, 188  
 Brangas caranus 182, 185, 188  
 Brangas coccineifrons 183, 185, 186, 188  
 Brasicas 18  
 Brasil 4, 5, 24, 25, 30, 31, 102, 108, 112, 114, 136, 139, 177, 178, 228  
 Brassica kaber 21  
 Brassica oleracea var. botrytis 18  
 Brassica oleracea var. capitata 18  
 Brassica oleracea var. italica 18  
 Brassica rapa 18-22  
 Brassicaceae 19, 20  
 Brevianta 182, 185  
 Brevianta tolmides 182, 185, 188  
 Brevianta undulata 182, 186, 188  
 Broca, Broca del café 39-44, 101-121, 123, 124  
 Brócoli 18  
 Bruchus pisorum 126, 130  
 Buenaventura 49-55  
 Busseola fusca 45-48
- C**
- Cactaceae 81, 84  
 Cactus 79, 81  
 Cadegualina andina 79  
 Caelifera 203, 210  
 Caenohalictus 77-83  
 Caenohalictus columbus 79, 83  
 Caenohalictus cuprellus 93, 96  
 Caenohalictus eberhardorum 79  
 Caenohalictus lindigi 79, 83  
 Caenohalictus modestus 83  
 Caenohalictus moritzi 83  
 Caesalpinaceae 81  
 Café 32, 101-116  
 Cafetal(es) de sol 61-63, 65, 66  
 Cafetal(es) de sombra 61-63, 65  
 Cafetales 102-115  
 Caficultor(es) 39-44, 117-124  
 Calabaza 4, 6  
 Caldas 32, 67, 68, 72, 117-124, 227, 228  
 Caléndula 18, 19, 21, 22  
 Calendula officinalis 18-22  
 Cali, Santiago de Cali 151-158, 179, 180, 181, 183-185, 187, 189
- California 2, 83  
 Calliphoridae 159, 161-164  
 Callosobruchus maculatus 126  
 Calomacraspis 191, 196  
 Calomacraspis splendens 193, 194, 196, 197  
 Camissecla 183  
 Camissecla cleocha 183  
 Canavalia ensiformis 126  
 Canis familiaris 58  
 Caña de azúcar 32  
 Capnodium 3  
 Capra hircus 58  
 Caprifoliaceae 77, 80, 81  
 Capsicum annuum 3  
 Capsicum frutescens 3  
 Carabidae 161  
 Carbamatos 18  
 Carbofurano 160  
 Carebara 97  
 Carebara coeca 98  
 Carebara concinna 97  
 Carebara coqueta 97, 98  
 Carebara guineana 97, 99  
 Carebara intermedia 98  
 Carebara kofana 99  
 Carebara lignata 97, 98  
 Carebara panamensis 98  
 Carebara reina 97-99  
 Carebara semistriata 97-99  
 Carebara tenua 98  
 Caribe 5, 7, 8  
 Cariópside(s) 132-135  
 Carlavirus 3  
 Castniomera humboldtii 68  
 Catantopinae 206, 210  
 Cauca 31, 140, 141  
 Caulopsis 206, 210  
 Cebolla 32  
 Cecropiaceae 215  
 Centris 79, 83  
 Centro América, Centroamérica 5, 131, 136  
 Cepa Rockefeller 173, 174  
 Cephalonomia stephanoderis 101, 106, 107  
 Cera de abejas 33  
 Cercopidae 145, 146, 149, 150  
 Cerro Jefe (Panamá) 136-138  
 Cerro San Antonio o de La Horqueta 179-182, 184-186  
 Cesar 227  
 Cetoniinae 191-193, 197-199  
 Chambimbe 155  
 Chamela (México) 191, 199  
 Chía 78  
 Chiapas (México) 5  
 Chicalá 81  
 Chilicola (Hylaeosoma) aequatoriensis 93  
 Chilicola aequatoriensis 78, 79

- Chilpancingo (México) 191, 192, 196-198
- Chiminango 155
- China 81, 83
- Chinche(s) 31-38, 131-135
- Chinchiná 11, 12, 67, 68, 72
- Chloropidae 161
- Chloroscirtus* 206, 210
- Chnaunanthus* 191, 196
- Chnaunanthus discolor* 193, 195-198
- Chocho 81
- Chrysina* 191, 196
- Chrysina macropus* 192, 193, 196, 197
- Chrysomya albiceps* 162, 163
- Chrysomya megacephala* 162
- Cianuro (HCN) 32
- Cicadellidae 161
- Cilantro 32
- Citrullus lanatus* 3-4
- Cleridae 161-163
- Clorosis 3, 4, 6, 32, 141
- Clorpirifos 121
- Closteroviridae 3
- Clusia* 202, 203
- Clusiaceae 202
- CO2 165-171
- Coccinellidae 10
- Coccus viridis* 102
- Cochliomyia macellaria* 162, 164
- Coefficiente de correlación  $R^2$  25
- Coefficiente de interferencia 10, 13, 17
- Coffea arabica* 32, 101, 114, 125
- Coffee berry borer (cbb) 101
- Cogua 19
- Col 3
- Coleoptera 10, 25, 30, 39, 46, 67, 69, 72, 101, 111-117, 123-126, 128, 130, 159, 161, 191, 199, 201, 212, 213
- Coliflor 18
- Collembola 161, 163
- Colletes* 78, 79
- Colletidae 73, 79, 84, 93
- Colletinae 79
- Colombia 1, 4-6, 8, 9, 17, 19, 22, 23, 31, 32, 37, 38, 40, 41, 43-45, 47, 49, 50, 52, 54-56, 60, 61, 65-68, 72-74, 77, 78, 82-84, 93, 95, 96-99, 100, 101-116, 125, 130, 136, 139, 140, 143-146, 151, 150, 152, 157, 158, 176-180, 186, 189, 200, 201, 203, 212-215, 22
- Colonias 11
- Complejo picudo 67-71
- Comunicación química 85, 86
- Conejo 159-163
- Contrafacia* 182
- Contrafacia ahola* 182, 187
- Contrafacia imma* 182
- Control de plagas 33
- Control(es) biológico(s) 11, 18, 19, 20, 23-26, 29-32, 37, 101, 111, 117-120, 123, 125
- Control(es) cultural(es) 101, 102, 106, 110, 112, 119, 121, 125
- Control(es) químicos 117-119, 121, 123, 125
- Copiphorinae 210
- Copitarsia* 18
- Cordia nodosa* 85-92
- Cordillera Occidental 179, 180, 184, 189, 201, 202, 207
- Cordillera Oriental 201, 207, 212, 213
- Córdoba 32, 38
- Coriandrum sativum* 32
- Corola(s) 18-22
- Corymelaenidae 131
- Cosmopolites sordidus* 67-72
- Costa Atlántica 176
- Costa Pacífica 176
- Costa Rica 5, 7, 8, 9, 31, 172
- Cota 78, 79, 83
- Cotesia* 19, 23
- Cotinis* 191, 196
- Cotinis mutabilis* 192, 193, 196, 197
- Cotinis pauperula* 193, 196, 197
- Crinivirus 3
- Crocoshia aurea* 80-83
- Cromatografía de Capa Fina (TLC) 160
- Cromatografía de Gases (GC) 160
- Cromatografía Gaseosa Acoplada a Masas (GC-MS) 160
- Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) 159
- Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) 160, 161, 164
- Cromosomas holocéntricos 221
- Croton* 155
- Cruciferae 2
- Crucíferas 18-22
- Cuba 5, 31
- Cucumis melo* 3
- Cucurbita pepo* 4, 197
- Cucurbitaceae 2
- Cúcuta 49-55
- Cuenca del Balsas (México) 191
- Cuernavaca (México) 191, 198, 199
- Culicidae 172, 174
- Cultivos industriales 2
- Cultivos tropicales 31
- Cundinamarca 95, 96
- Cupressus* 215
- Curculionidae 25, 39, 67, 69-72, 101, 112, 114-117
- Curitiba 78, 84
- Curtovirus 3
- Cyanophrys* 182, 186
- Cyanophrys agricola* 182, 187
- Cyanophrys pseudolongula* 182, 185, 187
- Cyatheaceae 203
- Cyclocephala* 191, 196
- Cyclocephala lunulata* 192, 193, 196, 197, 199
- Cyclocephala seipunctata* 194, 196, 197
- Cyclocephala stictica* 193, 194, 196, 197
- Cydnidae 31, 37, 38
- Cydnidae 161
- Cyflutrina 173
- Cynodon* 146
- Cyrtomus bergi* 31, 32, 33, 35-38
- D**
- Dahlia* 79-81
- Dalia 81
- Daucus carota* 20
- DBCA 34
- ddi (días después de infectado) 31, 34-37
- DDT 172, 173
- Dedadera 81
- Delphastus pusillus* 10-17
- Deltametrina 173
- Dengue 173-175
- Depredador(as,es) 10-17, 219
- Depredador-Presa 11, 15
- Dermaptera 161
- Dermestes* 162, 163
- Dermestidae 161-163
- Deroceras reticulatum* 18
- Diadegma* 18, 19, 21, 23
- Diadegma* aff. *insulare* 18-23
- Dialictus* 79-81
- Diapausa 30, 221, 222
- Diente de león 81
- Digitalis* 79-81, 83
- Digitalis purpurea* 79-81, 83
- Diphaglossinae 79
- Diplodia 32
- Diplotaxis* 191, 196
- Diplotaxis atramentaria* 192, 193, 195-197
- Diplotaxis cribriceps* 94, 195, 196, 197
- Diplotaxis megapleura* 193, 195-197
- Diplotaxis trapezifera* 193, 195-197
- Diptera 57, 60, 159, 161-164, 172-174, 176, 178, 221
- Dismicoccus brevipes* 102
- Distancia genética 223
- Diversidad alfa 181, 186
- Diversidad beta 181, 186
- Diversidad gama 181
- Dolichoderinae 86, 216
- domacio, Obreras de 85-91
- Doryctobracon* 136-138
- Doryctobracon areolatus* 136-138
- Doryctobracon auripennis* 136-138
- Doryctobracon capsicola* 136-138
- Doryctobracon crawfordi* 136-138
- Doryctobracon zeteki* 136-138
- Drago 155

- Drosophila melanogaster* 221  
 Drosophilidae 221  
*Duguetia panamensis* 138  
 Dynastinae 191-193, 197-199
- E**  
 Ecitoninae 216  
 Ecología de comunidades 200  
 Economía campesina 18  
 Ectatomminae 216  
*Ectemma* 206, 210  
 Ecuador 31  
 Eficiencia de búsqueda 10-13, 17  
 El Arenal 57  
 El Salvador 5, 7, 172  
 El Seminario 215-219  
 El Volador 215-219  
*Elaeis guinensis* 32  
 Elateridae 161  
 Eletroforesis de esterasas 2  
 Enamorado 81  
*Encarsia* 8  
 Encino 201, 202, 212  
 Enemigo natural 10, 11, 15, 18  
*Eneoptera* 206, 210  
 Eneopterinae 210  
 Ensifera 203, 210  
 Entomología forense 161, 163  
 Entomología urbana 151  
 Entomonemátodo(s) 24, 30, 31, 33, 35, 109-111, 114  
 Entomopatógeno(s) 8, 24, 26, 30, 31-37  
 Entomotoxicología 159, 160, 163, 164  
 Envidado 215  
 Enzimas digestivas 126  
*Equus caballus* 57  
*Eretmocerus* 8  
 Ericaceae 81  
*Erora* 183, 185, 187  
*Erora aura* 183  
*Erora carla* 183, 187  
*Erora lampetia* 183  
*Erora nana* 183, 187  
*Erythrina rubrinervia* 126  
 Escarabajos 191  
 Escarabajos coprófagos 201, 211, 213  
*Escherischi* grupo de especies 97, 98  
 Espárragos 32  
 Especies crípticas 50  
 Especies silvestres 2  
*Espeletia* 81  
 Esperanza de vida 145-147, 149  
 Espinal 4, 5  
 Estados Unidos 2, 6, 19, 20, 136  
 Estomodeo 67-70  
 Estreptomicina 33  
 Estructura poblacional 221, 223, 224  
*Eucalyptus* 215  
 Eucerini 74, 79-80, 93  
*Eucocconotus* 206, 210  
*Eufriesea* 83
- Euglossini 79, 84, 93  
*Eugryllina* 204, 206, 208, 210, 211  
*Eulaema bombiformis* 79  
*Eulaema cingulata* 78, 79, 83  
*Eulaema nigrita* 79  
*Eulaema polychroma* 79, 93  
*Eulaema polyzona* 79, 81  
 Eumaeini 179-190  
 Eumaeínidos 159  
 Eumastacinae 210  
*Euphorbia pulcherrima* 2  
 Euphorbiaceae 45, 201  
*Euphorbia* 191, 197  
*Euphorbia basalis* 192-194, 197  
*Euphorbia biguttata* 192, 193, 197  
*Euphorbia canescens* 193, 194, 197  
*Euphorbia dimidiata* 193, 197  
*Euphorbia iridescens* 192, 193, 197  
*Euphorbia lineoligera* 192, 193, 197  
*Euphorbia pulchella* 193, 194, 197  
*Euphorbia s. leucographa* 192-194, 197  
*Euphorbia subtomentosa* 191-194, 197  
*Euphorbia vestita* 193, 197  
*Euphorbia westermanni* 193, 197  
*Eurhopalothrix* 216  
 Europa, Europe 2, 45, 46  
*Euschistus bifibulus* 131  
*Exaerete smaragdina* 78, 79
- F**  
 Fabaceae 81, 138  
 Factores abióticos 24, 25  
 Falcón (Venezuela) 172-174  
 Fecundidad 140-143  
 Fenitotrión 121  
 Fenol oxidasas 34  
*Ficus* 203  
 Fisher's PLSD 46, 47  
 Fitotoxicidad 3  
 Flebotómíneos antropofílicos 176  
 Flebótomo(s) 165, 166, 169  
 Floración 131-132, 134, 135  
 Fluctuación térmica 61-65  
 Flujómetro 88  
 Foliolos 11  
 Foraging behavior 73  
 Formaldehído 33  
 Formicidae 85-87, 89, 91, 92, 97, 99, 161, 163, 191, 199, 201, 214-216, 219, 220, 227-229  
 Formicinae 216  
 Frailejón 81  
 Fríjol 1-9, 32, 125-128  
*Fucsia denticulata* 81  
 Fuente de Oro 49, 50, 51, 54, 55  
 Funza 78  
 Fusagasugá 11, 12  
*Fusarium* 32
- G**  
 Gachancipá 19  
*Galleria mellonella* 25, 33, 34, 36  
*Gallus domesticus* 58  
 GC - Cromatografía de Gases 160, 164  
 GC-MS - Cromatografía Gaseosa Acoplada a Masas 160  
 Gelastocoridae 161, 163  
 Geminiviridae 1, 3  
 Geminivirus 3, 5-9  
 gen bgm-1, bgm2 7  
 Genicularia 32  
 Genoma 3  
 Genotipos 140, 142, 143  
 Geophilomorpha 161  
 Geraniaceae 81  
 Geranio 81  
 Germoplasma 7  
 Glicerina 33  
 Glicoproteínas 126  
*Golofa* 191, 196  
*Golofa imperialis* 193, 194, 196, 197  
*Gossypium hirsutum* 4  
 Gramineae 125  
 Granada 49-55  
 Granos cosechados 131, 132  
 Granos manchados 132-134  
 Granos picados 132-134  
 Granos sanos 132, 134  
 Granos vanos 132, 133  
 Gryllidae 161, 204, 210, 213  
 Gryllinae 210  
*Grylloides* 206, 210  
 Grylloidea 210  
 Guanare 78, 84  
 Guasimo 155  
 Guatemala 5, 55  
 Guayacán 155  
 Guerrero (México) 191-194, 196-199  
 Gurrubo 81  
 Gusano cabrito 68  
 Gusano canasta 68  
 Gusano de seda 221-226  
 Gusano tornillo 68  
 Guyana 228
- H**  
 Habichuela 1, 2, 6, 7, 11  
 Halictidae 77-80, 82-84, 93  
 Halictini 79, 93  
 Hámster 165, 170  
 Hardy-Weinberg 51  
 Hartley, Varianzas de 12, 13  
 HCN (Cianuro) 32  
*Hebe* 81  
 Hemiptera 31, 37, 38, 140, 144, 145, 149, 150, 161, 163  
 Hesperidae 180  
 Hesperioidea 201  
 Heteroptera 131, 135

- Heterorhabditidae 24  
 Heterorhabdítidos 24, 25, 27-30, 32  
*Heterorhabditis* 31-38  
*Heterorhabditis bacteriophora* 24, 25, 27, 28, 29, 31, 33-37  
*Heterorhabditis bacteriophora* HP88 24, 25, 28, 29  
*Heterorhabditis baujardi* LPP7 24, 25, 28, 29  
*Heterorhabditis indica* 29  
*Heterospilus coffeicola* 111  
 Hilltopping 179, 180, 184, 185, 189, 190  
 Himenópteros 163  
 Histeridae 161  
*Hologymnetis* 191, 197  
*Hologymnetis cinerea* 193, 197  
 Honduras 5, 7, 172  
 Hongos 108, 109, 114-116, 134, 141  
 Hormiga arriera 151-158  
 Hormigas 100, 151, 201, 211, 212, 214-220, 227-229  
 Hormigas cortadoras de hojas 151  
 Hortalizas 2, 6  
 Hospederos 136, 138, 139  
 HPLC 159-164  
 Huastecas 5  
 Huila 32  
*Hygronemobius* 206, 210  
 Hymenoptera 18, 73, 75-77, 84, 93, 96, 97, 99, 136, 139, 161, 191, 199, 201, 214, 227-229  
*Hypera postica* 68, 72  
 Hypogastruridae 161  
*Hypoconera* 215  
*Hypostrymon* 183, 186  
*Hypostrymon asa* 183, 186  
*Hypothenemus hampei* 25, 30, 39, 40, 41, 43, 44, 101-117, 123, 124-126, 130
- I**  
 Ichneumonidae 18, 23  
 Ichneumónidos 19  
*Impatiens balsamina* 81  
 India 2, 6  
 Índice de agregación 15  
 Índice de infección 166, 168, 169, 170  
 Infección celular 166, 167  
 Inflorescencia 19, 22  
*Inga* 62, 138  
*Inga edulis* 62  
 Inhibidor(es) 125-130  
 Iniciadores 221-224  
 Inoculación 3, 5  
 Insecta 200  
 Insecticida(s) 18, 19, 101, 102, 104, 108, 109, 110, 111, 114-123  
 Insecticidas botánicos 8  
 Insecticidas microbiales 32  
 Insecticidas organofosforados 172, 174  
 Insecticidas químicos 18, 19  
 Insectos vectores 166
- Intensificación agrícola 61  
 Interferencia 10-13, 16, 17  
 IPA (Investigación participativa con agricultores) 39, 40  
*Ipomoea batatas* 2  
 Ipomovirus 3  
 Iridaceae 80, 81  
*Isonychus* 191, 196  
*Isonychus ocellatus* 193, 194, 196-198  
 Isopoda 161
- J**  
 Jaccard 179, 181, 185  
 Jalisco (México) 191, 196, 198, 199  
 Jarillones 151, 152, 154, 157  
*Jasminum* 80, 81  
*Jasminum revolutum* 80  
*Jatropha gossypifolia* 45-48  
 Jazmín amarillo 80, 81  
*Johnsonita auda* 182, 188
- K**  
 Kinetoplastida 57, 176  
 Kolmogorov-Smirnov 89, 173
- L**  
 La Asomadera 215-219  
 La Calera 78, 79, 81-83  
 Labiduridae 161  
 Labiidae 161  
*Lacmellea panamensis* 136-138  
 Lambda-dacyhalothrin -trina 173  
 Lamiaceae 80, 81, 96  
*Lamprospilus* 183, 185  
*Lamprospilus arza* 183, 187  
*Lamprospilus decorata* 183, 187  
*Lamprospilus nicetus* 183, 185, 187  
*Lantana camara* 81  
*Laothus* 182  
*Laothus viridicans* 183, 187  
*Lassioglossum* 79, 81, 93, 94  
*Lassioglossum (Dialictus)* sp. 79  
*Lassioglossum (Dialictus) urbanus* 79, 93, 94  
 Lauraceae 202  
 Lavras (Brasil) 24, 25  
*Lecanicillium lecanii* 8  
 Lechugas 3  
 Lectinas 126  
 Leguminosae 2, 81  
*Leishmania* 57, 59, 60, 176, 177  
*Leishmania (Viannia) braziliensis* 57, 59, 60, 177  
*Leishmania (Leishmania) amazonensis* 59, 60, 177  
*Leishmania (Leishmania) chagasi* 165-171  
*Leishmania (Leishmania) forattinii* 177  
*Leishmania (Viannia) naiffi* 177, 178  
*Leishmania (Viannia) panamensis* 169, 170, 177
- Leishmania infantum* 59, 60  
*Leishmania tropica* 59  
 Leishmaniasis 176, 178  
*Leonadoxa africana* 86  
 Lepidoptera 18, 23, 25, 33, 45-47, 161, 163, 179, 180, 189, 190, 201, 212, 213, 221  
 Lepidopteros 18  
 Lepismatidae 161  
*Leptanilloides* 227, 228  
*Leptanilloides biconstricta* 227, 228  
 Leptanilloidinae 227, 228  
*Leucoptera coffeella* 102  
 Levadura de cerveza 33  
 Liliaceae 81  
 Línea celular (Lulo) 165-170  
*Linepithema* 217  
 Lirio amarillo 80, 81  
 Listroscolidinae 206, 210  
*Lobularia maritima* 20  
 Longevidad 140-142  
*Lucilia eximia* 159, 161, 162  
*Lupinus* 79, 81  
*Lutzomyia* 177, 178  
*Lutzomyia (Lutzomyia)* 176, 177  
*Lutzomyia (Nyssomyia)* 176, 177  
*Lutzomyia (Psychodopygus)* 176, 177  
*Lutzomyia amazonensis* 176, 177  
*Lutzomyia ayrozai* 176, 177  
*Lutzomyia carrerai carrerai* 176-178  
*Lutzomyia chagasi* 177  
*Lutzomyia davisii* 176, 178  
*Lutzomyia fairtigi* 177  
*Lutzomyia grupo verrucarum* 176, 178  
*Lutzomyia hirsuta hirsuta* 176, 178  
*Lutzomyia lichyi* 176  
*Lutzomyia longipalpis* 57, 59, 60, 165, 166, 170, 171, 176  
*Lutzomyia migonei* 59, 60  
*Lutzomyia ovallesi* 57-60  
*Lutzomyia shawi* 176, 177  
*Lutzomyia* sp. serie *squamiventris* 176, 177  
*Lutzomyia* sp. serie *townsendi* 176, 177  
*Lutzomyia yuilli* 176, 177  
 Lycaenidae 179, 180, 189  
*Lycianthes lycioides* 81  
*Lycopersicon esculentum* 3  
 Lygaeidae 131  
 Lynch-Milligan, estadístico 51-54
- M**  
*Macraspis* 191, 196  
*Macraspis aterrima* 193, 194, 196, 197  
 Madre de Dios 85, 86  
 Madrid 19, 78, 79  
 Magdalena 32  
*Mahanarva andigena* 149  
*Mahanarva fimbriolata* 149  
 Maíz 31, 32, 37, 125, 126, 128, 129  
 Maize 45, 47, 48

- Maize streak virus 3, 9  
Malaria 49, 50, 52, 55, 56  
Malasia 19  
Malathion 172, 173  
Malpighi, tubos de 67, 69, 70  
Malváceas 6  
Manejo integrado 102, 104, 109-113, 115, 117-124  
Maní 31-34  
*Manihot esculenta* 4, 32, 37  
Mantis 201  
Manto de maría 81  
Mapeo genético 222  
Maracay (Venezuela) 173  
*Marachina* 183, 186  
*Marachina maraches* 183, 186  
Marcadores enzimáticos 222  
Marcadores moleculares 49, 50, 56, 221, 222  
Mariposas 201, 212, 213  
Mastrevirus 3  
Médico-legal 159  
Medio Atrato 49-52, 54, 55  
Mediterráneo 4  
*Megachile* 78, 79, 81, 83, 93, 95, 96  
*Megachile (Cressioniella) amparo* 93, 95, 96  
Megachilidae 73, 79, 93, 95  
Megachilini 93, 95  
Melanización 31, 33, 34, 36, 37  
Melastomataceae 81, 202, 203  
Meliaceae 45  
Meliponini 79, 84  
Melolonthinae 191-193, 197-199  
Melón 4  
Membracidae 161  
*Meriania* 203  
Mérida 57, 60  
Mermelada 81  
Mermítidos 32  
Mesenterón 67-72  
Mesoamérica 2, 6, 7  
Meta 177  
*Metamasius hebetatus* 67-72  
*Metamasius hemipterus sericeus* 67-72  
Método de la medida 39, 41-43  
Método de las 30 ramas 39-43  
México 4-7, 136, 139, 191-194, 196-199  
MIB- Manejo integrado de la broca 117-123  
*Micandra* 182, 189  
*Micandra aegides* 182, 188  
*Micandra platyptera* 182, 188  
Michigan 19, 20, 23  
*Miconia* 202  
*Microplitis croceipes* 19  
Microscopía electrónica de transmisión 167, 168, 170  
*Micrualis malleifera* 3  
Miel (de abejas) 12, 18-22, 33  
*Mimetica* 206, 210  
Mimosaceae 215  
Minas Gerais 25  
*Ministrymon* 182, 185  
*Ministrymon azia* 183, 185  
*Ministrymon cleon* 183  
MINITAB 58  
*Miogryllus* 206, 210  
MIP - Manejo integrado de plagas 25, 40, 44, 126, 132, 135  
Miridae 161  
Mirmecofila 85-87, 91  
Mirto 81  
MMMean 203-205  
Mochitlán (México) 191, 192, 196-198  
Monófagas 2  
Mora 81  
Morelos (México) 191, 196-199  
Morfometría celular 165, 167, 168  
*Mormidea pictiventris* 131  
*Mormidea ypsilon* 131  
Mosaico cálico 4, 6, 7  
Mosaico dorado 1, 2, 4-9  
Mosaico dorado amarillo 1, 2, 4-7  
Mosaico enano 4-7  
Mosca blanca 1-9, 41913, 140, 141, 143, 144  
Mosquera (Cundinamarca) 11, 19, 78-82, 95, 96  
Moteado clorótico 5, 6, 8  
Moteado enano 5  
Multipozo 34  
Muscidae 159, 161, 162  
Mutualismo 85  
*Myrmelachista* 216  
Myrmicinae 86, 87, 136, 151, 158, 214, 216, 217  
*Myrmicocrypta* 216  
Myrtaceae 138, 215  
*Myzus persicae* 18  
**N**  
Nabo 19  
Nariño 107, 112, 115  
*Necrobia rufipes* 162, 163  
Néctar 18-23  
Nectarios 18  
Nematoda 24, 30  
Nemátodo(s) 24-30, 31-37, 109, 114  
Nemobiinae 210  
*Neoblepharidatta* 97  
*Neocorynurella cosmetor* 79  
*Neocorynurella seeleyi* 79, 82  
*Neopamera bilobata* 131  
Neotilénquidos 32  
Neotrópico 2, 31, 140, 180, 227  
*Neoxabea* 206, 210  
NEP 24, 25, 29, 31-37  
*Nesiostrymon* 183  
*Nesiostrymon calchinia* 183  
*Nezara viridula* 131, 135  
Nicaragua 5-7, 172  
*Nicolaea* 183  
*Nicolaea laconia* 183  
*Nicolaea ophia* 183  
*Nicotiana tabacum* 4, 8  
Nidificación en árbol 219  
Nidificación en suelo 219  
Nidos 151-158  
Niveles de infestación 131, 135  
Noctuidae 18, 23, 45-48  
Nodriz(a) 85, 91  
Nymphalidae 180, 189  
*Nyssorhynchus* 49, 56  
**O**  
*Ocaria* 182, 185  
*Ocaria aholiba* 182, 185-187  
*Ocaria calesia* 182, 187  
*Ocaria clepsydra* 182, 187  
*Ocaria ocrisia* 182, 187  
*Oebalus* 131, 135  
*Oebalus insularis* 131, 135  
*Oebalus poecilus* 131  
*Oebalus pugnax* 131, 134, 135  
Oecanthinae 210  
*Oenomaus* 183  
*Oenomaus atesa* 183, 187  
*Oiketicus kirbyi* 68  
Ojo de poeta 81  
Oleaceae 80, 81  
Oligochaeta 161  
Oligonucleótidos polimórficos 51, 52  
*Oligonychus yothersi* 102, 113  
*Olygomyrax silvestrii* 97-99  
Omnívoras 219  
Onagraceae 81  
Onychiuridae 161  
Operon, cebadores 51  
Opiinae 136, 137, 139  
*Opius* 136  
*Opius bellus* 136  
*Opsiphanes tamarindi* 68  
Organofosforados 18  
Orinoquia 176  
*Orthezia praelonga* 102  
Orthoptera 161, 200, 202, 208, 212, 213  
Ortópteros 200-212  
*Oryza sativa* 146  
*Osteospermum ecklonis* 81  
*Ostrinia nubilalis* 45-47  
*Oxydia* 102  
**P**  
*Pachycondyla* 215  
*Paedalgus* 97-99  
Pakistán 2  
Palártico 180  
Palma africana 32  
Palomilla dorso de diamante 18  
*Panacanthus* 206, 210  
Panamá 5, 31, 37, 131, 132, 135-139, 172  
Panícula 32-136

- Panthiades* 182, 186  
*Panthiades paphlagon* 183, 186, 187  
 Panurginae 79, 84  
 Papa 32  
 Papilionidae 180  
 Papilionoidea 201, 212  
 Parámetros demográficos 140-144  
 Parasitismo 85  
 Parasitoide(s) 10, 11, 17-22, 101, 102, 104, 106-116, 134, 136-139  
 Parásitos intracelulares 165  
*Paratrechina steinheili* 61-63, 65  
*Paromius longulus* 131  
*Parrhasius* 183, 187  
*Partamona peckolti* 79, 83  
 Passalidae 201, 212  
*Passiflora quadrangularis* 4  
 Patogenicidad 24, 25  
 Patógenos 1, 2, 4, 8  
 patrulladoras, obreras 85-91  
*Pelargonium* 81  
*Pelidnota* 191, 196  
*Pelidnota virescens* 193, 194, 196, 197  
*Penaincisalia* 182, 188  
*Penaincisalia loxurina* 182, 188  
*Pennisetum clandestinum* 146  
 Pensamiento 81  
 Pentatomidae 131, 135  
*Peridroma* 18  
 Permethrin 173  
 Perú 78, 85, 86, 102  
*Pestemon* 81, 82  
*Petalomyrmex phylax* 86  
 Phalangopsinae 210  
*Phanacoccus herreni* 46  
 Phaneropterinae 210  
*Phaseolus coccineus* 126  
*Phaseolus lunatus* 3, 5  
*Phaseolus vulgaris* 1-5, 9, 11, 32, 125-128  
*Phebotomus* 176  
*Pheidole* 98, 216, 217, 227-229  
*Pheidole scalaris* 227, 228  
*Pheidole synarmata* 227, 228  
 Phlebotominae 176  
*Phlebotomus langeroni* 59, 60  
*Phlebotomus papatasi* 57, 59, 60  
*Phlugis* 206, 210  
 Phoridae 161, 162  
*Phyllophaga* 191, 197  
*Phyllophaga ar dara* 192, 193, 196-198  
*Phyllophaga brevidens* 192, 193, 196-198  
*Phyllophaga crenonycha* 192, 193, 195, 197, 198  
*Phyllophaga crinalis* 192, 193, 196-199  
*Phyllophaga dasy-poda* 193, 195, 197, 198  
*Phyllophaga disca* 193, 197, 198  
*Phyllophaga eniba* 193, 196-198  
*Phyllophaga epulara* 193, 195, 197  
*Phyllophaga fulviventris* 192, 193, 195, 197, 198  
*Phyllophaga integriceps* 192, 193, 197  
*Phyllophaga martinezpalaciosi* 193, 195, 197  
*Phyllophaga obsoleta* 192, 193, 195, 197  
*Phyllophaga ravid a* 193, 195, 197  
*Phyllophaga scabrip yga* 192, 193, 195, 197, 198  
*Phyllophaga setifera* 193, 196-198  
*Phylloscyrtus* 206, 210  
*Phymastichus coffea* 101, 102, 107, 110, 112-116  
*Phythophthora* 32  
 Picudo amarillo 68  
 Picudo negro 68, 72  
 Picudo rayado 68, 72  
 Pieridae 180, 189  
*Pinus* 191, 197, 215  
*Piper* 203  
 Piretroides 18, 173  
 Pirimiphos-methyl 173  
*Pisum sativum* 32, 126, 130  
 Plagas 18, 23  
 Plagas agrícolas 24  
*Planococcus citri* 102, 113  
 Plantas nectaríferas 18-23  
 Plantas ornamentales 2, 3  
 Plátano 67-72  
*Plutella xylostella* 18, 19, 20, 22, 23  
 Plutellidae 18, 23  
 Poder de mortalidad 145-149  
 Poinsetia 2  
 Poliedros 3  
*Polietes* 162  
 Polietismo 85, 86, 91  
 Polimorfismo 221-224  
 Polimorfismo electroforético 222  
*Polyphylla* 191, 196  
*Polyphylla petiti* 193, 195-198  
 Ponerinae 215  
 Porcentaje de infección 34, 35, 37, 165-167, 169  
 Porcentaje de mortalidad 34-36  
*Porthecla* 183  
*Porthecla barba* 183, 187  
*Porthecla porthura* 183, 187  
 Postcosecha 117-119, 121, 122  
*Pouteria buenaventurensis* 136-138  
 Prácticas de control 118  
 Presa-Depredador 11  
 Proceratiinae 216  
 Proctodeo 67-72  
 Promastigote 165-167, 169, 171  
 Propoxur 159-164  
*Prorops nasuta* 101, 102, 107-110, 113, 115, 116  
*Prosapia simulans* 150, 150  
*Protandrena* 79, 93  
 Protandrenini 93  
 Proteínas de defensa 125, 126, 129  
*Protonellus constrictus* 131  
 Protozoos flagelados 165  
*Proxys punctulatus* 131  
 Prueba de Tukey 12, 13, 16, 20-22, 34-37, 58, 59, 89, 141, 143  
 Pseudococcidae 46  
 Pseudomyrmecinae 216  
*Pseudomyrmex*  
*Pseudopachybrachius vinctus* 131  
 Pseudophyllinae 206, 210  
*Psidium guajava* 138  
 PSN (porcentaje de supervivencia de los nemátodos) 24-28  
 Psychodidae 57, 60, 176  
 Pucacuro 87  
 Pulmonata 18  
 Pyralidae 25, 33, 45, 46  
*Pyramica* 227, 228  
*Pyramica minuscula* 227, 228  
 Pyrgomorphidae 206, 210  
*Pythium* 32  
**Q**  
 QTLs 222  
*Quercus* 191, 198  
*Quercus humboldtii* 202, 203, 211  
 Quimbaya 39, 41, 42, 44  
 Quindío 32, 41, 44, 141, 144, 227  
**R**  
 RAPDBOOT 51, 55  
 RAPDDIST 51, 52  
 RAPDFST 51, 55  
 RAPD-PCR 2, 49-56  
 Ratón(es) 165, 166  
 Rayado blanco 3  
 Readales 19, 20  
 Reduviidae 161  
 Región Andina 176  
 Región Neotropical 100, 227, 228  
 Regresión exponencial 12, 15  
 Repollo 18, 20, 23  
 Re-Re 106, 110, 113, 118, 120, 123  
 Resistencia a insectos 125, 129  
 Rhabditida 24, 30  
*Rhamma* 182, 185  
*Rhamma arria* 182, 188  
*Rhamma bilix* 182, 185, 188  
*Rhamma comstocki* 182  
*Rhododendron indicum* 81  
 Rhynchophorinae 70  
*Rhyncophorus palmarum* 68, 72  
*Rhyzopertha dominica* 126, 128  
 Río Cañaveralejo 152, 154  
 Río Cercados 202  
 Río Fonce 200-202, 211-213  
 Río La Rusia 202  
 Río Lili 152  
 Río Meléndez 152, 155  
 Río Pance 152  
 Risaralda 32, 39, 41, 44, 61-63, 65, 222

- Rosaceae 81  
 Rubiaceae 202, 203  
*Rubus* 81  
 Ruda 19  
*Ruta graveolens* 18-22  
 Rutaceae 19  
 Rutelinae 191-193, 197-199
- S**  
 Sabana de Bogotá 19, 20, 22, 77-79  
*Saccharum officinarum* 32, 146  
 Salvado de trigo 33  
*Salvia* 96  
*Salvia* 80, 81, 82  
*Salvia bogotensis* 73-76, 80-82  
 San Carlos de Guaroa 49-51, 54, 55  
 San Martín (Venezuela) 173, 174  
 Santander 200-202, 212, 213  
 Santanderes 32, 176  
*Santanderia insignis* 206, 210  
 Santuario de Flora y Fauna de Guanentá 200-202, 211-213  
 São Paulo 78, 84  
*Sapindus saponara* 155  
 Sapotaceae 137, 138  
 Saprófagas 219  
 Sarcophagidae 161, 162, 164  
 Saturniidae 221  
 Scarabaeidae 191-193, 196-199, 201  
 Scolytinae 39, 101, 112, 114, 117, 125  
 Scott-Knott, Prueba de 23-28  
 Scrophulariaceae 77, 79-81  
 Semiarid 73  
*Senna viarum* 81  
 Sepsidae 161  
 Sericultura 221, 222  
 Serranía de la Macarena 176, 178  
*Sesamia nonagrioides* 45-47  
*Sida* 6  
 Sietecueros 81  
 Sylvania (Cundinamarca) 11, 12  
 Soacha 78  
 Solanaceae 2, 77, 80, 81, 215  
*Solanum jasminoides* 81  
*Solanum pseudocapsicum* 81  
*Solanum tuberosum* 32  
*Solenopsis* 99, 216, 217, 219  
*Solenopsis geminata* 217  
 Solitary species 76  
 Sopó 19, 78  
*Sorghum bicolor* 32  
 Sorgo 32  
 Soya 4, 5  
 Sphaeroceridae 161  
*Sphcodes bogotensis* 78, 79  
 Spodoptera 18  
 Squash leaf curl virus 6  
 SSCP 55  
 Staphylinidae 161-163  
*Steinernema arenarium* 24, 25, 27, 29,  
 30, 33, 35, 37  
*Steinernema feltiae* 31, 33-37  
*Steinernema glaseri* 24-27, 29  
 Steinernematidae 24, 30  
 Steinernematidos 24, 25, 27-30, 32  
 Sternorrhyncha 46  
*Sterphoter* 206, 210  
*Strategus* 191, 196  
*Strategus aloeus* 192-194, 196, 197  
*Strigoderma* 191, 196  
*Strigoderma sulcipennis* 193, 194, 196,  
 197  
*Strigoderma tomentosa* 193, 194, 196,  
 197  
*Strumigenys* 216, 217  
*Strymon* 183, 186  
*Strymon bubastus* 183, 186  
 Subachoque 19-22  
 Sucesión de insectos 159  
 Sucre 32  
 Sudamérica, Sur América, Suramérica 86,  
 136, 139, 227  
 Superparasitismo 19  
 Supervivencia 24-30  
 Surinam 31  
*Sus scrofa domestica* 58  
 Susanita 81  
*Sylvilagus brasiliensis* 160  
 Syrphidae 161
- T**  
 Tabaco 2, 4  
 Tabanidae 161  
 Tabla de esperanza de vida 146, 147  
 Tabla de fertilidad 145, 147-149  
 Táchira (Venezuela) 172-175  
*Tagetes erecta* 197  
 Tamaulipas 5  
 Tambopata 85, 86  
*Taraxacum officinale* 79, 81  
 Tasa de mortalidad 145-150  
 Tasa de supervivencia 145-149  
 Tasa intrínseca de crecimiento 145, 147-  
 149  
 Tasa neta reproductiva 145, 148, 149  
 Tausa 19  
*Tecoma stans* 81  
 Temephos 172-174  
 Temnomastacinae 210  
*Temnomastax* 206, 210  
*Tenebrio molitor* 126  
 Tenebrionidae 46  
 Tenjo 19  
 Tephritidae 136, 139  
 Terebinthales 19  
*Terminalia catappa* 155  
*Tetragonisca angustula* 78, 84  
*Tetramorium simillimum* 61-63, 65  
 Tetriginæ 206, 210  
 Tettigoniidae 203, 206, 210, 212, 213  
*Thaeides* 182  
*Thaeides theia* 182, 188  
 Thailand 45  
*Thecla* 180  
 Theclinae 179, 189  
 Theclini 180, 189  
*Thepytus* 183  
*Thepytus arindela* 183  
*Therita* 182, 185  
*Theritas paupera* 182, 185, 188  
 Theta, estadístico 51, 54  
*Thumbergia alata* 80, 81, 83  
*Thygater aethiops* 74, 75, 77, 79-83, 93  
 Thysanoptera 161  
 Thysanura 161  
*Tibouchina lepidota* 81  
 Tibú 49-55  
 Tiempo generacional 145, 147, 148, 149  
 Tierralta 49-55  
*Timaeta* 182, 185  
*Timaeta eronos* 182, 186, 188  
*Timaeta timaeus* 182, 188  
*Timaeta trochus* 182, 186, 188  
 Tixtla (México) 191, 192, 196-199  
 TLC - Cromatografía de Capa Fina 160  
*Tmolus* 183  
*Tmolus echion* 183  
 Tolima 4, 5, 32, 140  
*Tomarus* 191, 196  
*Tomarus nasutus* 193, 194, 196, 197  
*Tomarus sallei* 193, 194, 196, 197  
 Tomate 1, 3, 4, 6, 9  
 Tomato pseudo-curly top virus 3  
 Tomato yellow leaf curl virus 4  
 Topocovirus 3  
 Trampa White 34  
 Trampas de luz 32, 37  
 Trampas White 25  
 Trébol rojo 81  
 Trehalosa 29, 30  
*Trialeurodes vaporariorum* 6, 10, 11, 13,  
 17  
*Trialeurodes variabilis* 140  
*Tribaca limbativentris* 131  
*Tribolium castaneum* 46, 47, 126, 128  
 Tridactylinae 206, 210  
*Trifolium hybridum* 126  
*Trifolium pratense* 81  
 Trigo 125-128  
 Trigonidiinae 210  
 Tripanosomatidae 176  
*Triticum aestivum* 125-127, 129  
 Trogidae 161-163  
*Trophodeinus* 162  
*Trox* 162, 164  
 Trujillo (Venezuela) 172-174  
 Tubifloras 19
- U**  
 Umbelliferae 20



- V**  
Vacuolas parasitóforas 167  
*Vaginulus* 18  
Valle del Cauca 2, 4, 5, 6, 9, 31, 33, 140, 141, 151, 152, 157, 214-217, 219, 220  
Valle del río Magdalena 176  
var. *Chirosa* 140, 141, 143  
var. *Radical* 125, 127  
Venezuela 4, 57, 60, 78, 84, 136, 139, 172, 174  
Veracruz 5  
Verbenaceae 81  
Veronicellidae (Pulmonata) 18  
Vespidae 161  
*Vestria* 206, 210  
*Vicia faba* 126  
Villavicencio 177  
*Vinca mayor* 81  
*Viola tricolor* 81  
Violaceae 81  
Viriones 3
- Viruela 31, 37  
Virus 1-9  
Virus de la clorosis del melón 4  
Virus de la deformación de la badea 4  
Virus del arrugamiento foliar del fríjol 2, 4, 6  
Virus del arrugamiento foliar del tabaco 4  
Virus del encrespamiento de la hoja de la calabaza 4  
Virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza 6  
Virus del mosaico amarillo del tomate 4  
Virus del mosaico calico de fríjol 4, 6, 7  
Virus del mosaico del abutilón 4, 6  
Virus del mosaico enano del fríjol 5, 7  
Virus del moteado amarillo de la soya 4  
Viterbo 39, 41, 44
- W**  
*Wasmannia* 219  
*Wigginsia vorwerckiana* 81, 84
- WINAMOVA 51  
Wright, estadístico 51, 54, 56
- X**  
Xeromelissinae 79, 84, 93  
*Xylocopa fimbriata* 78, 79  
*Xylocopa frontalis* 93  
Xylocopini 79, 84, 93
- Y**  
Yaguará 49-54  
Yuca 4, 31, 32, 37, 38, 140, 141, 143, 144  
Yucatán 5
- Z**  
*Zea mays* 32, 125-130  
*Ziegleria* 183  
*Ziegleria perisus* 183  
*Ziegleria syllis* 183  
Zona cafetera 101-103, 108-110, 113  
Zulia 172-174  
*Zulia carbonaria* 145, 146, 148-150

# 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 descendiente, (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