

ISSN-0120-0488

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 30 • Número 2 • Julio - Diciembre 2004

Tarifa Postal Reducida No. 239 - Vence Dic. 31 / 2005



Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA

Volumen 30 No. 2 Julio - Diciembre 2004

Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

JUNTA DIRECTIVA SOCOLEN 2002- 2004

Presidente
Miguel S. Serrano

Vicepresidente
Edison Torrado

Secretario
Fernando Cantor R.

Tesorero
Jorge García

Vocales Principales

Aura Cecilia Burgos
Carlos Sarmiento
Eduardo Espitia

Vocales Suplentes

Guiomar Nates
Darío Corredor
Giovanny Fagua

Coordinadora de Biblioteca Aura Cecilia Burgos
Revisor Fiscal de Socolén Ariel Palomino Ulloa

Editora

Paulina Muñoz
Profesor Honorario Universidad Nacional de Colombia

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
Corporación Universitaria de
Ciencias Aplicadas y
Ambientales (UDCA)

Luko Hilje
CATIE, Costa Rica

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

Comité Científico

Alejandra Bravo
Universidad Nacional
Autónoma de México,
Instituto de Biotecnología

Marta Wolff
Universidad de Antioquia,
Instituto de Biología

Fernando E. Vega
USDA-ARS- Insect
Biocontrol Lab., Maryland

Fernando Fernández
Universidad
Nacional de Colombia,
Instituto de Ciencias
Naturales

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

Martha Lucía Quiñones
Universidad de Antioquia,
Programa
de Estudio y Control de
Enfermedades Tropicales
(PECET)

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

Amanda Varela
Pontificia Universidad
Javeriana, Departamento
de Biología

Fernando Montealegre Z.
University of Toronto,
candidato a Ph. D.

Stephen L. Lapointe
USDA-ARS - Horticultural
Research - Lab., 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

Licencia Mingobierno
002274/81

Tiraje 500 ejemplares

**Edición digital
e impresión**
Editorial Guadalupe Ltda.
E-mail: 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.

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



Portada
"Calentando
motores"

Fotografía
Juan Manuel
Rosso
2º puesto
Concurso
de Fotografía
Entomológica
"Luis Felipe
Mosquera"
XXX Congreso,
Cali, julio 2003

Detección de beauvericina en el hongo entomopatígeno *Beauveria bassiana* mediante el uso de anticuerpos policlonales

Detection of Beauvericin in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by using polyclonal antibodies

JORGE W. ARBOLEDA V.¹, FERNANDO DELGADO B.², ARNUBIO VALENCIA J.^{3*}

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 125-130 (2004)

Resumen. El hongo entomopatígeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin es una buena herramienta para el control biológico de insectos que atacan cultivos de importancia económica. Este hongo produce una toxina ciclohexadepsipeptida que muestra actividad biológica como insecticida. El objetivo de este estudio fue producir anticuerpos policlonales que pueden ser utilizados para cuantificación inmunológica de la producción de beauvericina en siete (7) aislamientos de *B. bassiana* (Bb) provenientes de la micoteca de Cenicafe-Colombia. Cultivos líquidos Sabouraud se inocularon con $3,0 \times 10^5$ conidios / ml de cada aislamiento de *B. bassiana* y los extractos se filtraron y se evaluaron a los 7, 9 y 11 días de crecimiento. Los anticuerpos se obtuvieron a través de dos aplicaciones intramusculares a conejos de la raza Nueva Zelanda. Las inyecciones contenían 2,5 mg del inmunógeno emulsificado en adjuvante completo de Freund's para la primera y adjuvante incompleto de Freund's para la segunda aplicación, respectivamente. Las pruebas serológicas utilizadas en este experimento fueron ELISA y Dot - blot. Los resultados mostraron diferencias en la producción de la toxina entre los siete aislamientos del hongo *B. bassiana*. Se presentaron picos de producción de la toxina entre los 9 y 11 días de cultivo. Los niveles detectados de beauvericina fluctuaron entre $1,16 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ para el aislamiento *B. bassiana* 9610 y $1,57 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ para el aislamiento *B. bassiana* 9205. Con esta metodología se podrán seleccionar aislamientos más eficientes para producir la toxina, los cuales pueden ser incorporados en los programas de manejo integrado de plagas.

Palabras clave: BEA. ELISA. Micotoxina.

Summary. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin is a good tool for biological control of insects that attack economically important crops. This fungus produces a ciclohexadepsipeptide toxin that exhibits biological activity as an insecticide. The objective of this research was to produce polyclonal antibodies (Pabs) that could be used for the immunological quantification method in order to quantify of the production of beauvericin in seven (7) strains of *B. bassiana* (Bb) from the collection of Cenicafe-Colombia. Liquid cultures of Sabouraud's medium were inoculated with $3,0 \times 10^5$ conidia/ml of each isolate and these extracts were filtered and evaluated at 7, 9 and 11 days of growth. Pabs were obtained through two intramuscular injections in New Zealand white rabbits. The injections contained 2,5 mg of the emulsified immunogen with Freund's complete adjuvant for the first injection and with Freund's incomplete adjuvant for the second. The serological tests used in this experiment were ELISA and Dot-blot. The results showed differences in toxin production among seven isolates of the fungus *B. bassiana*. All isolations showed a peak of production between 9 and 11 days of culture. The levels of the beauvericin detected fluctuated between $1,16 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ for isolate *B. bassiana* 9610 and $1,57 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ for isolate *B. bassiana* 9205. This methodology will permit selection of the strains most efficient in toxin production, which could be incorporated into integrated pest management programs.

Key words: BEA. ELISA. Mycotoxin.

Introducción

Actualmente se utilizan en el país diferentes aislamientos del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin en el control biológico de insectos plaga como la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) (Bustillo *et al.* 1998). El potencial de este microorganismo en el control biológico de insectos ha

permitido su inclusión en diversos programas de manejo integrado de plagas que atacan cultivos de importancia económica en el país (Ferron 1981). La acción del hongo sobre el insecto es facilitada principalmente por la acción de una gran variedad de metabolitos secundarios producidos a lo largo del proceso de infección. El proceso patogénico del hongo se inicia en la cutícula del insecto con la

germinación de los conidios y la producción de hifas invasoras, las cuales penetran los tejidos a través de los intersticios y partes blandas del insecto (Castellanos 1997) dando inicio de esta forma a la actividad enzimática degradativa de la cutícula (Paterson *et al.* 1994; Delgado *et al.* 2001). Las hifas se ramifican, colonizan y llegan hasta la cavidad hemocélica del insecto, donde se produce una masa micelial

1 Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de café, CENICAFÉ, Colombia. A. A. 2427 Manizales. E-mail: JorgeWilliam.Arboleda@cafedecolombia.com

2 Profesor Titular. Universidad Católica de Manizales. Manizales, Colombia. A. A. 357 Manizales. E-mail: fdelgado@ucaticamz.edu.co

3* Autor para correspondencia: Profesor Asociado. Dpto. de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Caldas. A. A. 275, Manizales-Colombia. Fax: (68) 8862520. E-mail: arnubio@laciudad.com

por el crecimiento del hongo. En muchos casos, el insecto puede ser colonizado totalmente por el hongo (Fig. 1). Además, se liberan toxinas, las cuales están implicadas en bloquear el desarrollo fisiológico y causar la muerte del insecto (Paterson *et al.* 1994; Castellanos 1997). Éstas determinan la gravedad de la enfermedad producida y la capacidad del hongo para bloquear los mecanismos de respuesta inmune del insecto (Vey *et al.* 1985; Ignoffo y Mandava 1988; Eyal *et al.* 1994; Abbas *et al.* 1995).

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios que hacen parte de los mecanismos de infección y pueden dar lugar a una respuesta tóxica en diferentes organismos. Ellos son producidos por una serie de reacciones consecutivas, las cuales son catalizadas por enzimas intermedias del metabolismo primario (Volcy y Pardo 1994). Los métodos más utilizados para la identificación y cuantificación de analitos de interés biológico como las micotoxinas son la Cromatografía de Gases (GC), la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), y la Espectrometría de masas (MS), entre otros (Uribe *et al.* 1997). Estas metodologías son por lo general muy costosas y requieren de personal altamente calificado en el manejo del instrumental (Wilson *et al.* 1998).

En Colombia, se han realizado pocos estudios sobre la acción y la producción de las micotoxinas como beavericina por parte del hongo *B. bassiana*. Por esto, se hace necesario desarrollar metodologías sensibles, rápidas, confiables, económicas y de fácil aplicación que permitan cuantificar la producción de esta micotoxina por los diferentes aislamientos del hongo *B. bassiana* y relacionarlo con la patogenicidad del hongo sobre los insectos plaga (Smith *et al.* 1981; Castellanos 1997). En este

estudio se aplicó una metodología para producir anticuerpos policlonales contra beavericina (BEA), para detectar y cuantificar la presencia de la toxina en cultivos líquidos del hongo *B. bassiana*.

Materiales y Métodos

Material Biológico

Se utilizaron conejos de raza Nueva Zelanda de un año de edad y con un peso aproximado de 5 kg. Los conejos se sangraron antes de ser inoculados con el antígeno, y el suero se utilizó como blanco para las diferentes pruebas inmunológicas.

Preparación del inmunógeno

El inmunógeno empleado para la producción de anticuerpos policlonales se preparó disolviendo 2,5 mg de la micotoxina beavericina (Sigma chemical Co. B 7510) (Sigma 2001), con 1,5 ml de una solución Etanol: Agua en proporción 2:1. Posteriormente, esta solución se mezcló con 3 ml de adjuvante completo de Freund's para la primera aplicación y adjuvante incompleto para la segunda. Finalmente, la solución se emulsificó durante 5 min.

Inoculación de los conejos

Una vez preparada la solución del inmunógeno se procedió a realizar la primera inoculación por vía intramuscular inyectando 0,7 ml del antígeno en tres partes diferentes del cuerpo del conejo. Posteriormente, los conejos se trasladaron al bioterio bajo condiciones normales de alimentación y cuidado. La segunda inoculación a los conejos se llevó a cabo a los 28 días de forma similar a la inoculación inicial con el objeto de buscar una producción masiva de los anticuerpos contra la toxina.

Obtención del antisuero

Después de 10 días de la última inoculación, los conejos se introdujeron en un cajón de madera de modo que el animal quedara inmóvil. Se ubicaron canales sanguíneos de buena irrigación en ambos lados de los ojos y se introdujeron en ellos cánulas de vidrio con el fin de colectar la sangre; también se extrajo sangre realizando pequeñas incisiones en las orejas del conejo con la ayuda de un bisturí estéril. En ambos casos, el área fue cuidadosamente desinfectada con una solución de etanol al 70%. La sangre colectada se dejó a temperatura ambiente durante 24 h y posteriormente se centrifugó a 14.000 rpm durante 20 min. El antisuero obtenido se almacenó en alícuotas de 50 μ l a -80°C y se usó como fuente de los anticuerpos policlonales contra beavericina (AntiBEA).

Reactivación de los aislamientos del hongo *Beauveria bassiana*

Los aislamientos de *B. bassiana* Bb 9205, Bb 9620, Bb 9601, Bb 9616 y Bb 9618, Bb 9610 y Bb 9010 provenientes de la micoteca perteneciente al Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFE - Colombia, se reactivaron en medio sólido Sabouraud complementado con broca macerada al 0,4%. Todos estos aislamientos se seleccionaron por sus diferentes grados de patogenicidad sobre adultos de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Tabla 1).

Obtención de los cultivos líquidos del hongo *Beauveria bassiana*

A Erlenmeyers de 500 ml se adicionaron 200 ml del medio de cultivo líquido Sabouraud conteniendo 0,4% de cutícula de broca. Posteriormente, el medio se esterilizó por autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 15 min (Kucera 1971; Jegorov *et al.* 1998). La inoculación de los hongos en este medio se hizo a partir de una solución madre de 1×10^9 conidios/ml preparada en 10 ml de agua conteniendo tween 80 al 0,1% y glicerol al 0,25% (Vélez *et al.* 1997). A partir de esta solución se realizaron diluciones seriadas hasta obtener una dilución de 10^{-3} . Tres recipientes se inocularon con los diferentes aislamientos de *B. bassiana* a una concentración de 3×10^5 conidios/ml. Los medios de cultivo se dejaron durante 11 días en agitación rotacional a 110 rpm a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y HR 80%.

Procesamiento de las muestras

Los cultivos líquidos se colectaron a los 7, 9 y 11 días de crecimiento, y se filtraron al vacío utilizando papel Whatman #1. El extracto líquido se centrifugó a 15.000 rpm durante 30 min, y la toxina presente en el sobrenadante se concentró haciendo uso de membranas con un punto de exclusión de 3 Kda (Buchwaldt y Jensen 1991; Jegorov *et al.* 1998; Kershaw *et al.* 1999).

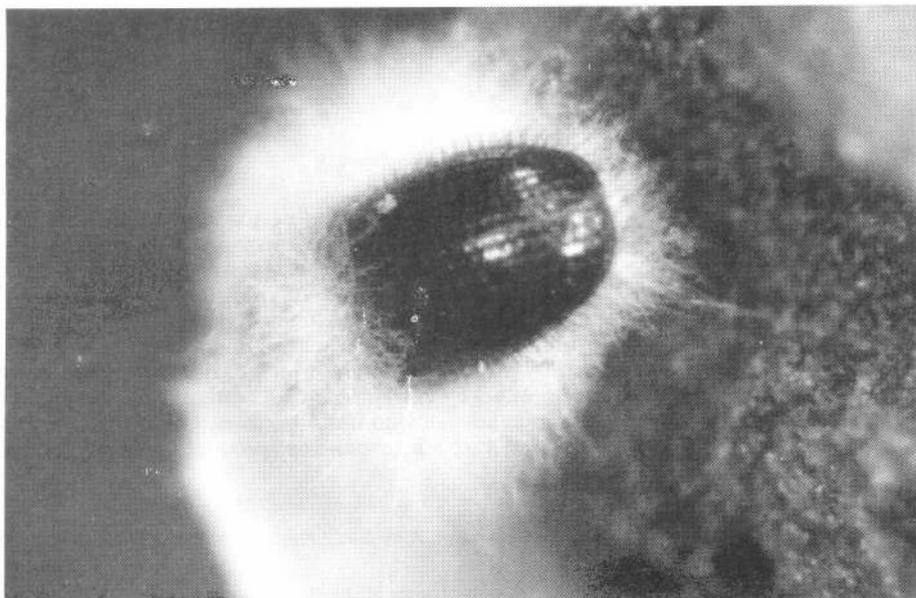


Figura 1. Adulto de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) infectado por el hongo *Beauveria bassiana*. (Bb 9205).

Tabla 1. Aislamientos de *B. bassiana* seleccionados para la cuantificación de BEA de acuerdo con su origen, hospedante, patogenicidad y tipo de aislamiento

Código	Origen	Insecto-Hospedante		Patogenicidad		Tipo de aislamiento
		Orden-Familia	Género-especie	%	Escala	
Bb 9205	Colombia	Lepidoptera: Pyralidae	<i>Diatraea saccharalis</i>	94	4	Multiespórico
Bb 9010	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	14	1	Multiespórico
Bb 9601	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	95	4	Monoespórico
Bb 9610	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	88	4	Monoespórico
Bb 9616	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	95	4	Monoespórico
Bb 9618	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	92	4	Monoespórico
Bb 9620	Colombia	Coleoptera: Scolytidae	<i>Hypothenemus hampei</i>	> 90	4	Monoespórico

Escala de patogenicidad: Grupo 1: 0-25%; Grupo 2: 26-50%; Grupo 3: 51-80%; Grupo 4: 81-100%. Fuente: Vélez *et al.* (1998), y Estrada *et al.* (1999).

Preparación de la solución patrón de beauvericina

Se preparó una solución madre disolviendo 500 µg de beauvericina comercial (Sigma Chemical, C₄₅H₅₇N₃O₉; masa molecular 784 y 97% de pureza), en 1 ml de metanol puro. Posteriormente, se realizaron diluciones para ser usadas como patrones tanto en la prueba Dot-blot, como para la obtención de la curva de calibración a usar en la metodología de ELISA.

Detección de la micotoxina mediante la metodología de Dot-blot

La presencia de beauvericina en los extractos líquidos del hongo se llevó a cabo aplicando alícuotas de 5 µl de los cultivos líquidos filtrados y los patrones de beauvericina, sobre una membrana de nitrocelulosa, la cual había sido tratada previamente sumergiéndola en una solución de metanol al 20% durante 30 min, y secada a 50°C. Seguidamente, la membrana se dejó durante 30 min en solución de bloqueo (solución amortiguadora Tris-salino (TBS) conteniendo gelatina al 1%).

Después, la membrana se lavó con agua destilada estéril (ADE) y se incubó con la misma solución amortiguadora conteniendo el primer anticuerpo (AntiBEA) a una concentración de 10 µl/ml, durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizaron dos lavados de 15 min cada uno con solución amortiguadora Tris-salino más Tween 20 al 0,1% (TTBS), y un lavado con TBS. Paso seguido, la membrana se incubó nuevamente durante 1 h a temperatura ambiente con 5 µl del segundo anticuerpo (Antirabbit conjugado a la enzima peroxidasa) disuelto en 30 ml de la solución de bloqueo. Cumplido este tiempo, se repitieron los mismos tres lavados como en el paso anterior. Finalmente, la presencia de la toxina sobre la membrana fue revelada, sumergiéndola en una solución preparada con 30 ml TBS, a la cual se le adicionaron 50 µl de peróxido de hidróge-

no y 30 mg de 4-cloro-1-naftol disuelto en 10 ml de metanol.

Cuantificación de la micotoxina mediante la metodología ELISA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay)

Se aplicaron 200 µl de cada extracto a pozos de un microplato ELISA para su fijación durante 24 h a 8°C (Ball 1974). Posteriormente, el plato se lavó tres veces con solución de TTBS (2) y con TBS (1), y se procedió a bloquear los pozos durante 1 h adicionando 200 µl de Tween 20. Se repitieron los tres lavados de igual forma como en la etapa anterior, y se continuó con la incubación del plato por 2 h a 37°C con 700 µl del primer anticuerpo (AntiBEA) disueltos en 30 ml de solución de bloqueo. De nuevo se repitieron los tres lavados con TTBS (2) y con TBS (1) y se incubó el plato por 2 h a 37°C con 5 µl del segundo anticuerpo (Antirabbit conjugado a la enzima peroxidasa) disuelto en 30 ml de solución de bloqueo.

Finalmente, se lavaron nuevamente los pozos y se reveló, adicionando a cada pozo 200 µl de una solución de 1 mg de Tetrametilbenzidina (TMB) disuelta en 10 ml de TBS, conteniendo 5 µl de peróxido de H₂O₂. Finalmente, se llevó a cabo la lectura de absorbancia en un lector ELISA a una λ de 490 nm. La estimación de la concentración de beauvericina (µg/µl) en cada una de las muestras se hizo por interpolación en una curva patrón con concentraciones conocidas de la toxina (Datos no mostrados).

Análisis estadístico

A los resultados obtenidos de los análisis Dot-blot y ELISA se les aplicó estadística descriptiva.

Resultados y Discusión

Metodología Dot-Blot

Con el objetivo de evaluar la especificidad de los anticuerpos policlonales pro-

ducidos, se procedió a aplicar, sobre membranas de nitrocelulosa, diferentes cantidades de una solución patrón de beauvericina. A partir de los 5 min de aplicada la solución de revelado sobre las membranas de nitrocelulosa se observaron cambios en el sitio donde se aplicaron los patrones de la toxina. Los puntos de color azul aparecen por la acción enzimática de la enzima peroxidasa sobre el sustrato 4-cloro-1-naftol (Sigma 2001). No se detectaron manchas en aquellos puntos donde se aplicaron soluciones blanco sin la toxina. El resultado anterior indica que mediante la metodología utilizada, fue posible la obtención de anticuerpos policlonales contra la micotoxina, y además corrobora la presencia y utilidad de dichos anticuerpos AntiBEA en la detección y cuantificación de beauvericina proveniente de aislamientos de *B. bassiana* a través de la prueba serológica Dot-blot (Fig. 2). Manchas de características iguales aparecieron sobre las membranas de nitrocelulosa cuando se probaron cultivos líquidos de los hongos Bb 9620 y Bb 9205 correspondientes a diferentes días de crecimiento. Igualmente, se pudo observar mayor intensidad en los puntos correspondientes al día 9 de crecimiento del aislamiento Bb 9205 (Fig. 3), lo cual indica una mayor producción de la toxina a este tiempo, similar a los resultados encontrados por Uribe *et al.* (1997) en el aislamiento Bb 9401 haciendo uso de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

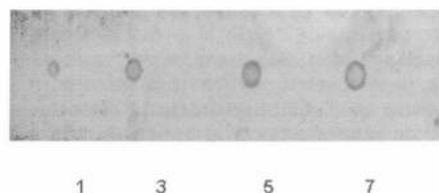


Figura 2. Prueba Dot-blot (Reacción antígeno-anticuerpo) con anticuerpos policlonales AntiBEA. 1, 3, 5 y 7 µl de solución patrón de beauvericina pura (0,5 µg / µl).

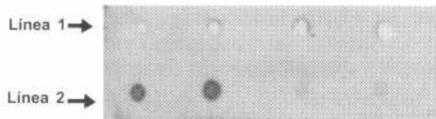


Figura 3. Detección de beauvericina en cultivos líquidos filtrados de *B. bassiana*. Línea 1. 1, 3, 5 y 7 μ l del medio de cultivo de Bb 9620 al día 9 de crecimiento. Línea 2. 3 y 5 μ l del medio de cultivo de Bb 9205 al día 9 y al día 11 de crecimiento, respectivamente.

Metodología ELISA

A través de esta metodología se observó que los valores mayores de producción de beauvericina se presentaron en los aislamientos Bb 9205; con pico de producción de la toxina de 1,567 μ g/ μ l al día 9, y en el aislamiento Bb 9010 con un pico de producción al día 11 de 1,542 μ g/ μ l. Los valores más bajos de producción de esta toxina se presentaron en los aislamientos Bb 9616 al día 9 y Bb 9610 al día 7 con 1,083 μ g/ μ l y 1,164 μ g/ μ l, respectivamente. En general para todos los aislamientos los valores de producción de toxina fueron muy similares al día 7, fluctuando entre 1,333 μ g/ μ l para Bb 9620 y 1,164 μ g/ μ l para Bb 9610, mientras que la producción estimada de toxina para los días 9 y 11 de crecimiento en todos los aislamientos mostraron valores más contrastantes (Tabla 2). Otros estudios como los de Genthner y Middaugh (1994) y Gupta *et al.* (1995) confirman la variabilidad que existe en la producción de beauvericina por diferentes aislamientos del hongo.

Aspectos como el medio de crecimiento, el tiempo de obtención, la cantidad de micelio producida y el metabolismo del hongo entre otros, influyen notoriamente en la producción de las toxinas (Rombach 1988).

La mayoría de los estudios de toxicidad con beauvericina han sido realizados probando su actividad biológica contra insectos. Sin embargo, estudios recientes llevados a cabo *in vitro*, muestran alta toxicidad de esta toxina hacia *murine* y líneas celulares humanas (Di Paola *et al.* 1994; Ojcius *et al.* 1999). Así mismo, a este ciclopéptido se le atribuyen propiedades insecticidas y antimicrobiales (Thakur y Smith 1997; Dev y Koul 1997; Nilanonta *et al.* 2000).

Los resultados encontrados en este estudio muestran una mayor producción de beauvericina por parte del aislamiento Bb 9205m, el cual es usado actualmente para el control biológico de la broca del café (Bustillo *et al.* 1991). La curva de producción de la toxina para este aislamiento muestra que el hongo inicia la exportación de la toxina hacia el medio líquido a partir del día 5 de crecimiento (Datos no mostrados). Esto sugiere que dicho péptido juega un papel importante en la patogenicidad de *B. bassiana* sobre el insecto, determinando al parecer la real capacidad del hongo para afectar de manera

negativa al insecto y bloquear sus mecanismos de respuesta hasta provocarle la muerte (Vey *et al.* 1985; Ignofo y Mandava 1988; Eyal *et al.* 1994). En este estudio se encontró que existe una estrecha relación entre el contenido de la toxina en el medio de cultivo y la patogenicidad de cada uno de los aislamientos de *B. bassiana* que fueron analizados (Vélez *et al.* 1998) (Fig. 4). Zacharuk en 1973, con resultados similares, concluyó que la toxina causa en el hospedero degeneración progresiva de los tejidos, cambios estructurales de las membranas y deshidratación. Así mismo, durante la patogénesis se evidencian cambios en la actividad eléctrica de los nervios causada por el incremento del consumo de oxígeno en un intento del insecto por restablecerse (Evlakhova y Rakitin 1968). Zizca y Weiser (1993) probaron "*in vitro*" el efecto de la beauvericina sobre larvas de *Culex pipiens*, encontrando que aún con bajas concentraciones de la toxina (0,1 mg / ml) aplicadas tópicamente sobre el insecto se obtiene una mor-

talidad del 44% en 48 h. De igual manera, encontraron que el principal síntoma de intoxicación presentado fue la vacuolización generalizada y el efecto tóxico en las mitocondrias, las cuales se hincharon y tomaron aspecto de vacuolas esféricas. Además, la cromatina de los núcleos se concentró en forma de gránulos alargados a lo largo de la membrana nuclear, siendo más afectado el epitelio de las moscas rompiéndose la membrana basal.

Aunque *B. bassiana* produce también las toxinas oosporeina, bassianolide y beauveriolide, las cuales son péptidos estructuralmente relacionados con beauvericina, su toxicidad para animales, plantas e insectos es desconocida (Namatam *et al.* 1999; Mochizuki *et al.* 1993). Otros estudios muestran que beauvericina no es tóxico para ciertos insectos (Champlin y Grula 1979). En este estudio fue posible detectar y cuantificar beauvericina en concentraciones bajas, a partir de cultivos líquidos de *B. bassiana* en medio Sabouraud, ha-

Tabla 2. Cuantificación mediante ELISA de la producción de beauvericina por diferentes aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

Aislamiento	Tiempo de crecimiento (días)		
	7	9	11
	Producción promedio de la toxina (μ g/ μ l)		
Bb 9205	1,21944	1,56667	1,31944
Bb 9618	1,32222	1,35833	1,25000
Bb 9601	1,16944	1,33611	1,36111
Bb 9620	1,33333	1,26111	1,36667
Bb 9616	1,32222	1,08333	1,26111
Bb 9610	1,16389	1,30278	1,22778
Bb 9010	1,21667	1,18889	1,54167

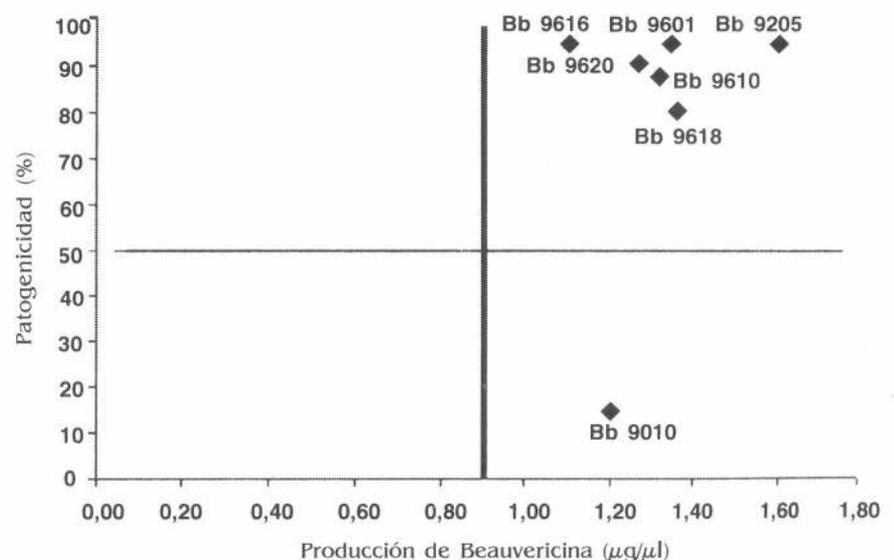


Figura 4. Relación entre la patogenicidad y la producción de beauvericina al día 9 de cultivo para cada uno de los aislamientos de *B. bassiana*.

ciendo uso de inmunoensayos basados en los anticuerpos policlonales (AntiBEA) producidos. Hasta la fecha se han desarrollado numerosos métodos para detectar micotoxinas especialmente en alimentos (Wilson *et al.* 1998); en contraste con los pocos estudios sobre metabolitos producidos por hongos entomopatógenos usados como micoinsecticidas, micoherbicidas y/o micoparásitos (Strasser *et al.* 2000; Vey *et al.* 2001).

La metodología utilizada en el presente estudio permitirá rastrear el metabolito tóxico en una amplia gama de muestras biológicas, identificar las condiciones que regulan la producción de la toxina, apoyará el estudio de las propiedades de la toxina a nivel celular en el insecto y determinará si este tipo de metabolito tiene acción insecticida, nematocida, antimicrobiana o citotóxica. De igual manera, esta metodología se puede utilizar como diagnóstico para profundizar en el modo de acción del metabolito tóxico (destrucción de membranas, inhibición de ATPasas, mitosis o citoquinesis) sobre insectos plaga (Strasser *et al.* 2000) con el fin de establecer criterios de selección de cepas del hongo *B. bassiana* que sean más eficientes para el control biológico de plagas, apoyando de esta forma la producción de formulaciones y la incorporación del hongo en programas de manejo integrado de plagas.

Estos resultados constituyen una ayuda valiosa en la búsqueda de moléculas bioactivas de interés entomológico y muy especialmente de genes que puedan ser utilizados en el desarrollo futuro de material de café resistente, mediante la transformación genética del cultivo.

Conclusiones

- Se logró la detección y cuantificación de la toxina beauvericina (micotoxina de interés entomológico), en cultivos líquidos provenientes de diferentes aislamientos de *B. bassiana*, mediante la aplicación de pruebas serológicas (Dot blot y ELISA) basadas en la producción de anticuerpos policlonales.
- Los aislamientos del hongo *B. bassiana* que fueron evaluados produjeron, bajo condiciones de cultivo en medio líquido, niveles diferentes de la toxina, lo cual podría reflejar diferencias genéticas importantes o diferencias en su especificidad hacia el insecto hospedero. En virtud de lo anterior, la concentración de la toxina podría ser incorporada como un nuevo criterio de selección de aislamientos del hongo *B. bassiana*, en la búsqueda de formulaciones más eficientes para el control biológico de la broca del café.

Agradecimientos

El presente estudio se realizó gracias al apoyo financiero del Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas" COL-

CIENCIAS y la Federación Nacional de Cafeteros a través de su Centro Nacional de investigaciones de Café CENICAFE. Los autores también agradecen a la Universidad Católica de Manizales por su colaboración y a la Universidad de Caldas por la asistencia técnica y asesoría en la producción de los anticuerpos policlonales.

Literatura citada

ABBAS A., K.; LICHTMAN A., H.; POBER, J. S. 1995. Inmunología Celular y Molecular. Interamericana - Mcgraw-Hill. Madrid España. 517 p.

BALL, E. 1974. Serological test for the identification of plant viruses. *Phytopathology*. New York 31 p.

BUCHAWALDT L., L.; JENSEN, J. S. 1991. HPLC purification of destruxins produced by *Alternaria brassicae* in culture and leaves of *Brassica napus*. *Biochemistry* 30 (7): 2311-2316.

BUSTILLO P., A. E.; CASTILLO H., A.; VILLALBA G., D. A.; VÉLEZ A., P. E.; MORALES G., E. 1991. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. p. 679-686. En: COLLOQUE Scientifique International sur le café, 14. San Francisco, juillet 14-19, 1991 París, ASIC.

BUSTILLO P., A. E.; CÁRDENAS, M. R.; VILLALBA G., D. A.; BENAVIDES M., P.; OROZCO H., J.; POSADA F., F. J. 1998. Manejo Integrado de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones en Café CENICAFE. Chinchiná, Colombia. 134 p.

CASTELLANOS, D. 1997. Importancia en la patogenicidad de la acción enzimática el hongo *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (1-2): 65-71.

CHAMPLIN F., R.; GRULA E. A. 1979. Noninvolvement of Beauvericin in the entomopathogenicity of *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology* 37: 1122-1125.

DELGADO, F.; LÓPEZ, Y.; GIRADO E., M. 2001. Actividad enzimática de hongos y su patogenicidad sobre *Hypothenemus hampei*. *Manejo Integrado de Plagas*. Costa Rica. Junio, Nº 60 p. 43-49.

DEV, S.; KOUL, O. 1997 *Insecticides of natural origin*. Amsterdam, Hardwood Academic Publisher. 365 p.

DI PAOLA, R.; NENNA, S.; FORNELLY, F.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.; CAIAFFA, M. F.; BOTTALICO, A.; TURSI, A.; MACCHIA, L. 1994. Cytotoxicity of Beauvericin on humans B-lymphocyte cell lines, in ICACI XV EAACI 94. *Allergy and Clinical Immunology News* 2, p. 256.

ESTRADA V., M. N.; VÉLEZ A., P. E.; MONTOYA R., E. C.; BUSTILLO P., A. E. 1999. Esporulación, germinación y patogenicidad de aislamientos monoespóricos de *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 50 (1): 49-65.

EVLAKHOVA, A.; RAKITIN, A. 1968. Insecticidas biológicos y sus aplicaciones. *Doklady Academic Nauk. SSSR* 178: 485-488.

EYAL, J.; MABUD, K. J.; FISCHBEIN, J. F.; WALTER, J. F.; OSBORNE, L. S. 1994. Assessment of *Beauveria bassiana* Eco-1 strain, which produces a red pigments for microbiological control. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 44: 65-79.

FERRON, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. En: BURGESS, H. (ed.) *Microbial control of pest and plant diseases*. 1970-1980. London, Academic Press. p. 465-482.

GENTHNER, F. J.; MIDDAGH, D. P. 1994. Effects of *Beauveria bassiana* and its toxins on *Mysidopsis bahia* (*Mysidaceae*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26: 90-94.

GONZÁLEZ G., M. T.; POSADA F., F. J.; BUSTILLO P., A. E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* *Cenicafé* 44 (3): 93-102.

GUPTA, S.; MONTLOR, C.; HUANG, Y. S. 1995. Isolation of novel beauvericin analogues from the fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Natural Products* 58 (5): 733-738.

IGNOFFO, C. M.; MANDAVA, N. B. 1988. Handbook of natural pesticides. V. 5 Microbial Insecticides. Part A. Entomogenous protozoa and fungi. Boca Ratón, CRC Press. 243 p.

JEGOROV, A.; SEDMERA, P.; HAVLICEK, V.; MATHA, V. 1998. Destruxin Ed₁ a cyclopeptide the fungus *Metarhizium anisopliae*. *Phytochemistry* 49 (6): 1815-1817.

KERSHAW, M. J.; MOORHOUSE, E. R.; BATEMAN, R.; REYNOLDS, S. E.; CHARNLEY, A. K. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. *Journal of Invertebrate Pathology* 74: 213-223.

KUCERA, M. 1971 *Toxins of the entomophagous fungus Beauveria bassiana*. II. Effect of nitrogen sources on formation of the toxic protease in submerged culture. *Journal of Invertebrate Pathology* 17: 211-215.

MOCHIZUKI, K.; OHMORI, K.; TAMURA, H.; SHIZURI, Y.; NISHIYAMA, S.; MIYOSHI, E.; YAMAMURA, S. 1993. The structures of bioactive cyclodepsipeptides, beauveriolides I and II, metabolites of entomopathogenic fungi *Beauveria* sp. *Bulletin of the chemical Society of Japan* 66: 3041-3046.

NAMATAM, E.; TOMODA, H.; TABATA, N.; SI, S. Y.; OMURA, S. 1999. Structure elucidation of fungal Beauveriolide-III, a novel inhibitor of lipid droplet formation in mouse macrophages. *The Journal of Antibiotics* 52: 7-12.

NILANONTA, C. H.; ISAKA, M.; KITTAKOOP, P.; PALITTAPONGARNPIM, P.; KAMCHONWONGPAISAN, S.; PITTAYAKHAJONWUT, D.; TANTICHAROEN, M.; THEBTARANONTH, Y. 2000. Antimycobacterial and Antiplasmodial Cyclodepsipeptides from the Insect Pathogenic Fungus *Paeclitomyces tenuipes* BCC 1614. *Planta Medica* 66: 756-758.

OJCIOUS D., M.; ZYCHLINSKY, L.; ZHENG, M.; YONG, D. E. 1999. Ionophore-induced apoptosis: role of DNA fragmentation and

- calcium fluxes. *Experimental Cell Research* 197: 43-49.
- PATERSON, I.; CHARNLEY, K.; COOPER, R.; CLARKSON, J. 1994. Partial characterizations of specific inducers of a cuticle degrading protease from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology* (140): 3153-3159.
- ROMBACH M., C. 1988. Production of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sympoduloconidia in submerged culture. *Entomophaga* 33: 315-324.
- SIGMA. 2001. Catalog Sigma - Aldrich 2000 - 2001. USA. 2843 p.
- SMITH, R. J.; PEKRUL, S.; GRULA, E. A. 1981. Requirement for sequential enzymatic activities for penetration of the integument of the corn earworm (*Heliothis zea*). *Journal of Invertebrate Pathology* 38: 335-344.
- STRASSER, H.; ABENDSTEIN, D.; STUPPNER, H.; BUTT, T. 2000. Monitoring the distribution of secondary metabolites produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* with particular reference to oosporein. *Mycological Research* 10: 1227-1235.
- THAKUR, R.; SMITH, J. 1997. Liquid Chromatography / Thermospray / Mass Spectrometry Analysis of beauvericin. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45: 1234-1239.
- URIBE, S. S.; SALDARRIAGA, Y.; PINEDA, F.; ARANGO, J.; VELEZ, I. 1997. Producción de beauvericina por *Beauveria bassiana* 9401 aislada sobre *Lutzomya* sp. (Diptera: Psychodidae) vectores de Leishmaniasis. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (3-4): 137-143.
- VÉLEZ A., P. E.; POSADA F., F. J.; MARÍN M., P.; GONZÁLES, M. T.; OSORIO V, E.; BUSTILLO P., A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Chinchiná, CENICAFE, (Boletín Técnico Cenicafe N° 17) p. 1-34.*
- VÉLEZ A., P. E.; GONZÁLES, M. T.; RIVERA, A.; BERNAL M., G.; BUSTILLO P., A. E.; ESTRADA, M. N. 1998. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de la colección de hongos entomopatógenos de CENICAFE. Resúmenes, XXV Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. p. 89. Cali.
- VEY, A.; QUIOT, J. M.; VAGO, C.; FARGES, J. 1985. Effect immunodépresseur de toxines fongiques: inhibition de la réaction de encapsulement multicellulaire par les destruxines. *Comptes Rendus de l'academie des Séances* 300: 647-651.
- VEY, A.; HOAGLAND, R.; BUTT, T. M. 2001. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents, in *Fungal biocontrol Agents: Progress, Problems & Potential*, (Butt, T. M., Jackson, C. & Magan, N., eds.) CABI, Wallingford.
- VOLCY, C.; PARDO, V. M. 1994. Principios de micología. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 141 p.
- WILSON D., M.; SYDENHAM E., W; LOMBAERT, G. A.; TRUCKSESS M., W; ABRAMSON, D. BRENNET G., A. 1998. Mycotoxin analytical techniques. p. 135-182. En: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety* (SINHA, K. K. and BHATNAGAR, D., eds.). Marcel Dekker, New York.
- ZACHARUK, R. 1973. Penetration of the cuticular layers of elaterid larvae (Coleoptera) by the fungus *Metarhizium anisopliae* and notes on bacterial invasion. *Journal of invertebrate Pathology* 21: 101-106.
- ZIZCA, J.; WEISER, J. 1993. Effect of Beauvericin a toxic metabolite of *Beauveria bassiana* on the ultrastructure of *Culex pipiens* autogenicus larvae. *Cytobios* 75: 13-19.

Recibido: Abr. 22 / 2003

Aceptado: Oct. 29 / 2003

***Pimeliaphilus triatomae* (Acari: Pteregosomidae) utilizado como control biológico de *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones de laboratorio**

Pimeliaphilus triatomae (Acari: Pteregosomidae) used as biological control
of *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) in laboratory conditions

JOSÉ LINO ZUMAQUERO R.¹, RICARDO ALEJANDRE A.², GLADYS LINARES F.³,
MARÍA LILIA CEDILLO R.⁴, JESÚS FRANCISCO LÓPEZ O.⁵, RICARDO CAICEDO R.⁶

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 131-135 (2004)

Resumen. *Pimeliaphilus triatomae* es un ectoparásito considerado entomopatígeno de Triatomínos; sin embargo, hasta el momento no existe evidencia de la mortalidad y de la acción que éste ejerce sobre sus víctimas. Por este motivo se comparó el efecto del parasitismo sobre los cinco instares ninfales y adultos, así como de los huevos ovipositados por éstos. Se observó el ciclo de vida del ácaro durante su actividad parasitaria y los resultados obtenidos indican una disminución de la oviposición y un prolongación en el ciclo de vida de los insectos infestados con un $X =$ de 456 días. También se obtuvo una mortalidad alta en los instares ninfales, en los cuales se observó la rotura de la epicutícula y la muerte por vaciado estomacal, después de mantener una carga parasitaria alta. Al comparar los individuos infestados con cada grupo control se hallaron en las variables de estudio, mortalidad, oviposición y viabilidad de los huevos, diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$

Palabras clave: Ácaro. Mortalidad. Oviposición. Triatomínos. Viabilidad.

Summary. *Pimeliaphilus triatomae* is a parasite considered entomopathogenic to triatomines; up to now, however, there is no evidence for the mortality or the action it has on its victims. For this reason the effect of parasitism was compared on the five nymphal instars and adults, as well as the eggs laid by them. The lifecycle of the mites was observed during their parasitic activity and the results obtained show a decrease in the oviposition and a prolongation in the life cycle of the infested insects with a $X =$ of 456 days. A high mortality was obtained in all the nymphal instars in which a rupture in the epicuticle and death by stomach evacuation was observed, after maintaining a high parasitic load. When comparing infested individuals with each control group there were significant differences ($\alpha = 0,05$) in the mortality, oviposition and viability of the eggs

Key words: Mites. Mortality. Oviposition. Triatomine. Viability.

Introducción

El empleo del control biológico en la agricultura es una práctica milenaria extendida desde el medio oriente hace más de 1.700 años y hoy es aplicada en muchas partes del mundo como una solución a los problemas del uso de pesticidas, que han generado contaminación ambiental con efectos irreversibles y daños para los ecosistemas (Grenfell y Dobson 1995).

Los triatomínos son vectores biológicos de la tripanosomiasis americana, enfermedad que en la actualidad según la OMS (1984) afecta a más de 28 millones de personas, en varios países latinoamericanos, en algunos de los cuales supera al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en

horas hombre perdidos por día. México es un país de más de 100 millones de habitantes y una población rural expuesta a incrementar el número de chagásicos en América; si se toma en consideración que sólo para México la abundancia de triatomínos está representada por más de 35 especies potencialmente vectores (Zarate y Zarate 1985; Alejandre *et al.* 1999; Martínez-Ibarra *et al.* 2001).

Los representantes del phylum Arthropoda son considerados como los peores enemigos de los insectos, lo cual está fundamentado por la acción predatoria o parasítica que muchos órdenes establecen en sus relaciones interespecíficas (Baddi *et al.* 2000). Uno de los representantes frecuentemente aprovechados por el hom-

bre por este tipo de interrelación son los ácaros, diversos organismos de talla pequeña entre 0,2 y 1,2 mm, que son mejor conocidos por los problemas de salud que ocasionan al hombre y a los animales. Sin embargo, su amplia utilidad como controles de plagas se comprueba en la agricultura, donde los representantes de la familias Phytoseiidae, Anytisidae, Bdellidae, Trombidiidae y Stigmaeidae son conocidos como controladores de plagas entre ellos, las llamadas arañas rojas, existiendo una amplia gama de insectos que de forma inversa depredan importantes familias de ácaros como es el caso de los tetránquidos, que se alimentan del follaje de las plantas. La familia Pteregosomidae cuenta con varios géneros y especies notificadas

1 Autor para correspondencia: Escuela de Biología, Profesor/Investigador Titular C de T. C. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Ave. San Claudio s/n Edif. 76 Ciudad Universitaria Col. Jardines de San Manuel C. P. 72570 Puebla. Pue. México. Tel/fax 01222449680 E-mail: linozuma@hotmail.com

2 Dr. Cs. Prof. Titular Instituto Politécnico Nacional. Plan Ayala y Carpio D. F México. E-mail: r_alejandre@hotmail.com

3 Dra. Cs. Directora ICUAR. Prof. Titular posgrado en Ciencias ambientales.

4 Dr. Cs. Prof. Titular posgrado en Ciencias ambientales. Valsequillo. Puebla, México.

5 Dr. en Cs. Prof. Titular coordinador posgrado en Ciencias ambientales. E-mail: csoo2116@siu.buap.mx

6 Dr. Cs. Profesor Investigador Titular de T. C. Escuela de Biología. E-mail: ricairi4@hotmail.com

como reguladoras de las poblaciones de triatominos en condiciones naturales; *Pimeliaphilus gloriosus* (Newell y Ryckmann, 1969) se encontró parasitando a *Triatoma barberi*, quizá la especie mejor reconocida como transmisora de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1906) en la República de México (Zárate y Zárate 1985). Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto de ésta y de otras especies como *Pimeliaphilus plumifer* (Newell y Ryckman 1969) que infesta a las poblaciones de *Triatoma rubida* en condiciones naturales (Hoffmann y López Campo 2000). Algunas especies de microhimenópteros han sido notificadas como controles biológicos naturales de los triatominos, al consumir huevos de *Triatoma infestans* (Brewer 1984); aunque su empleo ha sido limitado en el manejo integrado de plagas (MIP) por determinadas restricciones naturales del grupo: debido a que los organismos candidatos a ser utilizados como biocontroladores, deben cumplir algunos requisitos como son: desarrollo rápido de los huevos, oviposición abundante, capacidad alta de consumo de la presa, especificidad y búsqueda sobre la presa, distribución del predador y sincronización para el desarrollo de las poblaciones según las épocas del año.

Pimeliaphilus triatomae ha sido poco estudiado y apenas se conocen aspectos de su biología; sin embargo, la notificación de su acción parasitaria sobre triatominos es de gran importancia médico-biológico, pues por su potencialidad como ectoparásito, pudiera ser considerado entre los organismos candidatos a ser utilizados como control biológico de triatominos (Hoffmann y Campos 2000) (Fig. 1).

La importancia de ensayar y buscar organismos útiles que sean capaces de regular

las poblaciones naturales de los representantes de la familia Reduviidae, se debe en gran medida al incremento de sus poblaciones en muchas zonas rurales del continente, así como a los cambios etológicos de algunas especies vectores, que desde el peridomicilio han invadido las viviendas del hombre, sitio idóneo para estrechar el peligro de transmisión del agente causal de la Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*: Kinetoplastida: Tripanosomatidae), motivada también por las migraciones humanas y las transfusiones sanguíneas sin un adecuado control (Guhl *et al.* 2000; O. M. S. 1984).

En este estudio se pretendió analizar los efectos que tiene *P. triatomae* sobre *Meccus pallidipennis*, una de las especies más importantes del complejo *Meccus phyllosoma* Usinger (Hemiptera: Reduviidae) representado en México por seis especies importantes (Galva *et al.* 2003) de amplia dispersión y distribución en el país y comprobada por su capacidad de transmitir *Trypanosoma cruzi* (Zárate y Zárate 1985). *Meccus pallidipennis* se halló incursionando ocasionalmente en el interior de los domicilios, estrechando de esta forma la relación con el hombre y generando un riesgo epidemiológico mayor (Bautista *et al.* 2001) situación que obliga a buscar formas nuevas de controlar sus poblaciones, si se toma en consideración que en los estados centrales del país en especial Puebla, se registran cifras de seroprevalencia entre 1,8 y 7,7% (Monteón *et al.* 1999; Sánchez-Quillén *et al.* 2002).

El propósito de este estudio es demostrar, a través de la evaluación de variables biológicas, si *P. triatomae* es capaz de afectar sensiblemente las poblaciones de *Meccus*

pallidipennis en los ejemplares colonizados en el laboratorio, durante los meses de noviembre del año 2001 y diciembre de 2002.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron 380 ejemplares de *Meccus pallidipennis* de una colonia establecida en el Laboratorio de Biología de los invertebrados de la Escuela de Biología, de la B. U. A. P., los cuales se ubicaron en cajas para cría de insectos de 19 x 70 cm, distribuidos por instares ninfales (30 de cada uno) y 40 adultos; 20 de cada sexo. La mitad de los triatominos (190 en total) se consideró como grupo control o testigo. Los insectos se mantuvieron en una cámara ambiental a 28°C de temperatura y 60% de humedad relativa (H. R) y se alimentaron con sangre de conejo, extraída por punción cardíaca en tubo vacutainer con heparina y vertida en una bolsa de latex, previamente tratada con una solución detergente de Tween 20% (Rocha *et al.* 1997).

Se realizó una inspección diaria de los organismos tratados con *P. triatomae* y los seleccionados como testigo, estos últimos se sometieron a una rigurosa inspección y posteriormente se trataron con una solución detergente de Tween 20%, con la finalidad de garantizar que estuvieran libres de ácaros y poder comparar las variables establecidas para este estudio. Los triatominos muertos no se retiraron de las cajas, con el objetivo de que sirvieran como sitio de incubación a los huevos ovipositados por los ácaros y no generar la pérdida de la carga parasitaria durante el ensayo; así como analizar la viabilidad de los huevos. Éstos fueron contados y retirados de las cajas de cría, pero mantenidos a la temperatura y H. R regulada en el experimento. Los huevos puestos por los insectos infestados se observaron en un microscopio estereoscópico para verificar indicios de fertilidad o de desarrollo embrionario, lo cual se evaluó a través del corrimiento ocular.

Los ácaros utilizados en el experimento se obtuvieron de ejemplares de *M. pallidipennis* infestados en condiciones naturales, colectados en el estado de Morelos, México y se donaron, por el Laboratorio del Parasitología y Entomología Médica del Instituto Politécnico Nacional (I.P.N). Estos se sometieron a un proceso de clarificación con solución de Hoyer para ser observados entre cubre y portaobjetos, bajo una lente de 10X en un microscopio Nikon, lo que permitió la determinación de la especie con el auxilio de las claves de Hoffmann y López -Campo (2000) (V Malacara Com. pers.). nov/2002.

Los ácaros entomopatógenos se incrementaron a partir de mantener los pie de cría, sobre las exuvias y cadáveres de *Meccus mazzottii* Usinger y *Meccus longipennis* Usinger, en una cámara ambiental con temperatura de 28°C y una humedad relativa del 60% y donde se observó el desarrollo

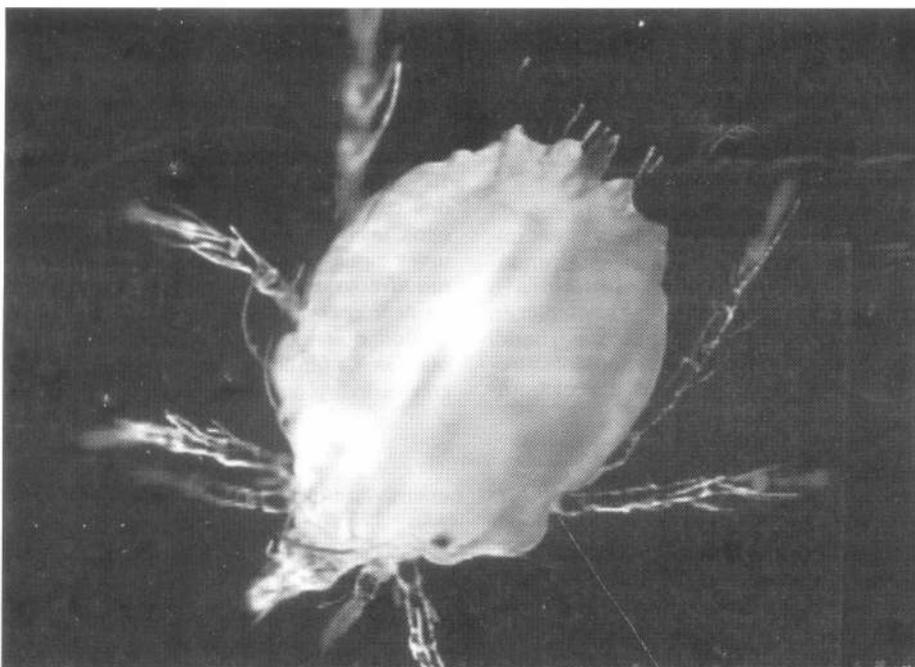


Figura 1. *Pimeliaphilus triatomae* ácaro entomopatógeno de *Meccus pallidipennis*.

del ciclo biológico de *P. triatominæ*. El efecto negativo de los ácaros sobre los triatominos se observó preliminarmente en la colonia de triatominos del I. P. N. Los resultados se analizaron a través de la prueba no paramétrica U de Mann -Withney, donde se estableció: Ho: La mortalidad, oviposición y viabilidad de los huevos en el grupo de insectos infestados es la misma que la del grupo control y H1: ellas son diferentes.

Resultados y Discusión

Los efectos del ectoparasitismo provocados por el ácaro *P. triatoma* sobre *M. pallidipennis* en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, se observaron en las variables establecidas: mortalidad, oviposición o puesta de huevos y viabilidad de éstos.

Se comprobó una carga parasitaria alta de los ácaros, los cuales se ubicaron con preferencia entre las coxas y sobre la parte ventral entre algunas suturas esternales en los adultos; sin embargo, en los instares ninfales se observaron sobre la región tergal del abdomen, donde quizá, por la falta de esclerotización cuticular y el tamaño pequeño de las coxas, se establecen para efectuar su parasitismo y provocar la rotura de la misma. Efecto no notificado hasta el momento por la literatura especializada (Fig. 2).

La mortalidad alta que se halló entre los insectos evaluados por días de muerte por carga parasitaria resultó de gran utilidad (Tabla 1) pues según los resultados, ésta se evidenció en todos los instares, siendo los de mayor resistencia las ninfas del primer y segundo instar, donde se obtuvieron valores de $P = 0,009823$ $P < 0,01$ y se registró el número menor de muertes (Fig. 3). No obstante, se hallaron diferencias significativas al ser comparados los grupos infestados y el control con un valor de p empírico = 0,000011, para $P < 0,01$.

La mortalidad mayor se observó por el efecto desgastador sobre la cutícula de las ninfas del tercer instar (Fig. 3), aunque se pudo observar también en los demás instares, exceptuando al adulto. En los primeros instares (I y II) no se registró un número significativo de muertes por esta causa, pero si se observó un desarrollo pobre de la población de los ácaros, quizá por la carencia de abundante hemolinfa o debido a la reducida talla de los insectos que limita lo sitios de fijación para ejercer su ectoparasitismo.

Las medias de los valores de huevos ovipositados por día son diferentes en ambos grupos, es evidente que este valor en el grupo infestado, es menor que la del grupo control, donde se obtuvo sólo una $X = 1,12$. D. S. $df = 0,13$ entre las hembras parasitadas (Fig. 4). Las hembras del grupo testigo ovipositaron un promedio de 375 huevos, los cuales eclosionaron entre los 15 y 18 días, resultado que coincide con los estudios del ciclo biológico de la

Tabla 1. Carga parasitaria de *P. triatoma* sobre *M. pallidipennis* en condiciones *in vitro* a temperatura de 28°C y 60% de humedad relativa

		Carga parasitaria por horas				
Instares/Número		12 h	24 h	48 h	96 h	108 h
N1	= 30	4	4	3	3	3
N2	= 30	4	4	3	3	3
N3	= 30	4	3	3	3	9
N4	= 30	4	3	3	3	11
N5	= 30	4	3	3	2	8
Adultos H	= 20	4	4	3	2	11
Adultos M	= 20	4	1	0	2	7



Figura 2. *Pimeliaphilus triatoma* entre las coxas de *Meccus pallidipennis*.

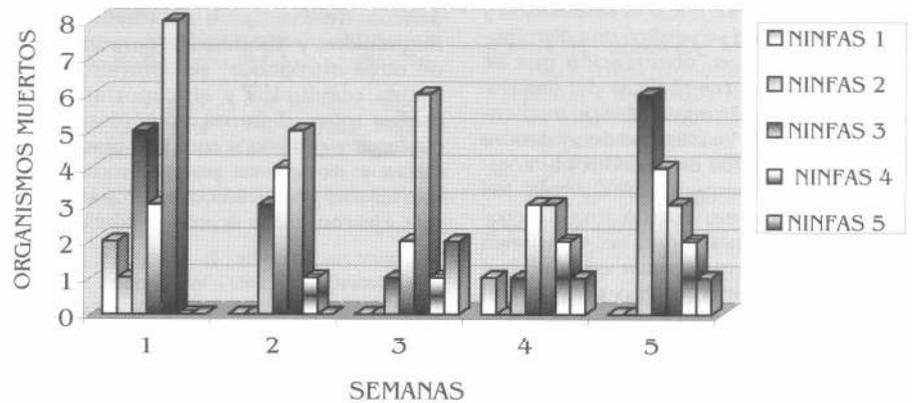


Figura 3. Mortalidad de *Meccus pallidipennis* por la acción parasitaria de *Pimeliaphilus triatoma*.

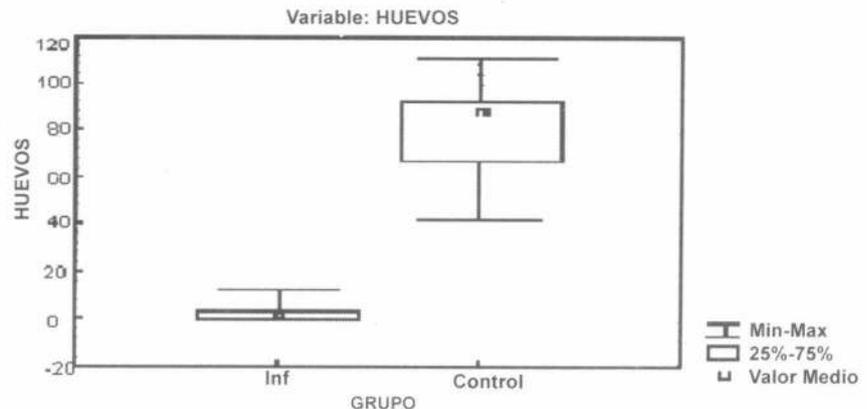


Figura 4. Comparación de la oviposición de hembras de *Meccus pallidipennis* infestadas por *P. triatoma* y el grupo control.

especie (Martínez-Ibarra *et al.* 1994). No obstante, los huevos depositados por las hembras infestadas se encontraron embrionados y mostraron un desarrollo del corrimiento ocular hacia el opérculo; sin embargo, no eclosionaron, al parecer por la afectación de su estado nutricional. La poca cantidad de huevos no permite hacer otros análisis con relación al grupo control, aunque se demostró estadísticamente por la diferencias entre ambos grupos y se rechazó la hipótesis nula, al arreglar un nivel de importancia ($\alpha = 0,05$). Se observa que el $p_c = 0,0000144$ es mucho menor que el nivel de importancia fijo, y se acepta, que los elementos son diferentes.

Los primeros efectos del parasitismo de *P. triatomae* sobre *M. pallidipennis* se observaron entre las 72 y 96 h posteriores a la infestación, pues en todos los organismos infestados se comprobó lentitud, apatía durante la ingesta de sangre y se registraron las primeras muertes en las ninfas del quinto instar. Una semana después de la aplicación, la población de los ácaros declinó, al parecer por la conclusión de su ciclo biológico, que se reinicia con una descendencia de aproximadamente 50 huevos de color verde claro, que cambian su tonalidad a blanco - rosado según el corto desarrollo embrionario. En las condiciones establecidas para este estudio, los huevos de los ácaros eclosionaron aproximadamente después de la segunda semana, aunque no se pudo registrar el momento en que se inició la oviposición y a partir de las 48 h se verificó una disminución de los adultos, observación que se comprobó en las tres réplicas del ensayo. Esta variable ha sido analizada con frecuencia en estudios de la actividad depredadora de ácaros, utilizados en el control biológico de plagas de importancia agrícola, los cuales también mostraron una sincronización poblacional según las estaciones del año; situación que queda evidente con los períodos de incremento poblacional de *M. pallidipennis* en los meses de febrero a julio y el hallazgo de otras especies del complejo *M. phyllosoma*, infestados por ácaros durante este período (Martínez-Ibarra *et al.* 1994; Baddi *et al.* 2000). De esta forma se demuestra la potencialidad de *P. triatomae* para ser utilizado como control biológico de triatominos, debido a que cumple con los elementos que se evalúan para considerar una especie como candidata a ser utilizada en los programas de control integrado de vectores. Sin embargo, hasta el momento no se conoce la especificidad con que éste actúa sobre otros organismos, por lo que se hace necesario estudiar su acción sobre otros grupos y especies de la familia, impacto que es necesario medir para amplificar su producción y comercialización.

Los resultados anteriores imponen mejorar el conocimiento sobre la biología de *P. triatomae*, pues aunque mantuvo estabilidad poblacional durante los meses de primavera y verano, se observó decrecimiento de su población durante el invierno, al

parecer por estar sometidos a una diapausa por las temperaturas invernales bajas. Según estos resultados los meses de marzo a julio parecen ser los de mayor incremento numérico de ejemplares, pues en este período se capturaron los organismos utilizados como pie de cría, aspecto que coincide con los resultados obtenidos en las condiciones de laboratorio establecidas en este experimento.

El ciclo biológico en la subfamilia Triatominae depende en gran medida de algunas variables abióticas tales como temperatura, humedad relativa y de otras, como el tipo de fuente de alimentación y la frecuencia con que realizan ésta (Wisnivesky-Colli *et al.* 1982; Schofield 1994). En las condiciones establecidas para este experimento, similares a las seleccionadas por Bautista *et al.* (2000), se obtuvo un ciclo muy prolongado entre los organismos que sobrevivieron al parasitismo por los ácaros, con valor promedio de 456 días, lo cual se esperaba, debido a los trastornos nutricionales que se observaron entre los insectos infestados. Un seguimiento posterior de la muda hacia los imagos, aportó una mortalidad elevada y una oviposición pobre en las hembras. El ciclo de vida en el grupo control coincide con los resultados obtenidos por Bautista (2000) y Martínez-Ibarra *et al.* (1994) y dio una media de 190,21 días con D. S. $\pm 3,45$.

En otros estudios donde se han empleado ácaros de las familias Phytoseiidae, Stigmatidae y Thomisidae para el control de otros artrópodos, se obtuvieron excelentes resultados y alta mortalidad de arañas rojas, dípteros, coleópteros, neuropteros y reduvidos que son plagas agrícolas y donde se puede justificar la mortalidad por el efecto neuroparalizante que ejercen estos ácaros predadores so-

bre sus víctimas (Baddi *et al.* 2000). Sin embargo, las observaciones presentes comprobaron un efecto más lento y desgastador sobre la cutícula de los instares ninfales de los triatominos, fundamentalmente en la zona del metatórax más próxima al escutelum, la cual perforan, quizá con la finalidad de ingerir las proteínas cuticulares o de la hemolinfa y utilizarla en su desarrollo metabólico. Como consecuencia, se produjo de manera instantánea un vaciado del contenido estomacal del insecto, y su muerte a los pocos minutos (Fig. 5). Esta situación no se observó en los primeros instares debido al pequeño tamaño relativo de los instares I y II.

Las observaciones más recientes de la acción de *Beauveria bassiana* Bas (Vullemin) sobre *Triatoma infestans* permiten verificar la vulnerabilidad del III instar ante la agresión del hongo entomopatógeno (Moore 2002), situación que no se ha podido explicar con claridad hasta el momento, pues en los estudios del ciclo de vida del grupo testigo y los de su ciclo biológico, las cifras de mortalidad normal de los ejemplares, son significativamente bajas para este instar (Martínez-Ibarra *et al.* 1994).

La eclosión de los huevos de los ácaros y la afinidad de sus protoninfas por los triatominos permitió comprobar el amplio efecto selectivo que el depredador ejerce sobre sus víctimas, pues en todos los casos se encontraron sobre los insectos, principalmente, entre las coxas de las patas (Fig. 2).

La fluctuación poblacional de los ácaros es un elemento de gran interés, pues después del proceso de infestación y durante las primeras 96 h, éstos desaparecen por un período corto, dejando pegados los huevos sobre los esternitos torácicos de los triatominos. La eclosión de la nueva



Figura 5. Efecto de los ácaros sobre la cutícula de ninfa del quinto instar de *Meccus pallidipennis*.

generación ocurrió después de las 72 h, momento en el cual se pudo comprobar la ubicación preferencial de las protoninfas entre las zonas blandas de los terguitos abdominales. Mientras que en los adultos el número mayor de ácaros se encontró también entre las coxas y otros escleritos de la cabeza, aspecto que hace pensar en el consumo de hemolinfa del insecto, debido a que hacia la muerte mostraron desnutrición y una disminución significativa de la puesta de huevos. Será necesario un estudio del contenido estomacal de los ácaros, que permita determinar el producto utilizado en su alimentación.

Al parecer existe una correspondencia entre los ciclos estacionales de ambos artrópodos, debido a que en las condiciones de estudio se pudo apreciar que con la llegada del invierno la actividad de *P. triatomae* disminuye, así como la oviposición y el ciclo de *Meccus pallidipennis*, como se ha visto en otras especies de triatomíneos (Schofield 1994).

Es probable que, como en otros casos de ectoparasitismo, exista algún efecto indirecto del ácaro sobre la oviposición, pues las hembras infestadas mostraron rechazo al alimento, lentitud y muerte; aunque en todos los casos dejaron una pequeña cantidad de huevos infértiles a diferencia del testigo que mantuvo un ciclo biológico normal. Este aspecto concuerda con las observaciones de Martínez-Ibarra *et al.* (2001) y Bautista *et al.* (2000). La desnutrición que se observó en las hembras, es posible que sea uno de los aspectos que justifican la oviposición baja; aunque también se han descrito efectos castrantes y de fertilidad baja en *Periplaneta americana* por la acción parasitaria de acanthocephalos (Moore 2002).

En algunos países centroamericanos se detectó la presencia de varias especies de Pterogósomidos como es el caso de *Pimeliaphilus zeledoni* sobre *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius prolixus* (Newell y Ryckman 1969). Sin embargo, el estudio de estos ácaros como enemigos naturales de tan importantes vectores es escaso y poco se puede comparar con los efectos del parasitismo sobre los vectores.

Conclusiones

- El ácaro *Pimeliaphilus triatomae* pudiera ser utilizado en el control biológico de las poblaciones de *Meccus pallidipennis*, al mostrar un ectoparasitismo con efecto positivo sobre el ciclo de vida de esta especie de triatomino.
- Las variables evaluadas: oviposición, viabilidad de los huevos en ejemplares infestados y mortalidad en los instares ninfales, son elementos importantes en la evaluación de *P. triatomae* como biocontrol de triatomíneos y demuestran la potencialidad de este ácaro entomopatógeno en reducir sensiblemente las poblaciones de estos insectos, responsables de la trans-

misión de nuevos casos de la enfermedad de Chagas.

- Los criterios de productores biológicos con relación a determinados requisitos que deben cubrir las especies candidatas, se cumplieron en el ensayo y demostraron estabilidad y desarrollo durante el experimento, aunque de este ácaro debe estudiarse con mayor profundidad su ciclo de vida y efecto sobre otras especies.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Bibiano Malacara y las Dras. Anita Hoffman y Guadalupe López-Campo del laboratorio de Acarología del Instituto de Biología de la Universidad Autónoma de México (UNAM), por sus aportaciones en la determinación de la especie del ácaro, al Laboratorio de entomología médica del Instituto Politécnico Nacional y en especial al Dr. Ricardo Alejandro Aguilar por su colaboración en el trabajo realizado.

Literatura citada

- ALEJANDRE-AGUILAR, R.; NOGUEDA TORRES, B.; CORTES JIMÉNEZ, M.; JURBERG J.; GALVÃO C.; CARCAVALLO, R. 1999. *Triatoma bassolsae* sp. N. do México, com uma clave para as especies do complexo "phyllosoma" (Hemiptera, Reduviidae), Memorias Instituto Oswaldo Cruz 94 (3): 353-359.
- BADDI, H. M.; FLORES, A.; GALÁN, L. J. 2000. Fundamentos y perspectivas de Control biológico. Sección III cap. 7 Univ. Autónoma de Nuevo León, México. p. 265-278.
- BAUTISTA, N.; ROJAS, G.; DE HARO, I.; BUCIO, M.; SALAZAR, P. M. 2000. Comportamiento biológico de *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) en el estado de Morelos. Boletín Chileno de Parasitología 57: 54-58.
- BREWER, N.; GORIA, D.; FAVOTS, R.; MURUA, P. 1984 Zoogeografía de microhimenopteros oófagos de *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). En Córdoba, Argentina. Journal of Entomology 53: 12-15.
- GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; DA SILVA-ROCHA, D.; JURBERG, J. 2003. A checklist for the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa 202: 1-36.
- GRENFELL, B. T.; DOBSON, A. P. 1995. Ecology of infectious diseases in natural populations. Newton Institute. Cambridge University press. 52 p.
- GUHL, F.; JARAMILLO, C.; VALLEJO, A. G. 2000 Chagas disease and human migration. Memorias Instituto Oswaldo Cruz 95 (4): 553-555.
- HOFFMANN, A.; LÓPEZ-CAMPO, G. 2000. Biodiversidad de los ácaros de México CONABIO 93 p. México.
- MARTÍNEZ-IBARRA J.A.; KATTHAI- DUCHATEAU, G.; GALAVIZ, L. 1994. Estudio sobre los hábitos biológicos de *Triatoma pallidipennis* (Stål) bajo condiciones de laboratorio. Publicaciones biológicas Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 6 (1): 48-50.
- MARTÍNEZ-IBARRA, J. A.; BÁRCENAS-ORTEGA, N. M.; NOGUEDA-TORRES, B.; ALEJANDRE-AGUILAR, R.; RODRÍGUEZ MILTON, L.; MAGALLÓN-GASTELUM, E.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, V.; ROMERO-NÁPOLES, J. 2001. Role of two *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) species in the transmission of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) to man in the West Coast of México, Memorias Instituto Oswaldo Cruz 96 (2): 141-144.
- MONTEÓN, V. M.; GUZMÁN BRACHO, C.; FLORIANI VERDUGO, J.; RAMOS ECHEVARRIA, A.; VELASCO CASTREJÓN, O.; REYES, P. A. 1999 Diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas: Autosuficiencia y Concordancia Interlaboratorios, Salud Pública de México 37 (3): 232-235.
- MOORE, J. 2002. Parasites and behavior of animal. Oxford. University press. U. K. 300 p.
- NEWELL, I M.; RYCKMAN, R. E. 1969. *Pimeliaphilus zeledoni*. n sp. (Acari: Pterygosomidae), a parasite of *Triatoma dimidiata* (Latr) (Hemiptera, Reduviidae) Bulletin South Calif. Academic Science 68 (3): 138-144.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 1984. Lucha biológica contra los vectores de enfermedades. Series de informes 679 p.
- (V. MALACARA COM PERS). Conferencia sobre los arácnidos. Escuela de Biología Nov/ 2002.
- ROCHA, D.; FONSECA, A H.; D COSTA, F. A. 1997. Desenvolvimento de *Rhodnius pictipes* Stal, 1872 alimentado a través de membrana de silicone e em camundongos (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae). Memorias Instituto Oswaldo Cruz 92 (4): 553-558.
- SÁNCHEZ GUILLÉN, M. C.; BARNABÉ, C.; GUEGÁN, J. F.; TIBARYRENC, M.; VELAZQUEZ-ROJAS J.; MUNGUÍA MARTÍNEZ, H.; SALGADO ROSAS, E.; TORRES SALGADO, M. I.; ROSAS-RAMÍREZ, R.; PÉREZ-FUENTES, R. 2002 High prevalence Anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors in the state of Puebla a non endemic area of Mexico Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 97 (7): 947-952.
- SCHOFIELD, C. J. 1994. Triatominae Biología y Control Eurocomunica publications. W. Sussex. 80 ZENEGA England. 142 p.
- WISNIVESKY-COLLI, C.; GÜRTLER R. E.; SOLARZ N.; SALOMÓN, RUIZ, A. 1982. Feeding Paterns of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in relation to transmission of American Trypanosomiasis in Argentina. Journal of Medical Entomology 19 (6): 645-654.
- ZÁRATE, L. G.; ZARATE, R. 1985. A checking list of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae) of México. International Journal of Entomology 27 (1): 27-48.

Recibido: Abr. 30/2003

Aceptado: Ene. 28/2004

A new species of myrmecophilous soft scale insect from Colombia in the genus *Akermes* Cockerell (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae)

Una nueva especie de escama blanda mirmecófila en Colombia del género *Akermes* Cockerell (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae)

TAKUMASA KONDO¹, MICHAEL L. WILLIAMS²

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 137-141 (2004)

Summary. A new species of myrmecophilous soft scale in the genus *Akermes* Cockerell, collected in Colombia, is described and illustrated. Information on distribution, host plants and morphological variation is given. This is the first record of the genus *Akermes* in Colombia.

Key words: Coccid. Melastomataceae. *Ocotea*. *Persea*. *Psidium*.

Resumen. Una nueva especie de escama blanda mirmecófila del género *Akermes* Cockerell, colectada en Colombia, es descrita e ilustrada. Se incluye información sobre su distribución, hospederos y variación morfológica. Este es el primer registro del género *Akermes* en Colombia.

Palabras clave: Coccido. Melastomataceae. *Ocotea*. *Persea*. *Psidium*.

Introduction

Thirteen species distributed in Africa, Australia, Central America, India and South America are currently assigned to the genus *Akermes* (Ben-Dov *et al.* 2003). However, only *A. bruneri* Ckll., *A. riograndensis* Hempel, *A. punctatus* (Ckll.), *A. townsendi* (Ckll.), *A. cordiae* Morrison, and *A. xylosma* Granara de Willink are properly placed in the genus, with the remaining seven species either belonging to other phylogenetic groups or of an uncertain taxonomic position (Kondo 2003). In this study, we provide diagnostic characters of the genus *Akermes*, and describe a new species from Colombia.

The diagnostic characters of the genus *Akermes* can be summarized as follows: (i) body of adult female convex and globular, often heavily sclerotized at maturity; (ii) submarginal tubercles absent; (iii) pre-pericardial pores present; (iv) sclerotic crescent around anal plates present or absent; (v) eyes absent; (vi) marginal setae present or absent; (vii) ventral disc-pores variable, with one or more central loculi; (viii) ventral tubular ducts absent; (ix) anal plate setae present, often numerous, restricted to posterior end of plates; (x) antennae and legs greatly reduced, with segments mostly indistinct or fused; (xi) antennae 1-5 segmented; (xii) spiracular setae 1-3 in number, extending slightly to deeply onto dorsal submargin (Kondo 2003).

The genus *Akermes* Cockerell, 1902 has been revised by Hodgson (1994), Granara

de Willink (1999), and more recently by Kondo (2003). Hodgson (1994) included *Akermes* in the subfamily Myzolecaniinae (Coccidae), a group of myrmecophilous soft scales that share many morphological features adapted for a symbiotic life with ants. Based on a morphological study of the first-instar nymphs, Williams and Kondo (2002) noticed differences amongst the genera of Myzolecaniinae. In another study using a combination of adult female and first-instar nymph characters, Kondo and Williams (2002) indicated that the subfamily Myzolecaniinae appears to be composed of several unrelated lineages, and included *Akermes* in the *Toumeyella*-group.

The genus *Akermes* is strictly Neotropical in distribution with species found from México down to Argentina and Paraguay in southern South America. This is the first record of the genus *Akermes* in Colombia. One hundred seventy four species of scale insects (Hemiptera: Coccoidea) have been reported from Colombia, out of which 35 fall into the family Coccidae (Kondo 2001). With the addition of the new species herein presented, the list of soft scales in Colombia increases to 36 species.

Materials and Methods

The new species was collected in Cali, El Topacio, Buga, and Tulúa, in the Departamento del Valle, Colombia in 1999 and 2000. Both male and female insects in all developmental stages were collected and slide mounted. However, only the adult

female and first-instar nymphs are described. Specimens were slide mounted according to the method discussed by Kosztarab (1996), and were studied under a Zeiss RA phase contrast compound microscope. Illustrations follow the typical style adopted for coccoids, with the dorsal side drawn on the left side and the ventral side drawn on the right side. Enlargements of important features were placed around, however, the enlargements are not in direct proportion to each other. Type specimens were designated from specimens collected in Cali and El Topacio. Specimens not included in the type series are listed in the section of "Other material studied". Because some slides contain more than one specimen, the studied material is represented by the number of slides followed by the total number of specimens in parentheses, e.g., 2(3) meaning 2 slides and 3 specimens.

Abbreviations for the depositories are as follows: Auburn University Coccoidea Collection, Auburn University, Auburn, Alabama, U.S.A. [AUCC]; Bohart Museum of Entomology, Department of Entomology, University of California, Davis, California, U.S.A. [BME]; The Natural History Museum, London, England [BMNH]; Colección de Insectos, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia [UNCB]; The National Museum of Natural History Coccoidea Collection, Beltsville, Maryland, U.S.A. [USNM]; and the Museo de Entomología, Universidad del Valle, Cali, Colombia [UVCO].

1 Autor para correspondencia: Department of Entomology, University of California Davis, 1 Shields Avenue, Davis, CA 95616-8584, USA. E-mail: tkondo@ucdavis.edu

2 Department of Entomology and Plant Pathology, Auburn University, 301 Funchess Hall, Auburn, AL 36849-5413, Alabama, USA. E-mail: mlwillia@acesag.auburn.edu

***Akermes colombiensis* sp.n., adult female**

Diagnosis. The adult female of this species can be diagnosed by the following combination of characters: (i) discoidal pores abundant and often touching each other on area anterior to anal plates, with several scattered on mid-dorsum, fused pores often present; (ii) sclerotic crescent present around anal plates, crescent not incorporating discoidal pores; (iii) anal plates with 7-15 setae on dorsal surface; (iv) marginal setae sharply spinose and/or with apex gradually or abruptly tapering to a point; (v) spiracular setae 3 in number, found submarginally on dorsal surface; (vi) legs and antennae greatly reduced, with segmentation poorly defined; (vii) multi-locular disc-pores (spiracular and perivulvar pores) with 4 - 7 loculi, mostly 5-locular; (viii) ventral tubular ducts absent.

Description. Adult female (Fig. 1)

Unmounted material. Fully grown insects highly convex, shiny, derm rugose, strongly sclerotized, particularly around anal plates. Color highly variable, ranging from pale weak yellow, ferruginous, ochre, orange to reddish-brown, often mottled with dark brown. Young adult females normally ochre, with a narrow dark line running longitudinally across mid-dorsum, sclerotic crescent around anal plates reddish-brown to dark in color. The insects were found tended by arboreal ants, covered by ant cartons, of exposed on tree trunk, twigs and fruits of host.

Mounted material. Body outline oval to elongate oval, 2.4-4.3 mm long, 2.0-3.8 mm wide (n = 41).

Dorsum. Derm membranous (magnification of derm shown in figure 1A), becoming heavily sclerotized at maturity, occasionally with granular dermal patches (Fig. 1G). Dorsal setae (Fig. 1F) length 8.5-15 μ m, slender, sharply spinose, often missing or undetected. Submarginal tubercles absent. Discoidal pores (Fig. 1H) 6.4-15 μ m wide, convex, invaginated, abundant and often touching, or almost touching on area anterior to anal plates, several scattered on mid-dorsum. Simple disc-pores (Fig. 1D) 2.7-3.6 μ m wide, scattered evenly throughout dorsum. Dorsal microducts (Fig. 1E) appearing bilocular under high magnification, width of duct rim 2.7-3.6 μ m. A narrow sclerotic crescent present around anal plates. Anal plates (Fig. 1I) each triangular, 149-164 μ m long, 81-96 μ m wide, anterolateral margin 117-128 μ m long, posterolateral margin 102-115 μ m long, with 8-15 setae on dorsal surface and with about 4 ventral subapical setae. Anal ring (Fig. 1J) with 10 setae. Anal cleft extending about 1/5 of body length. Eyes absent.

Margin. Margins smooth. Marginal setae (Fig. 1B) sharply spinose, with apex gradually or abruptly tapering to a point, 10-25 μ m long, with about 8-25 setae on

body margin between anterior and posterior spiracular setae. Spiracular setae (Fig. 1C) conical, or bluntly spinose, often bifurcate or trifurcate, much thicker than marginal setae, present in a group of 3 on dorsal submargin, all subequal in length, or often median seta longest, each setae 12-45 μ m long. Spiracular clefts shallow, showing slight sclerotization.

Venter. Ventral setae (Fig. 1M) sharply spinose, straight or slightly bent, 8.6-13 μ m long, those anterior to vulvar region on last abdominal segments longer, 21-43 μ m long. Antennae (Fig. 1P) short, 36-76 μ m long, segmentation often not discernible, about 2-5 segmented. Legs (Fig. 1L) greatly reduced, about size of spiracular peritreme, segments mostly indistinct, total length 54-107 μ m, without tibio-tarsal sclerotization, tarsal and claw digitules spiniform, claw without a denticle. Spiracles relatively large; anterior peritreme 75-90 μ m wide, posterior peritreme 81-94 μ m wide. Spiracular pores (Fig. 1O) with 3-7 loculi, mostly 5-locular, each 5.3-6.2 μ m wide, found in a band from area around each spiracle towards spiracular setae on dorsal submargin. Perivulvar pores (Fig. 1K) similar to spiracular pores, predominantly 5-locular, 6.2-7.1 μ m wide. Clypeolabral shield 189-216 μ m wide. Ventral microducts (Fig. 1N) scattered evenly throughout venter, width of duct rim 2.7-3.6 μ m. Ventral tubular ducts usually absent, rarely present in some specimens (see section on morphological variation).

***Akermes colombiensis* sp.n., first instar nymph (Fig. 2)**

Diagnosis. The first-instar nymphs of *Akermes colombiensis* sp.n. are characterized by the following combination of characters: (i) antennae 5-segmented; (ii) spiracular pores 4-locular; (iii) ventral submedian setae 3 pairs; (iv) claw with a denticle; (v) spiracular setae 3 in number, with median spiracular setae longest; (vi) a pair of dorsal setae present on head region; (vii) dorsal microducts appearing bilocular under high magnification, positioned submarginally and in 2 submedian longitudinal rows, with a pair of additional microducts between submarginal and submedian rows on area of mid-thoracic region; and (viii) a simple disc pore present near each dorsal microduct.

Description. First-instar nymph

Unmounted material. First- and second-instar nymphs elongate oval, light yellow in color, with area of spiracular furrows often of a whitish or lighter color, anal plates usually darker than surrounding derm, often of an orange color.

Mounted material. First-instar nymphs elongate oval, 415-469 μ m long, 256-313 μ m wide (n = 27).

Dorsum. Derm membranous, roughly delineated by membranous folds. One pair of dorsal setae on head region (Fig. 2B)

present, often broken off or undetectable. A pair of trilocular pores (Fig. 2A) present on head region. Simple disc pores (Fig. 2F) present, duct rim about 1.8 μ m wide, often hard to detect or indiscernible in specimens over treated with potassium hydroxide. Bilocular microducts (Fig. 2E) 3.6-4.4 μ m wide. Anal plates each triangular, 60-64 μ m long, 21-26 μ m wide. Number of setae on each plate 4, including long apical setae. Anal ring (Fig. 2G) with 6 setae. Eyes present, located about same level as antennal scape.

Margin. Marginal outline smooth. Marginal setae (Fig. 2C) sharply spinose, with straight or bent tips, 13-20 μ m long. Total number of marginal setae 32: 8 anteriorly between eyes, 2 between each eye and anterior spiracular setae, 2 between anterior and posterior spiracular setae, and 8 on posterior end of body (between posterior spiracular setae and abdominal apex). Spiracular setae (Fig. 2D) numbering 3, bluntly or sharply spinose, median spiracular setae longest, 15-19 μ m long, lateral spiracular setae shorter, 4.3-6.4 μ m long.

Venter. Derm membranous. Six inner and 7 outer submarginal setae (Fig. 2H) on each side of abdominal margins, 1 on each side between anterior and posterior spiracle, and 1 ventral cephalic seta (Fig. 2L). Antennae 5-segmented, total length 119-139 μ m. Interantennal setae 1 pair. Legs well developed, trochanter + femur 68-77 μ m long, tibia + tarsus (claw not included) 79-85 μ m long. Microtenidia at tibial apex present. Prothoracic tarsal digitules dissimilar: 1 knobbed, 1 spiniform; mesothoracic and metathoracic tarsal digitules similar, knobbed. Claw (Fig. 2I) with a denticle, claw digitules knobbed, one thicker than other. Spiracular peritremes 7.1-8.9 μ m wide. Spiracular pores (Fig. 2J) with 4 loculi, numbering 3 on anterior spiracular furrow, and 4 on posterior spiracular furrow. Clypeolabral shield 66-68 μ m wide. Ventral microducts (Fig. 2K) present, duct rim about 1.8 μ m wide, numbering 8 on each side of body, 6 between inner and outer submarginal setae in the abdominal region, 1 between anterior and posterior spiracle, and 1 present near base of antennal scape.

Morphological variation. Specimens from guava (*Psidium guajava*) collected in Cali are morphologically identical to the type specimens collected in El Topacio on Melastomataceae. Specimens from Buga collected on avocado (*Persea americana*) and aguacatillo (*Ocotea* sp.) also closely match the morphology of the types, except that a few specimens from these hosts have 1-2 ventral tubular ducts on the vulvar region. (Ventral tubular ducts are always absent in the other species of *Akermes*). Scales collected on guava at the Juan María Cespedes Botanical Garden in Tulúa, usually have fewer and slightly smaller discoidal pores, a highly irregular body outline, and more pronounced granular dermal patches. No differences were found between first-instar nymphs from any locality.

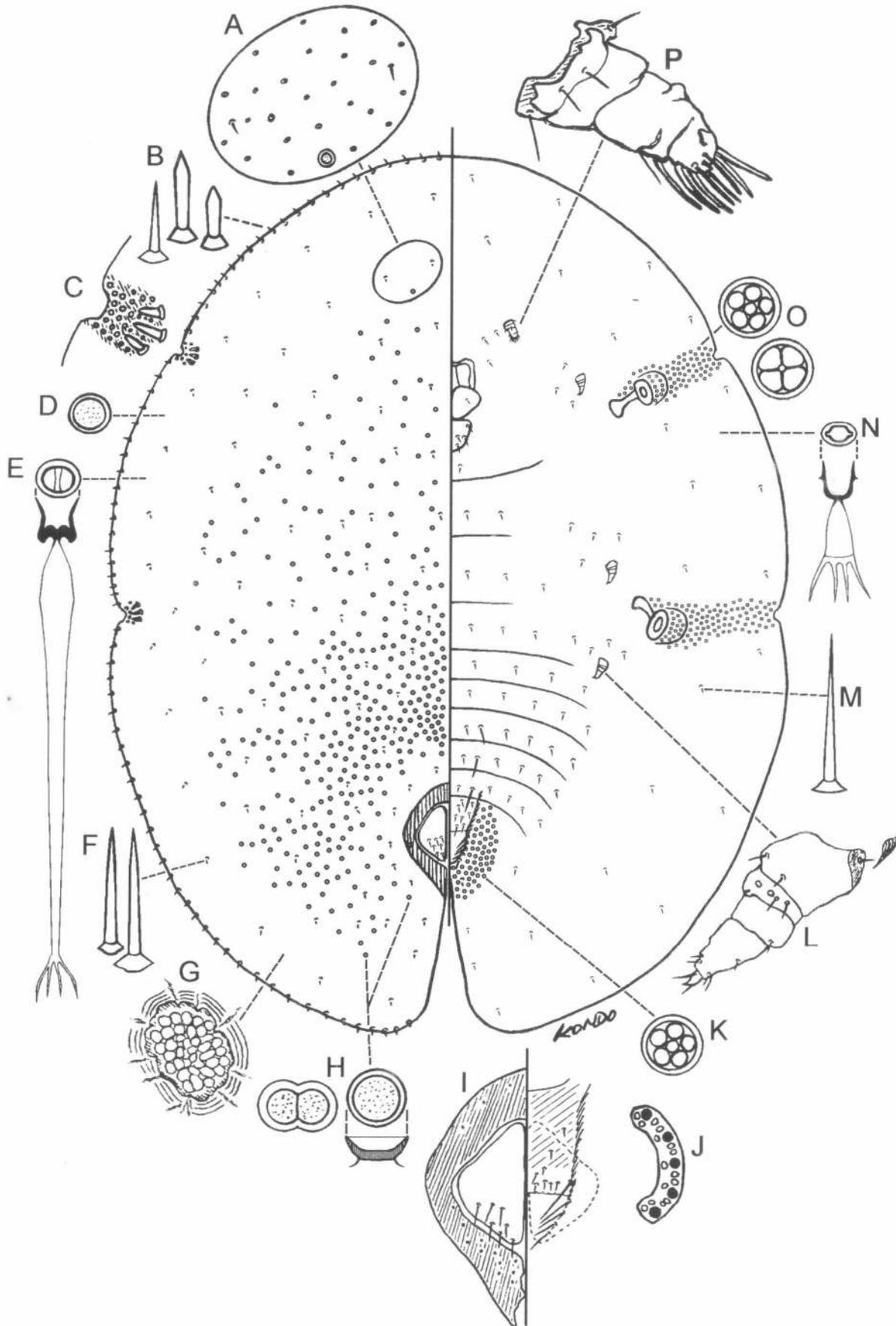


Figure 1. *Akermes colombiensis* sp.n., adult female. A. Dorsal derm magnification. B. Marginal setae. C. Spiracular setae. D. Simple disc-pore. E. Dorsal microduct. F. Dorsal setae. G. Discoidal pore. H. Anal plates. I. Perivulvar pore. J. Anal ring (right half). K. Leg. L. Ventral seta. M. Ventral microduct. N. Spiracular pores. O. Antenna.

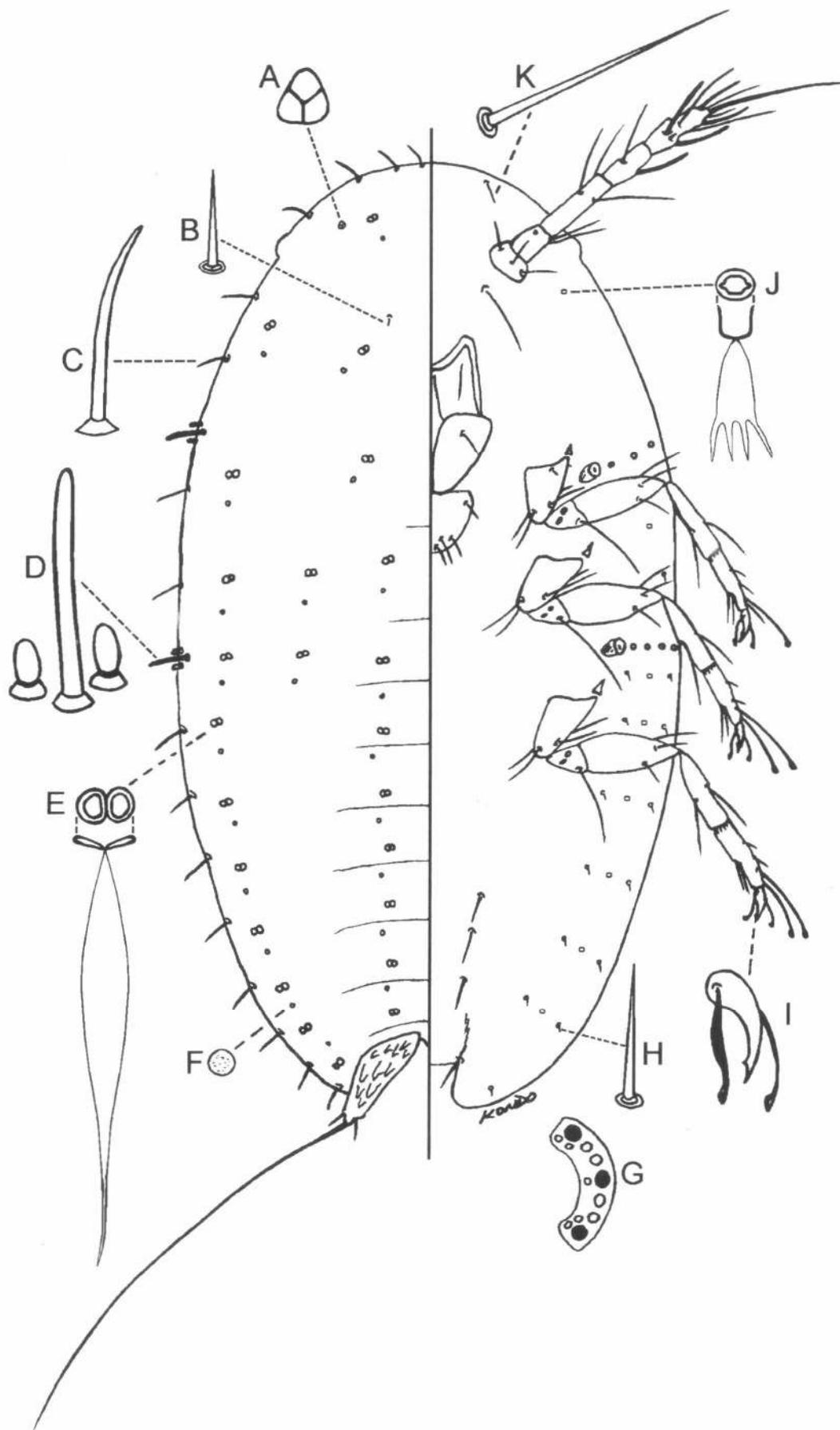


Figure 2. *Akermes colombiensis* sp.n., first-instar nymph. A. Trilobular pore. B. Dorsal seta. C. Marginal seta. D. Spiracular seta. E. Dorsal microduct. F. Simple disc pore. G. Anal ring (right half). H. Ventral submarginal seta. I. Claw. J. Spiracular pore. K. Ventral microduct. L. Ventral cephalic seta.

Distribution. Neotropical region: Colombia, Valle (Bugá, Cali, El Topacio, Tulúa).

Host plants. Lauraceae: *Ocotea* sp., *Persea americana* Mill.; Melastomataceae: species undetermined, with purple flowers and similar to *Tibouchina*; Myrtaceae: *Psidium guajava* L.

Associated ants. Dolichoderinae: *Azteca* sp.; Formicinae: *Myrmelachista* sp.; Myrmicinae: *Crematogaster* sp.

Type Material

Adult female. HOLOTYPE: COLOMBIA. **Valle.** El Topacio. 13-dic-1999. *Kondo, T.*, ex Melastomataceae, inside ant cartons of *Myrmelachista* sp., AL-093-2000: 1(1) [USNM]; PARATYPES: same data as holotype: 2(2) [AUCC], 1(1) [BME], 2(2) [UNCB], 2(2) [USNM]; COLOMBIA. **Valle.** El Topacio. 18-ago-1999. *Kondo, T.*, ex Melastomataceae, inside ant cartons of *Myrmelachista* sp., AL-089-2000: 2(2) [AUCC], 2(2) [BME], 2(2) [UNCB], 2(2) [USNM], 4(5) [UVCO]; COLOMBIA. **Valle.** Cali. 18-Ago-1999. *Kondo, T.*, ex guava, inside cartons of *Azteca* sp. ants, AL-094-2000: 3(3) [AUCC], 3(3) [BME], 5(5) [BMNH], 1(2) [UNCB], 4(4) [USNM], 1(1) [UVCO]. Males. AL-094-2000: 1(1) [AUCC], 1(1) [BME], 1(1) [UNCB], 3(3) [USNM]; Immature stages. Same data as holotype: 2(2) [AUCC], 1(1) [BME], 2(4) [UNCB], 4(5) [USNM], 1(1) [UVCO]; AL-089-2000: 7(7) [USNM]; AL-094-2000: 2(2) [AUCC], 2(2) [BME], 6(6) [BMNH], 2(2) [UNCB], 5(13) [USNM], 2(2) [UVCO].

Other material studied

Adult female. COLOMBIA. **Valle.** Tulúa. 18-ago-1999. *Kondo, T.*, ex guava, inside cartons of *Azteca* sp. ants, AL-092-2000: 2(2) [AUCC], 2(2) [BME], 2(2) [UNCB], 6(6) [USNM], 2(2) [UVCO]; COLOMBIA. **Valle.** Bugá. 12-dic-2000. *Kondo, T.*, ex *Ocotea* sp., inside ant cartons of *Azteca* sp., AL-104-2000: 3(3) [USNM]; COLOMBIA. **Valle.** Bugá. 12-ene-2000. *Kondo, T.*, ex avocado, tended by *Crematogaster* sp., AL-105-2000: 2(2) [AUCC], 2(2) [BME], 3(3) [BMNH], 2(2) [UNCB], 5(5) [USNM], 2(2) [UVCO]. Males. AL-105-2000: 2(2). Immature stages. AL-092-2000: 3(7) [AUCC], 3(6) [BME], 3(3) [UNCB], 9(14) [USNM], 3(3) [UVCO]; AL-104-2000: 3(3) [AUCC], 3(3) [BME], 4(4) [BMNH], 2(3) [UNCB], 4(4) [USNM], 2(5) [UVCO]; AL-105-2000: 2(3) [AUCC], 2(3) [BME], 1(2) [BMNH], 1(2) [UNCB], 2(6) [USNM], 1(1) [UVCO].

Acknowledgements

We are thankful to Patricia Chacon for identifying the ants, to Philip Silverstone and Nestor Paz for their aid in the identification of plants, and Penny J. Gullan for kindly reviewing the manuscript.

Literature cited

BEN-DOV, Y.; MILLER, D.R.; GIBSON, G.A.P. 2003. ScaleNet web site. <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm> Last date of update: 8 December 2003. Last date of access: 26 March, 2004.

GRANARA DE WILLINK, M.C. 1999. Las cochinitas blandas de la República Argentina (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). *Contributions on Entomology, International* 3 (1): 1-183.

HODGSON, C.J. 1994. The scale insect family Coccidae: an identification manual to genera. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. 639 p.

KONDO, T. 2001. Las cochinitas de Colombia (Hemiptera: Coccoidea). *Biota Colombiana* 2 (1): 31-48.

KONDO, T. 2003. A taxonomic review of the subfamily Myzolecaniinae (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). Doctoral thesis. Auburn University, Auburn. 302 p.

KONDO, T.; WILLIAMS, M.L. 2002 (2001). The Myzolecaniinae (Hemiptera: Coccidae): New World versus Old World. *Bolletino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, Ser. II*, 33 (3): 125-128.

KOSZTARAB, M. 1996. Scale insects of northeastern North America. Identification, biology and distribution. Virginia Museum of Natural History, Special Publication Number 3, Martinsville, Virginia, USA, 650 p.

WILLIAMS, M.L.; KONDO, T. 2002 (2001). Characteristics of First Instar Nymphs in the Soft Scale Insects (Hemiptera: Coccidae): Surprising Indicators of Relationships. *Bolletino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, Ser. II*, 33 (3): 35-42.

Recibido: Mar. 29/2004

Aceptado: May. 26/2004

Observaciones sobre la biología y comportamiento del ácaro *Macrodinychus sellnicki* (Mesostigmata: Uropodidae) ectoparasitoide de la hormiga loca *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae)¹

Observations on the biology and behavior of the mite *Macrodinychus sellnicki* (Mesostigmata: Uropodidae), ectoparasite of the crazy ant *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae)

VICTORIA EUGENIA GONZÁLEZ V.², LUIS ANTONIO GÓMEZ L.³, NORA CRISTINA MESA C.⁴

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 143-149 (2004)

Resumen. La "hormiga loca" *Paratrechina fulva* (Mayr) ha encontrado en el cultivo de caña de azúcar las condiciones adecuadas para establecerse y proliferar, lo que ha ocasionado serios problemas al sector. En 1996, se detectó en el Ingenio Risaralda la presencia de un ácaro atacando las pupas de la hormiga; diversas investigaciones condujeron a elucidar su biología, comportamiento y otras relaciones existentes entre el ácaro y la hormiga, en orden a determinar la posibilidad de usar el ácaro como agente de control de poblaciones de la hormiga loca. El ácaro identificado como *Macrodinychus sellnicki* (Hirschmann) es mirmecófilo y se desarrolla como ectoparasitoide de la pupa succionando los líquidos internos de ella, la cual muere al emerger el adulto. En condiciones de campo, se determinó que el ácaro puede presentar rangos de parasitismo entre 0 y 93%. Antes de llegar al estado adulto *M. sellnicki* pasa por tres estados de desarrollo: larva, protoninfa y deutoninfa. La duración de su ciclo de vida fue de 30 días en promedio contabilizado desde larvas activas hasta la emergencia del adulto. Después de copuladas las hembras formaron huevos a los siete días y larvas a los 37, sugiriendo oviparidad. No se logró observar el proceso de salida de las larvas, las cuales son móviles lo que les permite ubicar a su hospedero. Los dos estados ninfales sufren cambios regresivos en los órganos locomotores. *M. sellnicki* tiene una alta capacidad para afectar las poblaciones de *P. fulva*, pero su reproducción masiva en laboratorio no fue posible. Su uso, por lo tanto, consistiría en liberaciones inoculativas de material de campo altamente parasitado, en sectores donde se presenten explosiones de hormiga loca y el ácaro esté ausente.

Palabras clave: Ontogénesis. Parasitismo. Control de hormigas. Mirmecófilo. Reproducción.

Summary. The crazy ant *Paratrechina fulva* (Mayr) has conditions found in sugarcane adequate for establishing and proliferating, causing serious problems to growers. In 1996, the presence of a mite attacking crazy ant pupae was detected in Risaralda sugar mill; several investigations were conducted to elucidate its biology, behaviour other relationships between the mite and the ant, in order to determine the possibility of using the mite as a control agent of ant populations. The mite, identify as *Macrodinychus sellnicki* (Hirschmann), is a myrmecophile and develops as an ectoparasitoid sucking internal fluids of the pupa, which in turn dies when the adult mite emerges. Percent parasitism by mites in the field may vary from 0 to 93%. Before becoming an adult *M. sellnicki* passes through three development stages: larva, protonymph and deutonymph. Mean duration of the life cycle was 30 days from active larva to emerged adult. After copulation, females formed eggs 7 days later and larvae 37 days later, suggesting ovoviviparity. Birth of larvae was not observed; these are active and seek their host. Nymphal stages have regressive development of their locomotion appendages. *M. sellnicki* has a high capacity to affect *P. fulva* populations but its mass reproduction in laboratory was not possible. Its potential use therefore would be inoculative, consisting of liberations of highly parasitized individuals obtained from the field into areas where there are crazy ant outbreaks but the mite is absent.

Key words: Ontogenesis. Parasitism. Ant control. Myrmecophily. Reproduction.

Introducción

La hormiga loca (HL) es un insecto que ha sido importante por el impacto que ha tenido sobre aspectos económicos, ecológicos y sociales (Zenner-Polanía 1990) de la caña de azúcar entre otros cultivos. Si bien la forma de control más estudiada ha sido el uso de cebos envenenados, no se ha descartado la posibi-

lidad del uso de otras alternativas de manejo como el control biológico. Las hormigas a nivel de familia poseen un buen número de enemigos naturales pero son pocos los casos en que éstos han sido utilizados como controles biológicos de plagas, y vale la pena citar los esfuerzos que se han hecho para el caso de la hormiga de fuego, *Solenopsis invicta*, en los Estados Unidos (Porter

2000) con parasitoides del género *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae).

En el ingenio Risaralda se encontró, en 1996, un ácaro que se asociaba posiblemente mediante relaciones de parasitismo, con las pupas de la hormiga loca (Gómez y Lastra 1997) y fue identificado simultáneamente en 1998 por G.W. Krantz (Oregon State University) y H. Klompen

1 Proyecto cofinanciado por COLCIENCIAS Código 2214-531-97.

2 Estudiante de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira.

3 Autor para correspondencia: I. A. Ph. D. Entomólogo, Cenicaña. A. A. 9138 Cali. E-mail: lagomez@cenicana.org

4 Profesora Asociada, Universidad Nacional de Colombia -Sede Palmira. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

(Ohio State University), como *Macrodi-nychus sellnicki* (Acari: Mesostigmata: Uropodidae). Muchos ácaros han establecido relaciones con insectos sociales entre las que sobresalen las de forénesis (Hölldobler y Wilson 1990). Dentro de los uropódidos, tres especies del género *Macrodi-nychus* – *M. Parallelepipedus*, *M. Multispinosus* y *M. Sellnicki* – han sido recuperadas de nidos de hormigas; sin embargo, tal como lo manifiesta Hirschmann (1975), su captura fue casual por cuanto hasta el momento no se ha establecido el tipo de relación de estas tres especies con las hormigas. Krantz *et al.* (2002) hicieron por primera vez una descripción de los estados inmaduros de *M. sellnicki* con base en individuos recolectados en el valle del río Cauca.

El ácaro *M. sellnicki* pertenece al orden Mesostigmata y al suborden Uropodina, el cual comprende tres superfamilias, de las cuales la Uropodoidea es la más grande, a su vez el mayor de sus componentes es la familia Uropodidae; esta última actualmente incluye más de 40 géneros, representados en muchas especies de gran diversidad morfológica (Karg 1989; Hirschman 1979; Wisniewski 1993 citados por Krantz *et al.* 2002). Los uropódidos son un gran grupo de ácaros que tienen adaptaciones a una diversidad de hábitats y aunque la mayoría son de vida libre, se encuentran algunos grupos parásitos, ya sea internos o externos de mamíferos, aves, reptiles e invertebrados (Hunter y Rosario 1988).

Los objetivos de este trabajo fueron por lo tanto, conocer cuales son las relaciones entre *M. sellnicki* y *P. fulva*, determinando características de su desarrollo ontogénico, morfológicas y de comportamiento adaptadas a la interacción de estas dos especies, para pensar, a más largo plazo, en utilizar al ácaro como un elemento de control biológico en el manejo integral de la hormiga loca.

Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el laboratorio de Entomología del Centro de Investigación de la caña de azúcar, Cenicaña ubicado en el corregimiento de San Antonio de los Caballeros, municipio de Florida, departamento del Valle del Cauca. Otra parte de la investigación se realizó en la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, en el laboratorio de Entomología. El trabajo se llevó a cabo entre agosto de 2000 y agosto de 2002.

Biología de *M. sellnicki*

Para establecer el desarrollo de este ácaro, se escogieron pupas de la hormiga loca (HL) parasitadas por ácaros de diferente tamaño que fueron retirados cuidadosamente con un pincel fino para luego ser montados antes de ser observados a través un microscopio binocular de contraste de fase, después de sufrir un proceso de aclarado simple sin tinción o bien de una tinción con fuschina ácida.

La aclaración simple consistió en introducir los ácaros inmaduros en lactofenol durante 3-4 días, dependiendo de su tamaño, de acuerdo con el método descrito por Krantz (1978); luego se lavaron con agua destilada y se montaron sobre placas en medio de Hoyer's para poder hacer las observaciones correspondientes.

La tinción con fuschina ácida consistió en perforar los individuos en la parte posterodorsal, sobre una placa con KOH al 10% para aclararlos, se lavaron luego con agua destilada, se introdujeron en fuschina ácida (50 min), se pasaron por alcohol al 70% para lavar los excesos seguidos de alcohol al 95% para fijar, enseguida se introdujeron en carboxileno (dos min), se lavaron nuevamente con alcohol al 95% y se impregnaron en aceite de clavos para ser trasladados finalmente al portaobjetos en medio de una gota de medio de Hoyer's.

La duración de los estados de desarrollo del ácaro fue investigada utilizando cajas plásticas de Petri ($\phi = 35$ mm), que se desinfectaron con hipoclorito al 0,5%, luego se lavaron con agua destilada y finalmente se impregnaron las paredes con Teflón™. Se dejaron en cámara de luz U.V. por espacio de tres días y posteriormente, en el fondo de la caja se colocó un círculo de servilleta húmeda con sulfato de cobre al 0,5%. Para permitir el intercambio de aire, la tapa tenía en el centro un agujero ($\phi = 7$ mm) con una malla de tul pegada con silicona.

Se montaron 14 cajas y en cada una se colocaron cinco pupas parasitadas con larvas del ácaro, acompañadas por 10 obreras de la hormiga loca, para el mantenimiento de la cría y evitar la presencia de hongos en las pupas. Para prevenir el escape de las obreras de la hormiga las cajas se sellaron con Parafilm®. Una vez montadas, se colocaron sobre una rejilla plástica que reposaba sobre una espuma humedecida en agua que estaba a su vez sobre una bandeja. Todo se cubrió con una caja plástica forrada con cartulina negra en su interior. Las pupas se revisaban diariamente para evaluar el desarrollo de los ácaros y dos veces por semana se le agregaba a la caja sulfato de cobre al 0,5% para evitar la presencia de contaminantes. Las obreras se reemplazaban a medida que morían.

Comportamiento reproductivo

Para observar la cópula entre los ácaros, se les proporcionó una humedad relativa alta empleando cajas de Petri en cuyas bases se acomodó una mezcla de carbón vegetal y yeso (1:1) con agua suficiente para manipular la mezcla. En las cajas se introdujeron adultos recién emergidos y al cabo de 24 h se realizaron las observaciones.

Con el propósito de conocer la formación de la descendencia, se llevaron a cabo dos ensayos. En el primero, se agruparon 100 hembras y 100 machos en una caja de Petri

de vidrio, previamente esterilizada con luz U.V. cuya base estaba conformada por la mezcla de yeso y carbón ya descrita; al cabo de tres días los machos se retiraron. Para mantener una humedad alta y evitar la presencia de hongos, se adicionó a las cajas agua estéril y sulfato de cobre al 1% dos veces por semana. Las hembras se observaron cada dos días y se retiraron las muertas para ser aclaradas con KOH al 25% durante siete h. Posteriormente, se lavaron con agua destilada, se montaron sobre placas con medio de Hoyer's y se observaron al microscopio para determinar su gravidez. Paralelamente, se aislaron 80 hembras vírgenes recién emergidas y en forma semejante se aclararon para determinar igualmente su estado de gravidez.

En el segundo ensayo, se siguió el procedimiento utilizado en el ensayo anterior, para asegurar la cópula se colocaron ácaros adultos en relación 2:1 (200 machos y 100 hembras), y después de siete días se sacaron los machos dejando sólo a las hembras. Una vez por semana se retiraron al azar 12 hembras, las cuales se sacrificaron y aclararon, se montaron en placas y se observaron al microscopio con el fin de determinar el momento en que se formaban los huevos y las larvas; estas observaciones se realizaron durante dos meses hasta que no quedaron más hembras. En ninguno de los dos experimentos se suministró alimento durante todo el tiempo que duró el experimento.

Para establecer la cantidad de descendencia, se tomaron 10 hembras de 24 y 36 días después de copuladas, se colocaron en parafina, y con la ayuda de alfileres entomológicos y del estereoscopio, se desecaron, luego se pasaron a portaobjetos con medio de Hoyer's y con la ayuda de un microscopio se contó el número de descendientes dentro de cada una de ellas.

De la misma forma, se hizo un reconocimiento del estado de gravidez en adultos provenientes del campo, tomando muestras de suelo cercanas a nidos de la hormiga loca en lotes de Risaralda y Cauca, por presentar porcentajes altos de parasitismo. Posteriormente, de las muestras se extrajeron los adultos a través de un embudo de Berlesse, de acuerdo con el método descrito por Jaffé (1993).

Relación entre el ácaro y la hormiga

Se realizó una serie de observaciones minuciosas del comportamiento del ácaro en todos los estados del ciclo de vida, tanto en su forma libre como asociado con las hormigas. Para saber cuál es el estado del ácaro comúnmente asociado a la hormiga, se aislaron de manera individual pupas parasitadas por larvas del ácaro y se realizó diariamente un seguimiento para observar su comportamiento. Las pupas aisladas se introdujeron en cajas de Petri pequeñas ($\phi = 35$ mm y $h = 11$ mm), empleando el mismo procedimiento que se usó para determinar la duración del estado de de-

sarrollo inmaduro del ácaro. Para estimar el potencial del ácaro como regulador de poblaciones de *P. fulva* en el laboratorio se cuantificó el porcentaje de parasitismo; para ello se tomaron 100 pupas al azar del material recién colectado en lotes de caña infestados y se revisaron una a una observando para saber si se encontraban parasitadas.

Resultados y Discusión

Biología de *M. sellnicki*

Al estudiar la ontogénesis del ácaro *M. sellnicki* sobre pupas de la hormiga loca, se encontró, que, como otros Uropódidos que pasan por cuatro estados o estases (estado diferenciado de desarrollo) post-embrionarios (larva, dos instares ninfales y adulto) (Krantz 1978), esta especie pasa por los mismos cuatro estados pero con características muy peculiares.

En cuanto a la duración de los estados de desarrollo de *M. sellnicki* fue muy difícil observar el momento exacto en el cambio de un estado a otro, por lo cual se determinó el tiempo total de desarrollo del estado inmaduro partiendo de larvas móviles hasta la emergencia de los adultos, encontrándose que el tiempo promedio fue de 30,26 días, con un rango entre los 26 y 35 días en condiciones de laboratorio.

Larva. El estado de desarrollo más joven observado fue el larval, en el cual se diferencian dos formas: una móvil (Fig. 1A) y una inmóvil (Fig. 1B). La primera busca, ubica y se acomoda sobre su hospedero; a partir de este momento se inicia la fase inmóvil, comienza a alimentarse, y se ensancha notoriamente a medida que se llena su idiosoma.

El cuerpo de la larva en la fase móvil es ovoide, de color blanco, poco esclerotizado y mide 252 μm en promedio. El cuerpo de la larva en la fase inmóvil tiende a tomar una forma circular. La larva se caracteriza por poseer tres pares de patas funcionales. No se presenta estigma ni peritrema.

El desarrollo de los quelíceros es inusual, teniendo en cuenta que siendo visibles y gruesos, les falta el dígito fijo. A pesar de su ausencia, la larva está en capacidad de utilizarlos por cuanto ella puede alimentarse vorazmente de su hospedero y aumentar visiblemente su volumen corporal.

Protoninfa. Posteriormente ocurre la primera muda, momento en el cual pasa al estado de protoninfa; cuando ésta se lleva a cabo, el ácaro sufre un desarrollo funcionalmente regresivo de los órganos locomotores; es decir, sus patas se reducen marcadamente, lo que obliga a que el ácaro se mantenga ubicado en el mismo sitio sin movimiento aparente. A partir de este momento se alcanzan a hacer visibles los cuatro pares de patas que caracterizan a los ácaros (Fig. 1C), su cuerpo es de forma ovalada regular, de color blanco, con menor grado de esclerotiza-

ción que la larva y su longitud es de 535 μm en promedio.

La porción ventral de la exuvia de la larva permanece adherida al tegumento del nuevo estado y se mantienen, claramente identificables los restos de las patas de la larva. Las de la protoninfa no son tan evidentes pero se alcanzan a distinguir cuatro pares de patas, con aspecto de muñones, en los cuales se pierde la segmentación típica, al igual que las uñas, visibles en la estasa anterior. La setación se reduce notoriamente, pero en el tarso I aparece una gran seta terminal en forma de espina cuya función podría ser la de servir como instrumento para romper la envoltura del estado anterior, para liberar los quelíceros y alimentarse (Krantz *et al.* 2002).

En cuanto al aparato bucal, es sorprendente que los quelíceros se mantengan semejantes y funcionales por cuanto la protoninfa aumenta de tamaño antes de mudar a la siguiente estasa. Aparece un estigma con un peritrema corto, fácil de observar.

Deutoninfa. La segunda muda marca el inicio del estado de deutoninfa (Fig. 1D) que es semejante al anterior en cuanto a función puesto que mantiene su estado regresivo en los apéndices locomotores, y

sigue siendo activo en alimentarse. Su cuerpo con una longitud de 908 μm , es ovoide, de color blanco al principio, y a medida que se acerca al estado adulto, se va tornando crema y presenta un grado de esclerotización mayor que el de la protoninfa. Los rudimentos de apéndices ambulatorios se vuelven más grandes y visibles. La gran seta terminal en forma de espina, que se presenta en el tarso I de la protoninfa se mantiene, pero en este nuevo estado es más fuerte. En la parte inferior del primer par de patas se desarrolla una protuberancia aguda bien visible pero de función aún desconocida. Al igual que en las dos estases anteriores, la deutoninfa mantiene el mismo tipo de quelíceros, es decir gruesos, quitinizados y con un solo dígito provisto de pequeños dientes y por lo tanto activos en el proceso de alimentación. A esta situación específica, caracterizada por la inmovilidad del individuo (sin ser caliptostática, o sea un desarrollo regresivo sin movilidad y sin alimentación), Krantz *et al.* (2002) le dieron el nombre de trofostasis.

Debido a la inmovilidad del ácaro en estos dos estados, la muda es posiblemente un proceso más bien pasivo, y por lo tanto las exuvias, especialmente la porción ventral, permanecen sobre el cuerpo, manteniéndose visibles los restos de

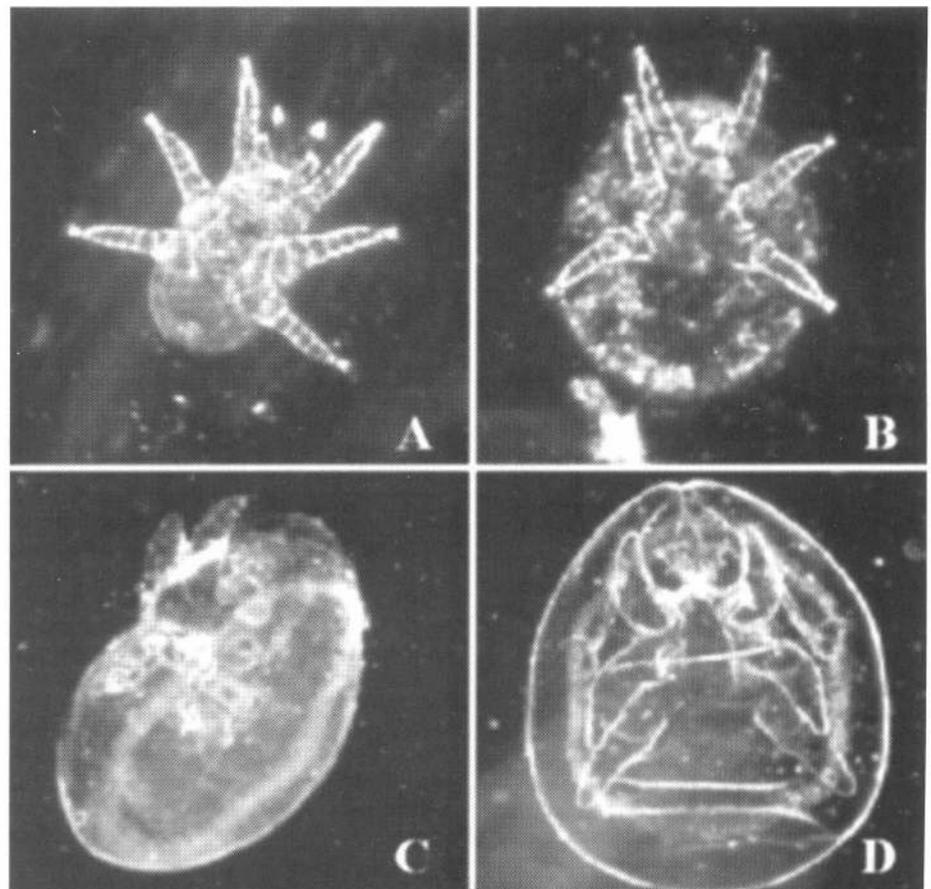


Figura 1. Estados de desarrollo de *M. sellnicki*. A: Larva activa, (40X); B: Larva inactiva, (40X); C: Protoninfa, (10X); D: Deutoninfa, (10X).

las patas. Se encontraron individuos cercanos a la emergencia del adulto donde se distinguían patas y quelíceros de la larva, la protoninfa y la deutoninfa. El tamaño del estigma y el peritrema también aumenta considerablemente.

Adulto. Finalmente se da la tercera muda para pasar al estado adulto, que ocurre cuando ha alcanzado su máximo grado de quitinización. Este paso no es evidente teniendo en cuenta que la muda ocurre dentro de la exuvia de la deutoninfa sin que haya ningún signo externo de la transformación. El adulto parece separarse de la exuvia de la deutoninfa y permanece algún tiempo dentro de ella; hace una perforación en la exuvia de la deutoninfa, en la parte ventral del gnatosoma, a través de la cual, el ácaro puede sacar su aparato bucal y posiblemente alimentarse aún cuando se mantiene dentro de la exuvia deutoninfal.

Una indicación de que el adulto ya mudó es la coloración cremosa que toma, seguida por un oscurecimiento debido a la quitinización. Aun después de adquirir el ácaro la coloración oscura y seguir cubierto por la exuvia de la deutoninfa éste puede permanecer aparentemente inmóvil sin romperla. Posteriormente, el ácaro rasga la exuvia lateralmente por el costado externo en relación con su posición sobre la pupa y sale, para pasar a una etapa activa y así iniciar un nuevo ciclo.

Los quelíceros del adulto adquieren una forma filiforme, al contrario de los estados inmaduros en la que eran gruesos y con un solo dígito; en este estado se vuelven largos, muy delgados y con ambos dígitos armados de múltiples dientes. Posee cuatro pares de patas las cuales salen del idiosoma; el primer par es un poco más delgado que los demás y su función parece ser más sensorial que ambulatoria teniendo en cuenta que cuando se desplaza, estas patas se mantienen estiradas hacia delante, sin participar en la locomoción. Las patas II, III y IV terminan en un pretarso y éste a su vez en un ambulacrum, conformado por un par de uñas y una membrana delgada. Presenta en la parte ventral del idiosoma depresiones especializadas en el cuerpo, que le permiten recoger las patas y el gnatosoma para ser protegidas. Otra característica de los adultos es la aparición de pilosidad sobre todo el cuerpo.

El cuerpo de la hembra tiene forma ovalada regular (Fig. 2 A), de color marrón oscuro, fuertemente quitinizado y puede medir en promedio 998 μm de largo y 642 μm de ancho. El macho presenta características similares a las de la hembra (Fig. 2 B) pero difieren en el tamaño, al ser más pequeños; alcanzan en promedio tamaños de 886 μm de largo y 558 μm ancho. Su abertura genital ofrece un marcado dimorfismo sexual, puesto que en el macho corresponde a una abertura circular pequeña ubicada en una depresión de la parte ventral del abdomen (opistosoma), en tanto que en la hembra

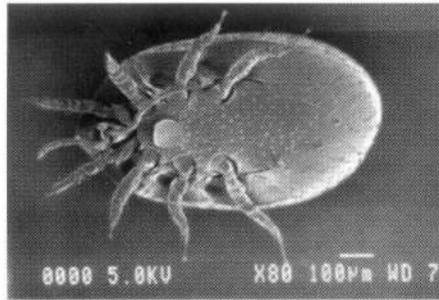


Figura 2. Adultos de *M. sellnicki*. A: Hembra, (80X); B: Macho, (95X).

no presenta la depresión y la abertura genital es más grande.

El desarrollo ontogénico de *M. sellnicki* es verdaderamente interesante, debido a que en las estapas inmaduras las exuvias se quedan adheridas al nuevo estado. Debido a esto, por un lado, y al inevitable hecho de maltratar la pupa para observar al ácaro, por otro, fue muy difícil observar el momento exacto en el que cambia a un estado subsiguiente, por lo cual tan sólo se determinó el tiempo total de desarrollo del estado inmaduro, en 70 individuos observados.

En las evaluaciones realizadas para determinar el tiempo de duración promedio de los estados biológicos de *M. sellnicki*, partiendo de larvas móviles hasta la emergencia de los adultos, se encontró que el tiempo promedio fue de 30,26 días, con un rango entre los 26 y 35 días en condiciones de laboratorio. En términos generales, se estableció que la duración promedio no varía mucho si se considera que el coeficiente de variación estuvo alrededor de 10%, cifra bastante aceptable para datos de tipo biológico.

Comportamiento reproductivo

El ácaro no es muy exigente en cuanto a condiciones para llevar a cabo la cópula, lo más importante es utilizar un sustrato

que le proporcione condiciones de alta humedad relativa. Se logró observar la cópula de *M. sellnicki* a través de la cual la transferencia del esperma se realizó de manera directa, es decir, el macho deposita el esperma en la apertura genital de la hembra. El proceso se inicia cuando los machos se sostienen de las patas y del abdomen de las hembras, para luego llegar a la posición de cópula, tal como lo describe Evans (1992), lado ventral con lado ventral, ambos de frente y en la misma dirección.

El macho de *M. sellnicki* no cuenta con órganos adaptados para la cópula, es decir, no presenta un órgano intromitente como ocurre en varios Actiniedida y los quelíceros no tienen un espermadactilo (estructura adaptada para la transferencia del semen); sin embargo, es probable que el macho use los quelíceros para la transferencia de los espermátóforos hacia la apertura sexual de la hembra.

La cópula duró 16 minutos aproximadamente con un rango entre 11 y 21 min, desde el momento en que el macho apresó a la hembra hasta que ella se soltó. En hembras recién copuladas fue posible distinguir la envoltura del espermátóforo adherida a la apertura genital de la hembra, la cual se calló posteriormente.

De acuerdo con el primer ensayo, después de la cópula, las hembras de *M. sellnicki* presentaron inicialmente formación de huevos, ocupando éstos gran parte del idiosoma y mostrando todos un tamaño similar, lo que sugirió un desarrollo simultáneo. A medida que aumentaba la duración de las hembras bajo estas condiciones comenzaron a hacerse visibles individuos, ya bien sea embriones en avanzado estado de desarrollo, o bien larvas ya formadas.

La tabla 1 relaciona el inventario final del número y el estado de desarrollo de la descendencia en el momento de la muerte de las hembras. Sesenta y dos hembras, es decir el 69% mostraron formación de descendencia, de ellas 54, o sea el 60% formó larvas y solo ocho (9%) alcanzaron a formar huevos antes de morir, en tanto que 21 (31%) murieron sin formación de descendencia. Es de notar que debido a la forma en que se montó el experimento no se puede garantizar que las hembras que no mostraron descendencia hubiesen copulado.

Durante todo el tiempo de observación, no se encontró formación de huevos ni tampoco se desarrollaron larvas en las hem-

Tabla 1. Formación de huevos y larvas en hembras copuladas de *M. sellnicki*

Hembras	Sin descendencia	Formación de huevos	Formación de larvas	Hembras totales
Individuos	28	8	54	90
Porcentaje	31	9	60	100

bras vírgenes, lo cual indica que para esta especie no hay partenogénesis y que para tener descendencia es necesario que haya cópula, cumpliendo de esta manera la norma general de reproducción de los ácaros.

En cuanto a la longevidad se refiere, el promedio de vida de las hembras copuladas de *M. sellnicki* fue de 64,7 días, lo que corresponde a dos meses aproximadamente, con un coeficiente de variación del 8,3%, si se tiene en cuenta que únicamente las hembras que sobrevivieron más de 15 días fueron consideradas (82) y se descartaron aquellas que por algún motivo murieron antes de dos semanas después de iniciado el ensayo.

Las hembras vírgenes tuvieron una longevidad promedio de 108,3 días, lo que equivale a tres meses y medio aproximadamente, con un coeficiente de variación del 4,4%. Su rango de vida varió entre 88 y 111 días; de un total de 70 hembras estudiadas, 34 sobrevivieron hasta los 111 días, que equivale al 48,6% y más del 95% de ellas vivieron más de 100 días (Fig. 3). El rango de vida de las hembras copuladas de *M. sellnicki* varió entre 49 y 70 días, con un promedio de 64,7. De un total de 82 hembras estudiadas, 69 sobrevivieron más de 60 días o sea casi el 85% de ellas.

Es de resaltar el hecho de que las hembras vírgenes presentaron un tiempo de vida mucho más largo que las hembras copuladas, con una diferencia de 43,6 días en promedio. El costo fisiológico ocurrido en el proceso de formación de huevos, probablemente tuvo incidencia en la diferencia de longevidad entre las hembras vírgenes y las copuladas.

Los datos obtenidos en el segundo ensayo indicaron que hubo un número de hembras que no mostraron formación de descendencia. En un principio, fue alto debido posiblemente a una cópula tardía (el período de cópula duró una semana) pero finalmente se estableció que tan sólo 20% de las hembras no mostraron ningún tipo de descendencia.

La formación de huevos comenzó a hacerse evidente en algunas hembras desde los siete días después de aisladas de los machos y así permanecieron hasta el día 28 después de que se inició el aislamiento. Siete días después comenzaron a distinguirse larvas. El período de maduración duró por lo tanto entre 28 y 35 días si se tiene en cuenta que la cópula pudo ocurrir en un período de siete días. La presencia de larvas ocurrió hasta el día 70 cuando se aclaró el último lote. En todo el período que duró el ensayo no se logró detectar que hubiese emergencia ni de huevos ni de larvas y todo da a entender que la hembra está lista para dar nacimiento a su descendencia al mes de la cópula, pero requiere de unas condiciones o estímulos muy especiales para iniciarla y si no las encuentra, retiene dentro de ella a su descendencia por un período bastante largo.

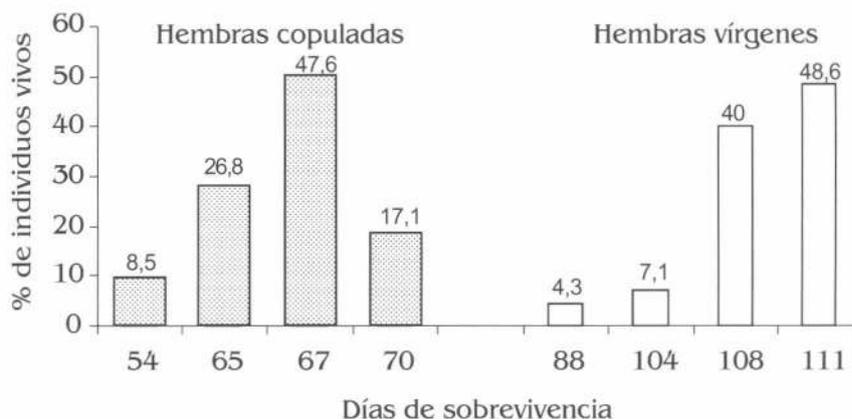


Figura 3. Longevidad de las hembras vírgenes y copuladas de *M. sellnicki*, bajo condiciones de laboratorio.

En dos especies de *Macrodinychus*, Hirschmann (1975), citado por Evans (1992), encontró que se pueden formar de 10 a 30 larvas, en la cavidad del cuerpo de las hembras, anotando que el orificio genital era demasiado pequeño para permitir un nacimiento vivíparo. Los resultados encontrados en el laboratorio de Cenicaña difieren con los hallazgos de Hirschmann, pues al realizar la disección de las hembras grávidas del ácaro se determinó que en promedio una hembra de *M. sellnicki* tiene capacidad para formar 45,1 huevos, con un mínimo de 40 y un máximo de 51 huevos.

Tanto los huevos como las larvas tuvieron un grado semejante de desarrollo y no se detectaron tamaños o estados de desarrollo diferentes. Hirschmann (1975) sugiere que las hembras probablemente depositan simultáneamente las pequeñas larvas activas. Este suceso se sustentó en el laboratorio por el hecho de que cuando se presionó el idiosoma de la hembra con estas características, los individuos ya formados, salieron fácilmente por la apertura genital.

Por otro lado, al reconocer el estado de gravidez de los individuos en condiciones de campo se recuperaron 1.044 ácaros adultos a través de embudos de Berlese. Los resultados de las observaciones se presentan en la tabla 2, que muestra para ambas localidades un número de ácaros similar, con un promedio de 177 en Risaralda y 171 en Cauca. En Risaralda se presentó un mayor número de hembras grávidas, con 38,3 en promedio, mientras que en Cauca el número fue menor, con 16,3 en promedio por muestra de suelo.

En el momento de la colecta algunas hembras presentaron formación de huevos y otras formación de larvas, para un porcentaje de 26,2%. Ninguna de las hembras fue identificada como vieja, es decir aquella que hubiese liberado su descendencia parcial o totalmente.

Esta predominancia de hembras sin descendencia aparente, corresponde a aquellas que aún son vírgenes y a las que están en la etapa inicial de formación de huevos en donde no son aún visibles. El número reducido de hembras con descendencia visible se debe posiblemente a que las hembras apenas liberan su descendencia mueren, y a que bajo las condiciones de campo con una alta infestación, ellas muy rápidamente encuentran los estímulos, que no se lograron proporcionar en el laboratorio, para iniciar la larviposición.

A pesar de que en los ensayos realizados no se logró obtener descendencia, y que por lo cual no se demostró en forma estricta que la ovoviviparidad es la forma de reproducción, hay que aceptar, de acuerdo con las evidencias, que es la forma de nacimiento más probable. Este hecho coincide con la descripción realizada por Akimov y Yastrebtsov (1990), quienes mostraron que este fenómeno es común en especies de parásitos Mesostigmata, en los cuales la hembra produce larvas en lugar de huevos, causando una reducción del número de instares como adaptación al modo de vida parasitario.

Con los resultados obtenidos en los ensayos anteriores no fue posible obtener descendencia en el laboratorio y mientras no

Tabla 2. Recuperación de adultos de *M. sellnicki* a través del embudo Berlese.

Localidad	Promedio/ muestra de suelo			Relación
	Machos	Hembras	Hembras grávidas	
Risaralda	74,3	102,7	38,3	1,4 :1
Cauca	65,7	105,3	16,3	1,6 :1

se identifiquen los requerimientos para dar nacimiento a la descendencia, la cría masiva de *M. sellnicki* es imposible.

Relaciones entre el ácaro y la hormiga

Relación de forosis

En primera instancia, se pensó que la relación entre *M. sellnicki* y la hormiga loca podría ser la de forosis, tal como ocurre en buena parte de especies incluídas dentro de esta familia, como una forma de diseminación, lo que implica adaptaciones a ésta. Tal como se observó no parece haber mecanismos en *M. sellnicki* para tal fin y si existe algún mecanismo de adhesión, tal como lo es la conservación de las patas de la larva, no es adecuado para mantenerse fuertemente adherido a su hospedero. Por otro lado, el estado hospedero de *M. sellnicki* es el de pupa, uno de los que menos tiene capacidad para desplazarse. Por lo tanto, la asociación entre *M. sellnicki* y la hormiga loca no es fundamentalmente de forosis.

Es bien claro que una vez que el ácaro cumple su desarrollo y emerge el adulto, su hospedero muere completamente desecado por la acción del ácaro. Por lo tanto, la relación más probable es la de ectoparasitoide y de aquí en adelante se va a examinar en detalle cómo éste puede llevarse a cabo exitosamente.

Relaciones de parasitismo

Ausencia de locomoción. Ya bien se mencionó que las patas de los estados ninfales sufren una regresión evolutiva y se transforman en unos muñones sin segmentación y por lo tanto no son funcionales. Durante estos estados, y a pesar de la condición mencionada, el ácaro continúa su desarrollo, por lo cual se puede suponer con un buen grado de seguridad que el ácaro se alimenta y necesariamente tiene que hacerlo de la pupa a la cual está pegado. Si bien no está fuertemente adherido como para una condición de forosis, existen mecanismos que le permiten establecer un contacto estable con su hospedero inmóvil. Uno de éstos se da por los restos de los apéndices locomotores larvales con sus respectivas uñas que le permiten al menos inicialmente adherirse al hospedero. Más tarde, como resultado del crecimiento ninfal, el mismo ácaro crea una cavidad en el cuerpo de la pupa parasitada que lo rodea y le permite mantenerse asegurado en dicha posición.

Ubicación de los ácaros. La ubicación se observó como un proceso en el que la larva joven del ácaro no encuentra mayores barreras para llegar a la zona gular de la pupa de la obrera, pues la hormiga no parece detectarlo y por lo tanto puede actuar libremente para luego empezar a alimentarse y crecer. Una larva, eventualmente dos, lo hacen y pueden continuar con éxito su desarrollo sobre una sola pupa. Una vez que una larva se ubica en la zona gular (Fig. 4 A), ninguna otra fue vista contigua.

Cuando se desarrollan dos, una se localiza en un costado y la otra en el otro.

Cuando los ácaros atacan pupas de machos, se observa un número mayor de individuos del ácaro/pupa que el observado en las obreras, pues bajo estas condiciones una sola pupa de macho sirve de hospedante de dos y algunas veces hasta de cinco ácaros, que logran desarrollarse exitosamente. En este caso, se localizan en el tórax del hospedero (Fig. 4 B). Esto ocurrió bajo un número alto de machos en estado pupal.

Los ácaros pueden también atacar a las pupas de la reina, pero esta observación

no fue común considerando que la producción de reinas es escasa además de no ser continua. La ubicación del ácaro en desarrollo sobre la reina es semejante a la situación donde atacan a las pupas de los machos o sea sobre el tórax (Fig. 4 C). Aun cuando la cantidad de pupas de reina atacadas encontradas fue baja, en la mayoría de los casos el número de ácaros por pupa parasitada no fue mayor de dos.

Como resultado del ataque, las pupas de las obreras parasitadas, mueren a medida que madura el ácaro y después de la emergencia del adulto, son descartadas por las obreras que las atienden; las pupas machos, aparentemente tardan un poco más

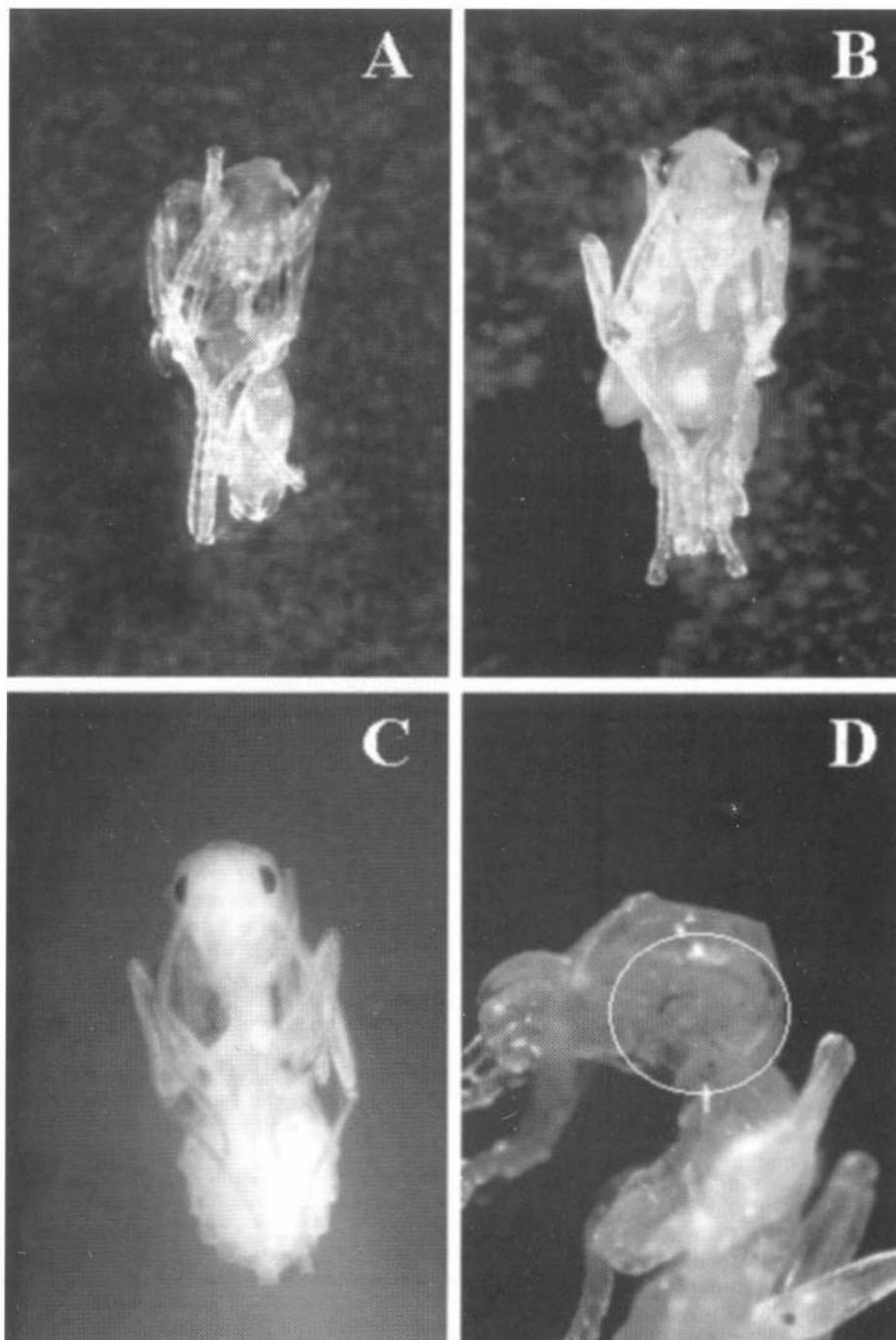


Figura 4. Parasitismo en pupas de la hormiga loca. A: Obrera; B: Macho; C: Reina; D: Huellas de alimentación.

en morir después de la emergencia del ácaro, por lo cual continúan siendo atendidas por hormigas obreras antes de que sean finalmente descartadas. Para el caso de las reinas no se puede afirmar con tanta certeza por cuanto las pocas que se vieron se conservaron en alcohol. Es bien claro que la acción del ácaro es mucho mayor sobre las obreras pues los mayores niveles de parasitismo se dan en éstas.

Por otro lado, cuando el ácaro se alimenta de una pupa de obrera, ésta comienza a mostrar una decoloración de los ojos, y particularmente de aquel correspondiente al lado donde se encuentra el ácaro, como un efecto del parasitismo. En esta casta, en el momento en que eclosionan los adultos de la pupa atacada no queda sino la exuvia vacía; en el caso de las pupas de los machos, a pesar del mayor número de ácaros que se desarrollan sobre un sólo individuo, una vez que éstos se desprenden, las pupas atacadas no adquieren el aspecto de cascarón vacío.

Huellas de alimentación. Sobre las pupas de la hormiga, más precisamente en el sitio de adhesión del ácaro, se encontraron huellas asociadas a la alimentación tanto en las obreras como en los machos, tal como se puede apreciar en la figura 4 C. Las huellas consisten en pequeños puntos de color café oscuro, dispersos en el fondo y al rededor de la cavidad formada por el desarrollo del ácaro.

Variación de los niveles de parasitismo de *M. sellnicki* en condiciones de campo

En información recolectada por Cenicaña, se encontró que *M. sellnicki* no es parásito exclusivo de la hormiga loca. En dos casos, en las haciendas de San Camilo (Incauca) y Piedechinche (Ingenio Providencia) se encontró atacando a pupas de una hormiga perteneciente al género *Solenopsis* (pos. *geminata*). Se debe resaltar que éste no ha sido un hecho frecuente y que en ambas localidades el porcentaje de parasitismo del ácaro en *Solenopsis* con 2,5 y 30% respectivamente, fue menor que el parasitismo en *P. fulva* con 28 y 44%, respectivamente. Esto demuestra que, de todas maneras, *M. sellnicki* tiene un alto grado de preferencia o afinidad con *P. fulva*.

Con base en abundantes observaciones de campo, se ha visto que los niveles de parasitismo del ácaro pueden variar considerablemente, desde bajos hasta el 90% de las pupas parasitadas y por lo tanto, se podría pensar que los niveles de ataque de *M. sellnicki* a la hormiga loca son variables y probablemente se asocian con factores tales como el tiempo de permanencia de la hormiga loca en la zona, a la dinámi-

ca de la población en función de la fenología del cultivo, al efecto climático y al efecto del suelo. Sin embargo, aún queda por realizar un estudio que permita establecer un efecto más directo de estos factores aisladamente y en conjunto.

Es pertinente mencionar que en sitios donde se detectaron por primera vez brotes fuertes de la hormiga loca como en Güepsa (Santander) y La Trozada (Buga-Valle), inicialmente no se presentaron pupas parasitadas por el ácaro, pero muestreos posteriores, realizados años más tarde, indicaron la presencia de *M. sellnicki* en niveles de parasitismo alrededor del 18,4% en Güepsa y del 9,6% en La Trozada. Estos cambios se explican por el hecho de que cuando se presentan brotes exagerados de la hormiga loca sin la presencia de *M. sellnicki*, se está ante una etapa de explosión de la hormiga posterior a la de colonización del sector. Finalmente, el ácaro se hace presente y comienzan a incrementarse los niveles de parasitismo y, por lo tanto, a reducir las poblaciones de la hormiga. Se desconoce hasta el momento cuánto tiempo puede transcurrir antes de que se haga manifiesto el efecto del ácaro.

De acuerdo con lo anterior se puede afirmar que el ácaro se establece en condiciones de campo, pero debido a la dificultad de criarlo en forma masiva, por las razones anteriormente descritas, no se puede proponer por ahora como método de control hacer liberaciones inundativas en las zonas infestadas por la hormiga loca; por lo tanto su uso potencial para controlar a la hormiga en la etapa de explosión poblacional radica en liberaciones inoculativas, acortando el periodo de establecimiento del ácaro para ejercer un control a largo plazo.

Conclusiones

- El ciclo de vida del ácaro *M. sellnicki* sigue el patrón de desarrollo ontogénico pos-embrionario similar al del resto de miembros de la familia Uropodidae, pero se caracteriza por el hecho de que el nacimiento de la progenie es ovovivíparo y de la hembra salen directamente las larvas que son activas y buscan una pupa hospedera para ubicarse sobre ella.
- La protoninfa y la deutoninfa muestran un desarrollo regresivo, particularmente notorio en sus apéndices locomotores, pero activo en sus funciones alimentarias (= trofostasis)
- Un ácaro permanece adherido a una sola pupa de la hormiga a lo largo de su desarrollo y termina por matarla para luego emerger el adulto. Por lo tanto, *M. sellnicki* es un ectoparásitoide que sin ser específico muestra preferencia por la hormiga loca.

• No se logró obtener descendencia de *M. sellnicki*, por lo cual su reproducción masiva no fue posible en condiciones de laboratorio y su uso potencial radica en liberaciones inoculativas con expectativas de control a largo plazo, teniendo en cuenta que el ácaro se establece en condiciones de campo, mostrando capacidad para lograr altos niveles de parasitismo sobre *P. fulva*.

Literatura citada

- AKIMOV, I. A.; YASTREBTSOV, A. V. 1990. Embryonic development of the mite *Spinturnix vespertilionis* (Parasitiformes, Spinturnicidae). *Acarologia* 31: 3-12.
- EVANS, O. 1992. Principles of Acarology. C.A.B. International. University Press, Cambridge. 563 p.
- GÓMEZ, L. A.; LASTRA L., A. 1997. Avances en el manejo de la hormiga loca *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae) en el cultivo de la caña de azúcar. Memorias. IV Congreso Colombiano de la Asociación de Técnicos de la caña de azúcar. p. 121-131. Tomo I. Cali.
- HIRSCHMANN, W. 1975. Die Gattung *Macro-dinychus* (Berlese 1917) und die Untergattung *Monomacrodinychus* novum subgenus (trichouropodini, Uropodinae). *Acarologie, Schriftenreihe für vergleichende Milbenkunde. Gangsystematik der Parasitiformes, Folge* 21 (204): 35-36.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. D. 1990. The Ants. The Belknap Press of Harvard University. Cambridge, M.A. 732 p.
- HUNTER, P.; ROSARIO, R. 1988. Associations of Mesostigmata with other arthropods. *Annual Review Entomology*: 393-417.
- JAFFÉ, K. 1993. El mundo de las hormigas. Editorial Equinoccio. Universidad Simón Bolívar. Maracay, Venezuela. 187 p.
- KRANTZ, G. W. 1978. A Manual of Acarology. Oregon States University Book Stores. Carvallis. 509 p.
- KRANTZ, G. W.; GÓMEZ, L. A.; GONZÁLEZ, V. E. 2002. Parasitism in the Uropodina: a case history from Colombia. *Proc. 11th International Congress of Acarology*. In press.
- PORTER, S. 2000. Host specificity and risk assessment of releasing the decapitating fly *Pseudacteon curvatus* as a classical biocontrol agent for imported fire ants. *Biological Control* 19: 35-47.
- ZENNER-POLANÍA, I. 1990. Biological aspects of the "Hormiga Loca", *Paratrechina (Nylanderia) fulva* (Mayr) in Colombia. p. 290-297. In Vander Meer, R.K., k. Jaffe and A. Cedeno (eds.). *Applied Myrmecology, A World Perspective*. Westview Press, Boulder, CO.

Recibido: Abr. 22/2003

Aceptado: Nov. 09/2003

Observación de la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en soldados *Nasutitermes* sp. (Isoptera: Termitidae)

Observation of the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* in *Nasutitermes* sp. soldiers (Isoptera: Termitidae)

ANA ISABEL GUTIÉRREZ G.¹, YAMILLÉ SILDARRIAGA O.²

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 151-156 (2004)

Resumen. Soldados de la termita *Nasutitermes* sp., plaga del árbol del nogal cafetero *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken de la familia Boraginaceae, de gran importancia económica y médica, se inocularon *in vitro* con el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. a una concentración de 1×10^7 conidios/ml del hongo impregnadas en lonas y papel de filtro. Observaciones del desarrollo de la infección del hongo fueron realizadas con el microscopio de luz. El desarrollo del hongo se observó en placas teñidas con azul de lactofenol, utilizando la técnica de aclaración en soluciones de KOH al 5, 10, 15 y 20%. Las termitas infectadas murieron de 1 a 3 días post-inoculación, el hongo penetrando la cutícula a las 24 h, colonizando el tejido graso a las 72 h e invadiendo los órganos internos (intestino) después de 72 h de la infección. A las 120 h masas compactas de conidióforos empezaron a emerger de la cutícula presentando coloración blanca, ubicándose en las regiones intersegmentales de la superficie ventral (patas, tórax) y partes bucales de los insectos. El micelio se tornó verde a las 144 h de inoculación, y a las 192 h se hizo más oscuro y polvoso, invadiendo totalmente el cuerpo de la termita.

Palabras clave: Patógeno. Hyphomycete. Isoptera. Micosis. Inoculación. Invasión.

Summary. Soldiers of *Nasutitermes* sp., pests of *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken, family Boraginaceae, a tree of great economic and medicinal importance were inoculated *in vitro* with the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. impregnated on canvases or filter paper at a concentration of 1×10^7 conidia/ml. Observations on the development of the fungal infection were made with a light microscope. The development of the fungus was observed on mounted slides with lactofenol blue, using a clarifying technique with KOH solutions at 5, 10, 15 and 20%. Infected termites died 1 to 3 days post-inoculation, the fungus penetrating the cuticle at 24 hours, colonizing the fat tissue at 72 hours and invading the internal organs (gut) after 72 hours of infection. At 120 hours a white compact mass of conidiophores began to emerge from the cuticle at the intersegmental regions of the ventral surface (legs, thorax) and mouthparts of the insects. After 144 hours of inoculation the mycelia changed to green, and at 192 hours the mycelia turned dark and powdery when the termite body was totally invaded.

Key words: Pathogen. Hyphomycete. Isoptera. Mycosis. Inoculation. Invasion.

Introducción

Las termitas se consideran como los insectos más nocivos y destructores en las zonas templadas y tropicales. Atacan la madera, construcciones, plásticos, textiles, cauchos, cultivos agrícolas y forestales (Garcés 1997; Harris 1971).

En el bosque tropical, la mayoría de las termitas que se han encontrado, pertenecen a las familias Kalotermitidae, Rhinotermitidae o Termitidae, de las cuales la subfamilia Nasutitermitinae representa más del 50% de las especies, siendo el género *Nasutitermes* el más abundante (Martius 1994). En Colombia se han registrado las tres familias mencionadas.

Nasutitermes spp., exopterigotas Neoptera son insectos sociales, representados en numerosos obreros y soldados no alados (Watson y Gay 1991; Borrór *et al.* 1989). Ata-

can los árboles del nogal cafetero *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken de la familia Boraginaceae, que son de gran importancia económica y médica (Varón y Morales 1997).

Muchos autores han utilizado diferentes organismos en el control biológico de las termitas, como el virus de la polyhedrosis nuclear de *Spodoptera littoralis* (Hassan 1990), bacterias como *Bacillus thuringiensis* (Gavino 1984; Logan *et al.* 1990), nemátodos de la familia Steinernematidae y del género *Steinernema carpocapsae* (Coppel y Liang 1987; Mix y Beal 1985). Así mismo, han sido probados con notable éxito los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Yendol y Paschke 1965; Zoberi y Grace 1990; Sajap y Kaur 1990; Zoberi 1995; Alves *et al.* 1995; Milner *et al.* 1998; Delate *et al.* 1995).

Los hongos son uno de los agentes más promisorios para el uso como insecticidas

biológicos (Milner y Staples 1996). Entre los hongos probados como agentes de control biológico en termitas están *Aspergillus flavus*, *Entomophthora*, *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. (Espero 1984; Lj[utikova 1990). Además se utilizaron para controlar poblaciones de *Stromatium fulvum* (Villers) (Coleoptera: Cerambycidae) en plantaciones de Casuarina en Egipto (Hassan 1990). Igualmente *M. anisopliae*, *Aspergillus fumigatus*, *Paeecilomyces fumosoroseus* y *P. cicadae* presentaron alta infectividad en termitas *Coptotermes formosanus* (Shiraki) bajo condiciones de laboratorio al aplicar suspensiones acuosas de $6,0 \times 10^7$ conidios/ml a una termita cebo (Chai 1995). *Conidiobolus coronatus* produjo una mortalidad del 100% sobre esta misma especie de termita después de dos días de aplicación (Wells *et al.* 1995). Por otro lado, se comprobó que el ascomycete *Cordy-*

1 Bióloga. Investigador asociado al Grupo de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. E-mail: anaisaguti@hotmail.com

2 Autor para correspondencia: Licenciada en Biología y Química. M. Sc. Profesor de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Colombia. Fax: 2330120. E-mail: ysaldar@matematicas.udea.edu.co

cepioideus es patógeno para las termitas *Macrotermes subhyalinus* (Rambur) que construyen montículos en Kenya (Ochiel *et al.* 1997).

Estudios en Australia demostraron que ciertos aislamientos de *M. anisopliae* pueden ser aplicados para matar colonias de termitas en termiteros, árboles y montículos. El método consiste en capturar termitas, infestarlas con el patógeno y reintroducirlas al termitero para iniciar el contagio entre ellas (Milner y Staples 1996; Berón 1983). Ensayos *in vitro* para probar la patogenicidad de este hongo en termitas *Microcerotermes* en diferentes concentraciones demostraron que produce una mortalidad del 51% a una concentración de 1×10^7 conidios/ml y del 80-100% por encima de dicha concentración (Zuluaga 2002).

M. anisopliae (Metsch.) Sor. es un hongo anamórfico (Kirk *et al.* 2001) aislado del escarabajo *Anisoplia austriaca* por Metchnikoff en 1879 y produce la muscardina verde en los insectos, por lo cual dicho hongo ha sido utilizado como agente microbiano contra insectos plaga (Tanada y Kaya 1993; Zimmermann, 1993; Steinhilber 1949). Es un hongo cosmopolita, saprófito, parásito de insectos, con un amplio rango de hospederos, que puede identificarse fácilmente por sus conidios ramificados y por sus conidios cilíndricos verdes, los cuales forman una capa densa y compacta. En el inicio del crecimiento las colonias presentan una coloración blanca y las colonias maduras se tornan amarillentas, verde oliváceas, verde oscuras y crema rosáceas o vináceas (Humber 1997; Tanada y Kaya 1993; Barnett 1967).

M. anisopliae posee dos variedades que se diferencian principalmente por el tamaño de sus conidios: la variedad más común *anisopliae* de conidios pequeños (3,5-9,0 μm) y la variedad *major* de conidios grandes (9,0-18 μm) (Kirk *et al.* 2001; Domsch *et al.* 1980). Este hongo crece fácilmente en medios sintéticos sólidos y líquidos, su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 25-30°C y sus conidios pueden sobrevivir liofilizados hasta por 16 años (Tanada y Kaya 1993; Samson 1981; Steinhilber 1949). Produce metabolitos secundarios como destruxinas A, B, C, D, E y una desmetildestruuxina B, los cuales son tóxicos y actúan como micotoxinas. Su toxicidad se da por la ingestión y a través del integumento y su efecto varía según la especie de insecto atacado, pudiendo causar parálisis tetánica y flácida *in vivo*, despolarizando membranas musculares al activar los canales de calcio; afecta varias organelas celulares (mitocondrias, retículos endoplasmáticos y membranas nucleares), paraliza células y causa disfunción del intestino medio, los túbulos de malpígio y los hemocitos. También ejercen una acción inmunodepresora en el insecto e inhiben la encapsulación multicelular del hongo (Aldana 1998; Tanada y Kaya 1993; Burges y Hussey 1971).

Entre los mecanismos de invasión de los hongos entomopatógenos están el de ingestión y el de contacto a través de la cutícula, siendo el más frecuente el de contacto. En éste, el hongo penetra la cutícula del insecto y llega al hemocele, donde libera una serie de metabolitos tóxicos que inhiben el sistema inmune del insecto, el cual finalmente muere debido a los daños mecánicos y fisiológicos sufridos (Boucias y Pendland 1988, 1991; Tanada y Kaya 1993; Aldana 1998). Por ingestión, el hongo ingresa por las partes bucales y el intestino, siendo estos canales alimentarios inhospitalarios a la penetración del hongo debido a los efectos de anaerobiosis, enzimas digestivas, pH adverso, velocidad del alimento y el papel protector de la membrana peritrofica (Dillon y Charnley 1986).

La ontogenia del hongo *M. anisopliae* se observó mediante estudios histológicos en obreros de *Coptotermes curvignathus* Holmgr. en Malasia (Sajap y Kaur 1990). Igualmente se realizaron estudios de infección bucal y a través del tracto digestivo por el hongo *M. anisopliae* de la langosta *Schistocerca gregaria* Forsk (Dillon y Charnley 1986).

El objetivo de este estudio fue evaluar el mecanismo de acción de *M. anisopliae* sobre los soldados y obreros de *Nasutitermes* sp. mediante la técnica de aclaramiento con hidróxido de potasio.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Se realizaron cuatro colecciones de termitas en la quebrada la Volcana (Loma de los Balsos) sector del Poblado al sures-te de Medellín, Antioquia (Colombia) caracterizada por presentar una zona de vida clasificada como bosque húmedo premontano (bh-P) con temperatura promedio de 20°C, precipitación media anual de 1.000-2.000 mm y una faja altitudinal de 1.450 msnm (Espinal 1990).

Colección y mantenimiento de las termitas

Las termitas *Nasutitermes* sp. se colectaron en un tronco de un árbol que pertenece al género *Cordia* (Familia: Boraginaceae). Se capturaron termitas de diferentes castas (soldados y obreros) realizando incisiones en el termitero y/o colectando trozos de madera del árbol. Las termitas se introdujeron, utilizando pincel, en recipientes plásticos o de vidrio a los cuales previamente se les adicionaron los sustratos provenientes del termitero y se cubrieron con vinilpel durante el transporte hacia el laboratorio.

Para la reproducción en el laboratorio se utilizaron recipientes de fibra de vidrio moldeado de 20 x 25 cm de diámetro; a los recipientes se les agregó una capa de grava gruesa 2 cm de espesor, seguida de una capa de grava fina del mismo espesor, finalmente una capa de 10 cm de tierra del mismo termitero con arena fina (25% en

volumen) (Norme Française 1990). Estos recipientes se cubrieron con muselina; los bordes del recipiente se impregnaron con vaselina para evitar el escape de las termitas.

Las colonias se mantuvieron en oscuridad, con circulación de aire y a una temperatura de 26°C \pm 2°C y 75% de humedad relativa. La humedad de la tierra, la temperatura y la humedad relativa dentro del termitero se controlaron diariamente (Norme Française 1990).

Cultivo del hongo

La cepa del hongo *M. anisopliae* (Ma 45), aislada de un coleóptero (de una subfamilia de la familia Melolonthidae) fue donada por CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). El hongo se cultivó en tubos y cajas de Petri con medio Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) (Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, England) a temperatura ambiente (21-26°C), durante 10-12 días y se almacenó a 4°C. La cepa se replicó cada quince días en SDA y se observaron los conidios y el micelio al microscopio (Aldana 1998; Zoberi y Grace 1990).

Pruebas de patogenicidad

Para las pruebas de patogenicidad se utilizaron más termitas soldados que obreros por ser la casta más numerosa dentro de la colonia estudiada. A partir de una solución madre de conidios obtenida de los cultivos del hongo se impregnaron durante 5 min, 10 lonas y 10 papeles de filtro circulares de 100 x 15 mm con una concentración de 1×10^7 conidios/ml. Las lonas y los papeles de filtro impregnados se introdujeron en frascos medianos que contenían sustrato proveniente del termitero y se adicionaron 5 termitas soldados (de 4 mm) y un obrero (de 3 mm de longitud) y se cubrieron con muselina. La supervivencia de las termitas se verificó diariamente durante ocho días. Como testigos se utilizaron lona y papel de filtro impregnados con agua destilada estéril. Estos ensayos se realizaron por triplicado.

Durante los ensayos se controlaron diariamente las condiciones de oscuridad, temperatura y humedad relativa y se verificó la actividad de las termitas.

En total, en los ensayos, se utilizaron 150 termitas soldados con el inóculo impregnado en el papel de filtro, 150 con el inóculo impregnado en lonas y 100 en cada testigo. Se trataron 30 obreros en cada inóculo y 10 en cada testigo.

Para observar la penetración del hongo en el insecto, se realizó la técnica de aclaramiento de la termita descrita por Stehr (1987), utilizando soluciones de KOH al 5, 10, 15 y 20% a diferentes tiempos (24, 48 y 72 h) de exposición. Luego, los insectos se sumergieron en una solución agua: alcohol (1:3v/v) y después en fenol puro. Posteriormente, se realizaron preparaciones del insecto en portaobjetos que se tiñeron con azul de lactofenol para obser-

var hifas y esporas en las partes internas del cuerpo de la termita.

Micosis

Para evaluar el desarrollo del hongo y la presencia de daños en las termitas se colocaron los soldados muertos y obreros, en cajas de Petri estériles, con papel de filtro Whatman N° 1 húmedo, estéril y se observó la aparición de micelio durante ocho días.

Análisis estadístico

La mortalidad para los cuatro tratamientos (hongo en papel de filtro y en lona y agua destilada en papel de filtro y en lona) se comparó en cada día utilizando la prueba de homogeneidad de proporciones, la cual se realizó en el paquete estadístico Statxact 4.0.1 (Cytel Software Corporation, Cambridge, Ma).

Resultados y Discusión

El porcentaje de mortalidad de los soldados fue diferente tanto entre los tratamientos como entre los días. En efecto, la mortalidad en el primer día fue mayor cuando se usó agua destilada en papel de filtro (46%). En el segundo día la mortalidad mayor (82%) se presentó empleando el papel de filtro impregnado con el *Metarhizium anisopliae* mientras que la lona con el hongo resultó eficaz sólo al tercer día (Tabla 1). En la tabla 2 se presentan los porcentajes de mortalidad para los obreros. No se encontraron diferencias entre tratamientos en ninguno de los tres días. Se observó también que el porcentaje mayor de mortalidad ocurrió en el segun-

do día para todos los tratamientos. La comparación entre tratamientos se realizó para cada día, tanto para los soldados como para los obreros, según la metodología de Snedecor y Cochran 1978.

Las termitas obreros y soldados presentaron mortalidad al segundo día debido a la acción del hongo *M. anisopliae*, que se observó mediante la técnica de aclaración en KOH (10 y 15%) dentro el cuerpo de éstos, resultados que concuerdan con los estudios realizados por Sajap y kajur (1990); Milner *et al.* (1998) y Delate *et al.* (1995). Igualmente, los testigos presentaron mortalidad debido a factores como: la fragilidad natural (no permite ser sometidos a técnicas de asepsia en el laboratorio antes de los bioensayos) y a contaminantes naturales como *Aspergillus flavus* y *Serratia marcescens* (entomopatógenos) que habitan en su mismo nicho ecológico (Steinhaus 1949; Tanada y Kaya 1995; Martius 1998). Así mismo, los testigos se sometieron a la técnica de aclaración en KOH (10 y 15%) y no mostraron invasión en sus tejidos por el hongo *M. anisopliae*.

En cuanto a la forma de invasión del hongo *M. anisopliae* en las termitas, a las 24 h post-inóculo los conidios se observaron sobre la cutícula, superpuestos y estrechamente unidos a las setas y poros de las setas (Fig. 1), en las patas, en el fémur y tibia; tibia y tarsómeros, uñas tarsales y tergitos abdominales. Luego, éstos formaron tubos germinales continuando su crecimiento. Esto concuerda con los estudios realizados por Boucias y Pendland (1988) con *M. anisopliae* y *B. bassiana* donde se

demonstró que la topografía y propiedades químicas de la epicutícula facilitan la adhesión conidial y la orientación del tubo germinal, encontrando que los conidios de estos hongos tienen preferencia por toda la región del cuerpo del insecto y la superficie de la cutícula que contiene espinas cuticulares cortas.

Además, la forma de invasión, iniciando en la cutícula, concuerda con los resultados descritos por Sajap y Kaur (1990) y Quarles y Bucks (1995) quienes realizaron ensayos en termitas *Coptotermes curvignathus* donde los conidios de *M. anisopliae* germinaron sobre la cutícula y el tubo germinal penetró dentro de la cutícula a las 24 h post-inoculación y luego en el exoesqueleto.

La interacción conidio-cutícula (unión de los carbohidratos del hongo *M. anisopliae* y las proteínas de la cutícula del insecto) no ha sido totalmente esclarecida (Latge *et al.* 1988).

Los tubos germinales formados por micopatógenos en artrópodos producen células apresoriales que secretan sustancias mucilaginosas y exoenzimas que ayudan a la penetración del hongo a través de la cutícula del insecto (Zacharuk (1970b); Schabel (1978); Travland (1979); Fargues (1984); Charnley (1984); Persson *et al.* 1984; St. Leger *et al.* 1986; Murrin y Nolan (1987); St. Leger *et al.* (1989a y b); sin embargo, dicha estructura no se observó en este estudio.

McCauley *et al.* (1968) y Zacharuk (1970a) observaron que los conidios de *M.*

Tabla 1. Mortalidad de los soldados *Nasutitermes* sp. con el hongo *Metarhizium anisopliae* según el tratamiento aplicado (porcentaje)

Tiempo (Días)	Hongo en papel de filtro (N = 150) %	% de mortalidad acumulada	Hongo en lona (N = 150)	% de mortalidad acumulada	Testigo en papel de filtro (N = 100)	% de mortalidad acumulada	Testigo en lona (N = 100)	% de mortalidad acumulada	Probabilidad (P)
1	17,3	17,3	6	6	46	46	12	12	< 0,001
2	82,0	99,3	34	40	54	100	64	76	< 0,001
3	0,7	100	60	100	0	100	24	100	< 0,001

Tabla 2. Mortalidad de los obreros *Nasutitermes* sp. con el hongo *Metarhizium anisopliae* según el tratamiento aplicado (porcentaje)

Tiempo (Días)	Hongo en papel de filtro (N = 150) %	% de mortalidad acumulada	Hongo en lona (N = 150)	% de mortalidad acumulada	Testigo en papel de filtro (N = 100)	% de mortalidad acumulada	Testigo en lona (N = 100)	% de mortalidad acumulada	Probabilidad (P)
1	30,0	30,0	10,0	10,0	0	0	10	10	0,10
2	63,3	93,3	53,3	63,3	90	90	60	70	0,65
3	6,7	100	36,7	100	10	100	30	100	0,06

anisopliae se pueden unir a toda la superficie cuticular, remover fácilmente y permanecer unidos a la epicutícula asociada con pliegues protegidos. Sólo algunos micopatógenos terrestres reconocen específicamente la cutícula hospedante. Además, se encontró que los conidios de un linaje de *M. anisopliae* aislados del Scarabaeido (Scarab) *Cetonia aurata* se unen fácilmente a la cutícula de *C. aurata*, pero no a las larvas del Scarab *Oryctes rhinoceros* (Fargues 1984). En este estudio se observó claramente que los conidios de *M. anisopliae* se unen a la cutícula de *Nasutitermes* sp. (Fig. 1).

Una vez que los conidios llegan al interior de la cavidad del cuerpo, el hongo crece y mata el insecto. Aunque se ha observado que a las 48 h post-inoculación los cuerpos hifales son abundantes en el hemocele de las termitas, en las placas aclaradas con KOH y teñidas con azul de lactofenol, no se encontraron hifas en el hemocele debido a que la técnica de aclaramiento con KOH no permitió observar la invasión del hongo en el hemocele y a las 72 h de la infección se detectaron hifas invadiendo principalmente el tejido graso (Fig. 2) e intestino (Fig. 3), continuando hacia los tejidos musculares, nervioso y aparato digestivo, mostrando una invasión fúngica en todos los órganos de la termita *Nasutitermes* sp. Observaciones que concuerdan con los resultados obtenidos por Sajap y Kaur (1990) y Tanada y Kaya (1993) en las termitas *C. curvignathus*, donde el hongo *M. anisopliae* invadió extensivamente el tejido graso, los tejidos musculares e intestino en el período comprendido entre 60-72 h después de la infección.

Aunque las termitas *Nasutitermes* sp. murieron entre 1-3 días después de la inoculación del hongo entomopatógeno, no se observó el micelio emergiendo de la

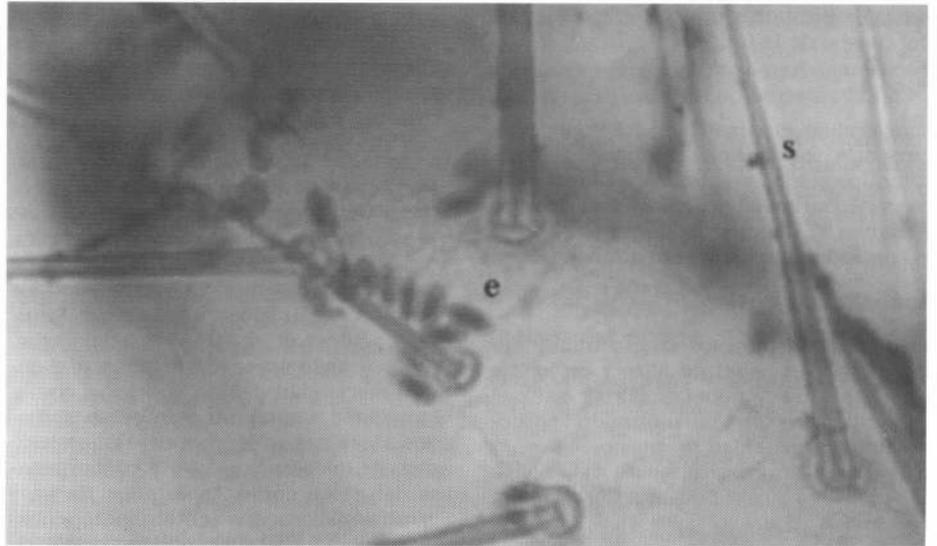


Figura 1. Esporas de *M. anisopliae* sobre la cutícula de soldados *Nasutitermes* sp. e: esporas. s: setas. 100X.

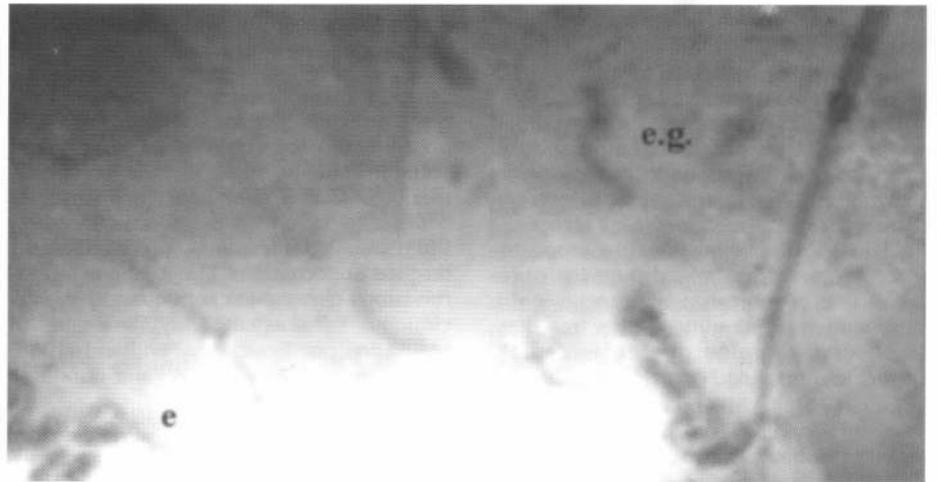


Figura 2. Esporas germinadas de *M. anisopliae* invadiendo el tejido graso de soldados *Nasutitermes* sp. e: esporas. eg: espora germinada. 100X.



Figura 3. Hifa de *M. anisopliae* invadiendo el intestino de soldados *Nasutitermes* sp. i: intestino. h: hifa. 100X.

cutícula del insecto hasta 96 h post-inoculación (Fig. 4a), lo que concuerda con los resultados obtenidos por Sajap y Kaur (1990) en *C. curvignathus* en los que la emergencia del micelio se presentó a las 100 h post infección.

En este estudio se logró la infección de soldados termitas adultos que tienen cuerpos esclerotizados (Fig. 4b), los cuales ofrecen cierta resistencia hacia la acción fúngica ya que la cutícula melanizada es relativamente resistente al ataque enzimático por hongos (Charnley y St. Leger 1991). Los hongos usualmente causan mortalidades por uno de los siguientes aspectos: deficiencia nutricional, invasión y destrucción de tejidos (que puede ser antes o después de la muerte del insecto) y liberación de toxinas (Tanada y Kaya 1993).

La micosis se evaluó durante ocho días después de la inoculación del hongo *M. anisopliae*. El micelio en el cuerpo de la termita tomó coloraciones desde blanca hasta verde oliva claro, verde oliva oscuro con tin-

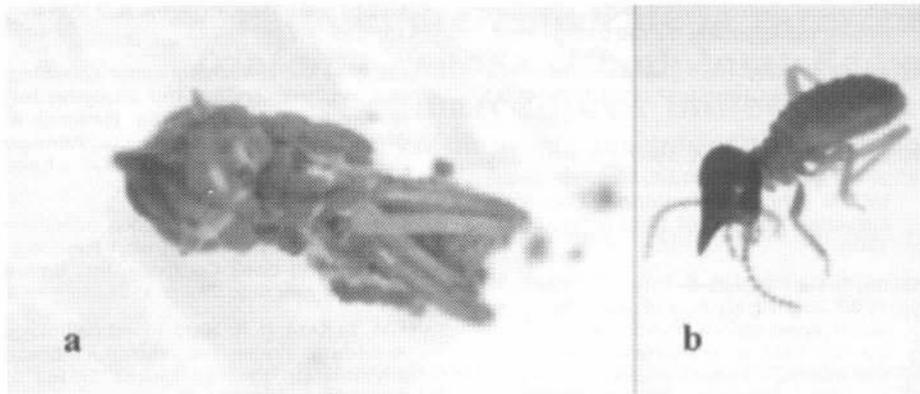


Figura 4. a. Un cadáver de soldado de *Nasutitermes* sp. completamente cubierto con conidióforos llevando conidios. b. Termita sana. 10X.

tes grisáceos hasta verde oscuro, con un aspecto algodonoso al inicio del crecimiento hasta polvoso en la fase final. A las 96 h se observó micelio en forma de filamentos hialinos sobre la parte ventral del tórax y sobre las patas. A las 120 h las termitas presentaron un micelio blanco en forma de hilos transparentes ocupando todo el cuerpo de la termita. El hongo se encontró invadiendo la superficie ventral de la cabeza (gulaentón, prementón, ligula, palpos labiales; maxilas: galea, lacinia, palpos maxilares y mandíbulas). El micelio se observó de una coloración blanca con un aspecto algodonoso en la cabeza (gena y postgena), en forma de un escudo en la cervix, en la parte posterior del protórax, dorso-pleura, prosternum, mesosternum y metasternum, y en las articulaciones de las patas anteriores, medias y posteriores (articulaciones entre fémur y tibia, tibia y tarsómeros y uñas tarsales). El hongo no se encontró invadiendo la termita dorsalmente; solamente se observó micelio blanco en uno de los tergitos abdominales posteriores en la membrana intersegmental.

A las 144 h de la inoculación, el micelio blanco se tornó de color verde ocupando las mismas partes que se mencionaron anteriormente y el nasuto empezó a cubrirse de micelio en su parte apical. A las 168 h, la superficie dorsal del cuerpo de la termita se cubrió totalmente de un micelio hialino y en los tergitos abdominales posteriores se encontró micelio blanco. El micelio verde empezó a tomar una coloración verde oliva que proliferó en partes bucales, superficies dorso y ventro-laterales del tórax y en las articulaciones de las patas. A las 192 h el micelio verde se tornó más oscuro pero de consistencia polvosa e inició la invasión de la cabeza (piezas bucales, genas, postgenas), prosternum, mesosternum, metasternum y patas. El hongo llenó los tergitos torácicos y comenzó a cubrir los tergitos abdominales posteriores. Finalmente, la termita quedó invadida totalmente por el hongo.

Conclusión

• El mecanismo de invasión del hongo *M. anisopliae* en la termita *Nasutitermes* sp.

es vía integumentaria, iniciándose con la adherencia de la espora a la cutícula, la penetración al intestino y al tejido graso conllevando a la muerte del insecto y su posterior esporulación.

Agradecimientos

Los autores expresan los más sinceros agradecimientos al profesor Jaime Calle por la revisión y corrección del manuscrito, a los profesores Constantino Mantilla, Sandra Uribe S., Fabio Pineda G., José Rincón, Luis Carlos Mejía, Abel Díaz C. y a los compañeros del laboratorio de Micología y Microbiología del Instituto de Biología y del Pos-grado de Entomología de la Universidad Nacional Sede Medellín que contribuyeron a la ejecución de este trabajo. También al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), al Instituto de Biología Universidad de Antioquia y a la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín por la financiación y apoyo a este trabajo.

Literatura citada

ALDANA, R. 1998. Evaluación de polimorfismo genético y de la producción de toxinas en cuatro aislados del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. Posgrado Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Biología. Universidad de Antioquia. 44 p.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO, A.; STIMATIC, J. L.; PEREIRA, R. M. 1995. Uso de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de *Cornitermes cumulans* em pastagens. Ecosistema Faculdade de Agronomia "Manoel Carlos Goncalves". Brasil. 20: 50-57.

BARNETT, H. L. 1967. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis (U.S.A.). 225 p.

BERÓN W. C. 1983. Daños y control de termitas. Seminario como trabajo de investigación. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 68 p.

BORROR, D. J.; TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. 1989. An introduction to the study of insects. p. 234-241. Saunders College Publishing, 6 ed. Fort Worth, United States of America. 875 p.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. 1988. Non specific factors involved in the attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. Applied and Environmental Microbiology 54 (7): 1795-1805.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticle: The initial event of mycoses in arthropods hosts. p 101-127. En: G. T. Cole and Harvey C. Hoch (eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press. New York - London. 555 p.

BURGÉS, H. D.; HUSSEY, N. W. 1971. Microbial control of insects and mites. Academic Press. Great Britain. p. 398-401. 861 p.

CHAI, Y. Q. 1995. Preliminary studies on the pathogenicity of some entomogenous fungi to *Coptotermes formosanus*. Chinese Journal of Biological Control 11 (2): 68-69.

CHARNLEY A. K. 1984. Physiological aspects of pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. En: Anderson J. M., Rayner A. D. M., Walton D. (eds.). Invertebrate: Microbial Interactions, British Mycological Symposium. University Press, Cambridge. 6: 229-271.

CHARNLEY A. K.; ST. LEGER R. J. 1991. The role of cuticle-degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. p. 267-283. En: G. T. Cole and Harvey C. Hoch (eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press. New York-London.

COPPEL, H. C.; LIANG, M. C. 1987. Rhabditoid nematodes associated with subterranean termites. Forestry Research Notes. USA. Nº 274, 5 p.

DELATE, K. M.; GRACE, J. K.; TOME C. H. M. 1995. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Applied Entomology 119 (6): 429-433.

DILLON R. J.; CHARNLEY, A. K. 1986. Invasion of the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* through the guts of germ-free desert locust, *Schistocerca gregaria*. Mycopathologia 96: 59-66.

DILLON, R. J.; CHARNLEY, A. K. 1991. The fate of fungal spores in the insects gut. p. 129-156. En: G. T. Cole and Harvey C. Hoch (eds.). The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press. New York- London. 555 p.

DOMSCH, K. H.; GAM, W. AND. ANDERSON, T.-H. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press. Vol 1. 859 p.

ESPERO, L. V. 1984. Survey of entomogenous fungi associated with termites (Philippines). Scientific Journal 6 (1): 23-24.

ESPINAL, L. S. 1990. Zonas de Vida de Colombia. Universidad Nacional de Colombia Seccional Medellín. Facultad de Ciencias. Departamento de Ciencias p. 61-62. 121 p.

FARGUES, J. 1984. Adhesion of the fungal spore to the insect cuticle in relation to pathogenicity. p. 90-110. En: Infection Processes of fungus (D. W. Roberts and J. R. Aist, (ed.). Rockefeller Foundation Conference Report.

- GAO, D. R.; ZHU, B. Z.; GAN, B. R.; HE., S. S.; YUAN, S. X. 1985. A new toxic bait for the control of forest-infecting termites. *Journal of the Nanjing Institute of Forestry*. China 3: 128-131.
- GARCÉS, J. E. 1997. Generalidades sobre las principales plagas insectiles en plantaciones forestales de Colombia (Guía de campo). Trabajo Final de Especialización. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias y Ciencias Agropecuarias. Pos-grado en Entomología. Medellín, p. 293-311.
- GAVINO, A. A. 1984. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillie, biochem product) as biological insecticide against subterranean termites Philippines. *Scientific Journal* 6 (1): 25.
- HARRIS, W. V. 1971. Termites. Their recognition and control. Longman. Second ed. London, Great Britain. 186 p.
- HASSAN, F. A. 1990. Important insects pests of Casuarina in Egypt. p. 102-109. En: *Advances in casuarina research and utilization*. Proceedings of the Second International Casuarina Workshop. Cairo, Egipto.
- HUMBER, R. A. 1997. Fungi Identification. p. 153-185. En: L. Lacey (ed.). *Manual of techniques in insect pathology*. USDA, ARS, Academic Press (Great Britain).
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C AND J. A. STALPERS. 2001. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi*. Edited Cabi Publishing. 624 p.
- LATGE, J. P.; MONSIGNY, M.; PROVOST, M. C. 1988. Visualization of exocellular lectins in the entomopathogenic fungus *Conidobolus obscurus*. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 36: 1419-1424.
- LJUTIKOVA, L. I. 1990. Entomogenous fungi as control agents for termite *Anacanthotermes ahngerianus* Jacobs (Isoptera, Hodotermitidae). p. 634-635. En: G.K. Veeresh; B. Mallick; C.A. Viraktamath (eds.). *Social insects and the environment*.
- LOGAN, J. W. M.; COWIE, R. H.; WOOD, T. G. 1990. Termite (Isoptera) control in agriculture and forestry by non-chemical methods: a review. *Bulletin of Entomological Research* 80 (3): 309-330.
- MCCAULEY, V. J. E.; ZACHARUK, R.Y.; TINLINE, R.D. 1968. Histopathology of green muscardine in larvae of four species of Elateridae (Coleoptera). *Journal of Invertebrate Pathology* 12: 444-459.
- MARTIUS, C. 1994. Diversity and ecology of termites in Amazonian forest. *Pedobiologia* 3 (5): 407-428.
- MARTIUS, C. 1998. Perspectivas do controle biológico de cupins (Insecta: Isoptera). *Revista Brasileira de Entomologia* 41: (2-4): 179-194.
- MILNER, R. J.; STAPLES, J. A. 1996. Biological control of termites: results and experiences within a CSIRO project in Australia. *Biocontrol Science and Technology* 6 (1): 3-9.
- MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; LUTTON, G. G. 1998. The selection of an isolate of the Hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia. *Biological control: theory and applications in pest management* 11 (3): 240-247.
- MIX, J.; BEAL, R. H. 1985. Can nematodes halt subterranean termites?. *Pest Control* 53 (2): 22-23.
- MURRIN, F.; NOLAN, R. A. 1987. Ultrastructure of the infection of spruce budworm larvae by the fungus *Entomophaga aulicae*. *Canadian Journal of Botany* 65: 1694-1706.
- MYLES, T. G.; STRACK, B. H.; FORSCHLER, B. 1998. Distribution and abundance of *Antennopsis gallica* (Hyphomycete: Gloeohaustoriales), an ectoparasitic fungus, on the eastern subterranean termite in Canada. *Journal of Invertebrate Pathology* 72 (2): 132-137.
- NORME FRANÇAISE N. F. 1990. Détermination de l'efficacité préventive contre *Reticulitermes santonensis* de Feytaud (Méthode de laboratoire). *European Standard Comité European de Normalisation*. 15 p.
- OCHIEL, G. S.; EVANS, H. C.; EILENBERG, J. 1997. *Cordycepioideus*, a pathogen of termites in Kenya. *Mycologist* 11 (1): 7-9.
- PEARCE, M. J. 1999. *Termites and Pest management*. Cab International. Printed and bound in the UK at the University Press, Cambridge p. 127-137.
- PERSSON, M.; HALL, L.; SODERHALL, K. 1984. Comparison of peptidase activity in some fungi pathogenic to arthropods. *Journal of Invertebrate Pathology* 44: 342-348.
- QUARLES, W.; BUCKS, C. 1995. Non toxic termite treatments (include related articles). *Organic Gardening*. Dec: 44-50.
- SAJAP, A. S.; KAUR, K. 1990. Histopathology of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus infection in the termite, *Coptotermes curvignathus*. *Pertanika*. Malaysia 13 (3): 331-334.
- SAMSON, R. A. 1981. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. p. 93-105. En: H. D. Burges (ed.). *Microbial control of pests and plant diseases*. 1970-1980. Academic Press Inc. Ltd. London (Great Britain).
- SCHABEL, H. G. 1978. Percutaneous infection of *Hylobius paaes* by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 31: 180-187.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. 1978. *Métodos estadísticos*. Cecca. México. p. 297-302.
- St. LEGER, R. J.; BUTT, T. M.; GOETTEL, M.S.; STAPLE, R. C.; ROBERTS, D. W. 1986. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: Mechanisms of interaction between pathogen enzymes and insect cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology* 47: 295-302.
- St. LEGER, R. J.; BUTT, T. M.; GOETTEL, M.S.; STAPLE, R. C.; ROBERTS, D. W. 1989a. Production in vitro of appressoria by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Experimental Mycology* 13: 274-288.
- St. LEGER, R. J.; BUTT, T. M.; GOETTEL, M.S.; STAPLE, R. C.; ROBERTS, D. W. 1989b. Synthesis of proteins including a cuticle degrading protease during differentiation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*. *Experimental Mycology* 13: 253-262.
- STEH, F. W. 1987. Techniques for collecting, rearing, preserving and studying immature insects. p. 7-18. En: Frederick W. Stehr (ed.). *Immature Insects*. Kendall/Hunt Publishing Company. Dubuque Iowa, U.S.A.
- STEINHAUS, E. A. 1949. *Fungous Infections (Mycoses)*. Principles of Insect Pathology. McGraw-Hill Book Company, Inc. United States of America. 757 p.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. *Insect pathology*. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Javanovich. Printed Unites States of America. p. 359-361.
- TRAVLAND, L. B. 1979. Initiation of infection of mosquito larvae (*Culiseta inornata*) by *Coelomyces psorophorae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 33: 95-105.
- VARÓN, P. T.; MORALES, S. L. 1997. Árboles de Aburrá. Área Metropolitana del Valle de Aburrá. Editorial Colina. Medellín. p 137.
- WATSON, J. A. L.; GAY, F. J. 1991. Isoptera (Termites). p. 330-347. En: *The Insects of Australia*. (ed.) Csiro. Vol II. Cornell University Press. Ithaca, New York.
- WELLS, J. D.; FUXA, J. R.; HENDERSON, G. 1995. Virulence of four fungal pathogens to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Entomological Science* 30 (2): 208-215.
- YENDOL, W. G.; PASCHKE, J. D. 1965. Pathology of an *Entomophthora* infection in the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar). *Journal of Invertebrate Pathology* 7: 414-422.
- ZACHARUK, R. Y. 1970a. Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). I. Dormant and germinating conidia. *Journal of Invertebrate Pathology* 15: 63-80.
- ZACHARUK, R. Y. 1970b. Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). II. Conidial germ tubes and appressoria. *Journal of Invertebrate Pathology* 15: 81-911.
- ZOBERI, M. H. 1995. *Metarhizium anisopliae*, a fungal pathogen of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Mycologia* 87 (3): 354-359.
- ZOBERI, M. H.; GRACE, J. K. 1990. Isolation of the pathogen *Beauveria bassiana* from *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 16 (3): 289-296.
- ZIMMERMANN, G. 1993. The entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide Science Great Britain*. 37: 375-379.
- ZULUAGA, M. P. 2002. *Susceptibilidad de Microcerotermes sp. (Isoptera: Termitidae) a Metarhizium anisopliae (Metsch) Sor. en plantaciones de Eucalyptus tereticornis*. Tesis presentada para obtener el título de Bióloga. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Instituto de Biología. 56 p.

Estudio preliminar de la estructura genética de *Triatoma venosa* (Hemiptera: Reduviidae) mediante marcadores moleculares RAPD

Preliminary study of the genetic structure of *Triatoma venosa* (Hemiptera: Reduviidae) using RAPD molecular markers

CLAUDIA ESPITIA¹, CARLOS JARAMILLO², GERMÁN AGUILERA³, NÉSTOR PINTO⁴, FELIPE GUHL⁵

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 157-160 (2004)

Resumen. *Triatoma venosa* es uno de los principales vectores secundarios de la enfermedad de Chagas en Colombia. Para estudiar su estructura genética se colectaron 30 individuos adultos de *T. venosa* en los municipios de Somondoco (veredas de Cabrera y Barreras), Guateque (veredas de Llano Grande, Tincachoque, y Cantoras) y Sutatenza (veredas de Sisquique, Ovejeras, el Gaque y Piedra Larga), departamento de Boyacá, provenientes de dos hábitats diferentes (peridoméstico y doméstico). El ADN genómico de cada individuo se amplificó por RAPD utilizando 4 iniciadores, los productos se visualizaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 6% teñidos con plata. Al realizar un análisis mediante el programa SYNTAX 2000 y RAPDPLOT se obtuvo un dendrograma donde no se define un cluster para cada población de insectos evaluada. Al analizar la matriz de datos con RAPDFST se obtuvo un *F*_{st} de Wright de 0,047 y de Weir & Cockerham de 0,056. La tasa efectiva de migración en este análisis fue de 5,0 con la metodología de Wright, y de 4,2 con la de Weir & Cockerham. Estos resultados preliminares indican una gran movilidad de los insectos entre los dos hábitats y un elevado flujo genético que no permite el establecimiento de diferenciación genética entre las poblaciones domésticas y peridomésticas analizadas.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas. Triatomino. Insectos vectores. RAPD.

Summary. *Triatoma venosa* is one of the main secondary vectors of Chagas Disease in Colombia. To study its genetic structure, 30 adult individuals of *T. venosa* were collected in the municipalities of Somondoco (villages of Cabrera and Barreras), Guateque (villages of Llano Grande, Tincachoque, and Cantoras) and Sutatenza (villages of Sisquique, Ovejeras, el Gaque and Piedra Larga) department of Boyaca, from two different habitats (peridomestic and domestic). Genomic DNA of each individual was amplified by RAPD using 4 primers; the products were visualized after polyacrilamide gel electrophoresis followed by 6% silver staining. The dendrogram obtained after analysis with SYNTAX 2000 and RAPDPLOT software did not define a cluster for each insect population evaluated. When the binary matrix was analyzed with RAPDFST software, the Wright's *F*_{st} was 0,047 and Weir & Cockerham's *F*_{st} was 0,056. The effective migration rate in this analysis was 5,0 under Wright's methodology and 4,2 under Weir & Cockerham's methodology. These preliminary results indicate a high mobility of the insects between the two habitats and a high genetic flow, which do not allow the establishment of genetic differentiation between the domestic and peridomestic populations analyzed.

Key words: Chagas disease. Triatominae. Insect vectors. RAPD.

Introducción

La enfermedad de Chagas fue descrita por primera vez por Carlos Chagas en 1909, es exclusiva del continente americano y es causada por *Trypanosoma cruzi*, un protozoo parásito flagelado transmitido a humanos por insectos triatominos. La distribución geográfica de infecciones humanas por *T. cruzi* se extiende desde México hasta el sur de Argentina, afectando entre 16 a 18 millones de personas, adicionalmente cerca del 25% de la población latinoamericana se encuentra en riesgo de adquirir la enfermedad (WHO 2000). En Colombia se estima que alrededor del 5% de la población está infectada y

cerca del 20% se encuentra bajo riesgo de adquirir la infección (Guhl 2000).

La transmisión de *T. cruzi* se lleva a cabo principalmente por medio de insectos vectores que han mostrado una fuerte estructuración geográfica, la cual puede ser detectada por marcadores morfométricos, citogenéticos e isoenzimáticos (Guhl y Schofield 1996). Adicionalmente, se han empleado marcadores moleculares generados por amplificación azarosa de polimorfismos de ADN que permiten detectar variabilidad genética entre diferentes poblaciones de vectores (Welsh y McClelland 1990; Williams *et al.* 1990).

Harry *et al.* (1998) realizaron una revisión sobre la utilización de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) en entomología y sugirieron que estos marcadores son útiles en estudios de genética poblacional y pueden ser de gran utilidad en programas de control a través de la localización de genes o de regiones importantes en el genoma.

En triatominos, se han realizado algunos estudios utilizando esta técnica, Carlier *et al.* (1996) presentaron unos resultados preliminares sobre el uso de RAPD en la comparación de vectores triatominos intra e interespecíficos, los cuales permitieron una

1 Microbióloga. Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, CIMPAT. E-mail: cl-espit@uniandes.edu.co

2 M. Sc. Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, CIMPAT. E-mail: cjaramil@uniandes.edu.co

3 M. Sc. Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, CIMPAT. E-mail: geragui25@hotmail.com

4 M. Sc. Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, CIMPAT. E-mail: npinto@uniandes.edu.co

5 Autor para Correspondencia: M. Sc. Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, CIMPAT. Carrera 1 No 18ª 10 Bloque A. Fax: 3324540, Tel. 3394949 Ext. 2774. E-mail: fguhl@uniandes.edu.co

separación fácil entre *Triatoma sordida* y *T. infestans*, al igual que poblaciones silvestres y domésticas de *T. infestans*. De la misma manera, Jaramillo *et al.* (2001), usando esta misma técnica molecular, establecieron que no se presentaba flujo genético entre *Rhodnius prolixus* y *R. colombiensis* (domiciliados y silvestres, respectivamente), corroborando de esta manera las diferencias encontradas mediante métodos morfométricos y bioquímicos por Moreno *et al.* (1999). Otras especies de triatomos evaluadas de manera preliminar por esta técnica han sido *T. brasiliensis* (Borges *et al.* 2000) donde se sugiere una heterogeneidad poblacional y *Triatoma dimidiata* (Jaramillo *et al.* 2003) donde se sugiere homogeneidad genética entre las poblaciones domésticas, peridomésticas y silvestres de esta especie.

Estudios como los realizados para *Rhodnius* spp. y *T. dimidiata* evidencian la necesidad de evaluar la estructura genética de otras especies vectores en Colombia, permitiendo entender el comportamiento de sus poblaciones y de esta manera, poder establecer estrategias de control vectorial más eficaces.

En esta investigación se muestran resultados preliminares de la estructura genética de *Triatoma venosa* (Stål), un vector secundario de importancia epidemiológica por su amplia distribución geográfica (Guhl *et al.* 2002) y cuyos hábitos y hospederos son desconocidos. Hasta el momento, *T. venosa* ha sido registrado en forma silvestre en Ecuador (Azuay, Sucumbios, Napo) y en colonias domésticas en Colombia (Boyacá, Santander) (Abad-Franch y Aguilar 2003). Se empleó la técnica RAPD (Williams *et al.* 1990), con el fin de analizar la estructura genética y detectar variabilidad genética de poblaciones domésticas y peridomésticas de esta especie capturadas en el departamento de Boyacá, Colombia, para poder estimar el riesgo epidemiológico que representa la población peridoméstica en la transmisión de la enfermedad de Chagas en Colombia. Este estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical – CIMPAT, Universidad de los Andes, Bogotá – Colombia, en el año 2003.

Materiales y Métodos

Los insectos evaluados se capturaron en dos hábitat diferentes: en gallineros localizados fuera de las viviendas habitadas o hábitat peridoméstico (15 individuos) y dentro de las viviendas o domicilio (15 individuos), para un total de 30 individuos adultos provenientes del departamento de Boyacá, en los municipios de Somondoco (veredas de Cabrera y Barreras), Guateque (veredas de llano grande, Tincachoque, y Cantoras) y Sutatenza (veredas de Sisquique, Ovejeras, el Gaque y Piedra Larga), localizados alrededor de los 1.700 msnm.

El procedimiento de extracción de ADN genómico total se realizó mediante la maceración de las seis patas de cada indivi-

duo, previamente lavadas con hipoclorito para evitar contaminación con ADN foráneo, seguida de una purificación mediante el kit Aqua Pure para el aislamiento de ADN a partir de tejidos de BIO-RAD®. El ADN se almacenó a -20°C hasta el momento de su análisis. Se empleó el kit Ready To Go RAPD de Amersham Pharmacia®, rehidratando cada perla con 19 µl de agua destilada y agregando 25 pmol de iniciador (5 µl). Posteriormente, se dividió el contenido en cuatro tubos, a cada uno de los cuales se le agregaron 2 µl de ADN templado, para un volumen final de reacción de 8 µl. El perfil térmico utilizado consistió en: un paso inicial de denaturación a 95°C por 5 minutos, seguido de 44 ciclos de 95°C por 1 min, 36°C por 1 min, 72°C por 2 min y un paso final de elongación a 72°C por 7 min.

Se analizaron 15 individuos peridomésticos y 15 individuos domésticos con los iniciadores RTG 2, 3, 4 y 5 de Pharmacia® (Tabla 1), que permitieron obtener un total de 70 marcadores.

La visualización de los productos de RAPD se realizó en geles de poliacrilamida al 6% con un tiempo de corrido electroforético de 3 h a 80 V, los cuales fueron posteriormente teñidos con el kit Silver Stain Plus de Pharmacia® siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante.

Se construyeron matrices binarias de datos de acuerdo con Welsh *et al.* (1992) en donde se representa la información genética colectada para cada individuo. La matriz de datos se analizó con los programas RAPDPLOT (Kambhampati *et al.* 1992) y SYNTAX2000 (Podani 1993), los cuales permiten crear una matriz de distancia empleando el índice de Disimilaridad de Jaccard. Posteriormente, esta matriz fue utilizada para construir un dendrograma mediante el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group with Averaging).

Se empleó el programa de RAPDDIST para establecer las distancias genéticas de Nei (1973) entre poblaciones a partir de una matriz de datos y, posteriormente con la

Tabla 1. Secuencia de los iniciadores RTG de Pharmacia® utilizados en las reacciones de amplificación RAPD

Iniciador RTG	Secuencia
2	5'-d[GTTTCGCTCC]- 3'
3	5'-d[GTAGACCCGT]- 3'
4	5'-d[AAGAGCCCGT]- 3'
5	5'-d[AACGCGCAAC]- 3'

Tabla 2. Valores de Fst y Nm calculados para las poblaciones de *Triatoma venosa* mediante el programa RAPDFST

Metodología	Entre las poblaciones	
Wright (1978)	Fst	0,047
	Nm	5,0
Weir & Cockerham (1984)	Fst	0,056
	Nm	4,2

matriz de distancia, se generó el dendrograma con 1.000 repeticiones.

Resultados

Con los 4 iniciadores empleados, no se observa un patrón de bandeo definido para ninguna de las dos poblaciones estudiadas (Fig. 1), similar a lo señalado en *Triatoma dimidiata* (Jaramillo *et al.* 2003), como sí se pudo establecer previamente para *Rhodnius prolixus* y *R. colombiensis* (Jaramillo *et al.* 2001), donde claramente se definían patrones particulares de polimorfismos mediante la técnica de RAPD para cada especie estudiada.

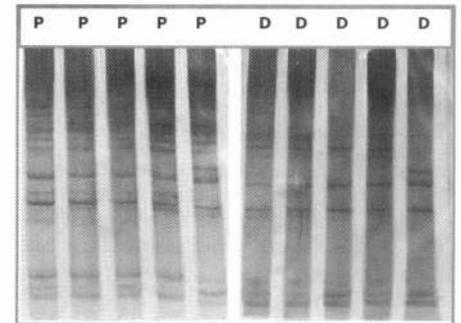


Figura 1. Geles de poliacrilamida al 6% teñidos con el kit Silver Stain Plus de Pharmacia®, donde se visualizan los productos de amplificación por RAPD con el iniciador RTG 5 de Pharmacia®, para cinco individuos peridomésticos (P) y cinco domésticos (D) de *Triatoma venosa*.

Para *T. venosa* se observa una homogeneidad en los patrones de bandeo entre las dos poblaciones evaluadas (Fig. 1), lo que sugiere una poca diferenciación genética entre las dos poblaciones estudiadas de este insecto.

El análisis mediante los programas SYNTAX 2000 y RAPDPLOT generó un dendrograma donde no se define un cluster para cada población de insectos, sino que se ve una distribución mezclada de los individuos de las diferentes poblaciones (Figs. 2-3).

Al realizar el análisis con el programa RAPDFST se calculó el Fst de Wright (1951) y de Weir & Cockerham (1984) (Tabla 2), para las dos poblaciones en conjunto. Con la metodología de Wright y de Weir & Cockerham, el Nm fue suficiente para mantener homogeneidad genética, debido a que al menos un individuo debe migrar por generación. Estos resultados indican una gran movilidad de los insectos.

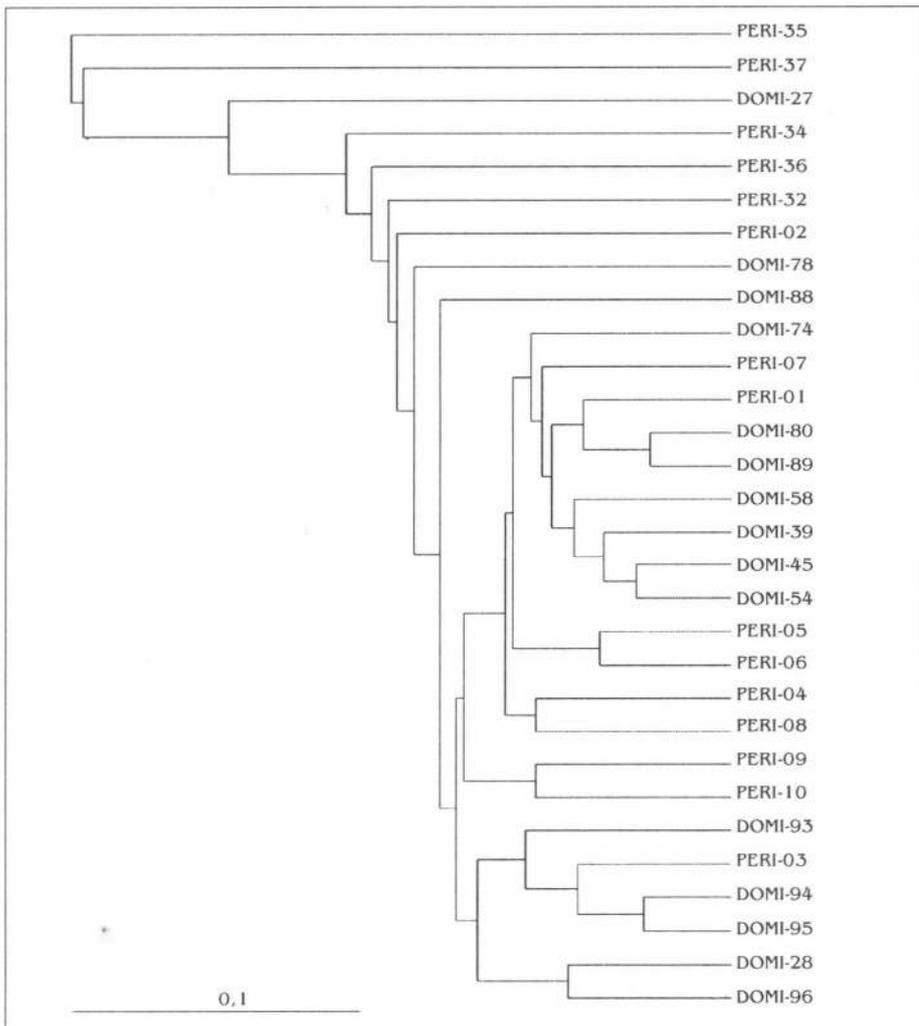


Figura 2. Dendrograma de los individuos de las poblaciones doméstica (DOMI) y peridoméstica (PERI) de *Triatoma venosa* generado con RAPDPLOT, y el método UPGMA, para 70 loci.

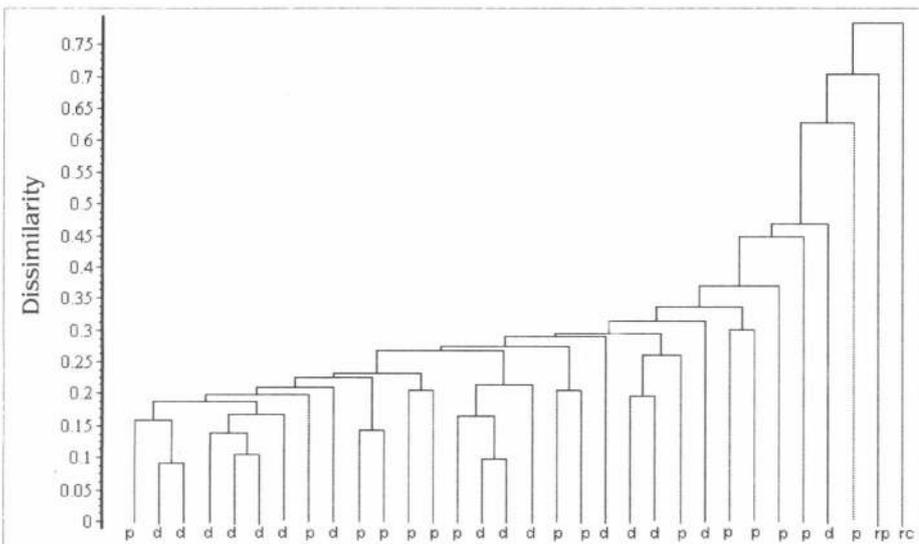


Figura 3. Dendrograma generado con SYNTAX 2000, a partir de 70 marcadores RAPD con los iniciadores 2, 3, 4 y 5 para individuos de *Triatoma venosa* peridomésticos (p) y domésticos (d). Se utilizó un individuo *Rhodnius prolixus* (rp) y un individuo *Rhodnius colombiensis* (rc) como grupos de exclusión.

tos entre los dos ambientes y un elevado flujo genético que no permite el establecimiento de diferenciación genética entre las dos poblaciones evaluadas.

El análisis de los datos con el programa RAPDDIST permitió generar un dendrograma para las dos poblaciones evaluadas (Fig. 4). En este dendrograma no se obser-

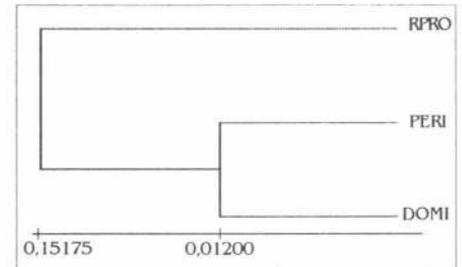


Figura 4. Dendrograma generado con el programa RAPDIST de la distancia genética de Nei y Li (1972), entre las poblaciones peridoméstica y doméstica de *Triatoma venosa*, empleando el método UPGMA y 1.000 repeticiones. Se empleó *Rhodnius prolixus* como grupo de exclusión.

va una diferenciación genética entre la población doméstica y peridoméstica con respecto a los individuos utilizados como grupo de exclusión, dado que el cluster que agrupa a las dos primeras presenta la misma distancia genética, indicando de esta manera la poca diferenciación genética encontrada entre las poblaciones evaluadas de *T. venosa* en este estudio.

Discusión

Los resultados obtenidos a partir de los marcadores moleculares RAPD proveen una base molecular para evaluar las relaciones genéticas entre los triatomíneos (García *et al.* 1998). Esta técnica se ha utilizado ampliamente para analizar el genoma de otros insectos vectores como el vector de la malaria *Anopheles gambiae* (Favia *et al.* 1994), o para identificar poblaciones de *Aedes albopictus* (Kambhupati *et al.* 1992). Jaramillo *et al.* (2001), mediante RAPD, encontraron diferencias entre *Rhodnius prolixus* y *R. colombiensis* lo que llevó a proponer que el control de poblaciones domésticas de *Rhodnius* no se verían influenciadas de manera importante por invasiones silvestres (Guhl y Schofield 1996).

Con los resultados preliminares obtenidos entre las poblaciones de *T. venosa* se sugiere que ocurre un elevado flujo genético entre las mismas, debido a que agrupan en la misma rama del dendrograma (Fig. 4), diferente a lo observado para *Rhodnius prolixus* (de carácter domiciliado) y *R. colombiensis* utilizados como grupos de exclusión en este estudio (Fig. 3), los cuales no presentan flujo genético entre sí (Jaramillo *et al.* 2001).

Adicionalmente, *T. venosa*, aparentemente presenta un flujo genético mayor que el indicado para otras especies como *Rhodnius* (Jaramillo *et al.* 2001), *T. dimidiata* (Jaramillo *et al.* 2003), o para mariposas como *Papilio glaucus* en Ohio, Georgia y Florida donde se registró un Nm de -0,0032 (Bossart y Scriber 1995).

Los valores de Nm obtenidos para *T. venosa* indican una migración significativa de individuos por generación o un potencial de dispersión suficiente para mantener homogeneidad genética, debido a que son

mayores a 1, lo que hace que las frecuencias alélicas permanezcan homogéneas en las poblaciones (Wright 1931). Con los resultados se observa que hay migración de por lo menos 4,2 insectos por generación entre las poblaciones (Tabla 2), lo que contribuiría a mantener homogeneidad genética y a hacer más difícil el control de este vector en la transmisión de la enfermedad de Chagas, en el caso que *T. venosa* se encontrara como un vector eficiente de la transmisión del parásito.

Los valores de *Fst* obtenidos (Tabla 2), indican que hay poca diferenciación entre las poblaciones de *T. venosa*; es decir, que hay un intercambio genético entre las poblaciones evaluadas.

Estos hallazgos son similares a los encontrados para *T. dimidiata* (Jaramillo *et al.* 2003), debido a que las poblaciones no domiciliadas de *T. venosa*, al igual que las poblaciones no domiciliadas de *T. dimidiata*, estarían representando un riesgo epidemiológico en la transmisión de la enfermedad de Chagas.

Dentro del marco del programa nacional de control y eliminación de la enfermedad de Chagas en Colombia, estudios como éste contribuyen en el entendimiento del comportamiento de especies de triatomíneos de importancia secundaria que pueden tener la capacidad de invadir viviendas rurales, siguiendo de esta manera las recomendaciones hechas por Schofield *et al.* (1999).

La relevancia de *T. venosa* en la transmisión de la enfermedad de Chagas es desconocida hasta el momento, ya que no hay estudios que indiquen una tasa de infección por tripanosomas, pero, dado el elevado flujo genético que sugieren los resultados de este estudio preliminar, podría ser un vector potencial de difícil control.

Conclusiones

- Con el número de individuos evaluados, no se encuentra una divergencia genética elevada entre las poblaciones de *T. venosa*.
- Mediante la técnica de RAPD no se obtuvieron patrones de bandedo que permitirían diferenciar las poblaciones doméstica y peridoméstica de *T. venosa*.
- El índice de fijación (*Fst*) y la tasa efectiva de migración (*Nm*) estimados, sugieren un flujo genético suficiente para mantener una homogeneidad genética entre las poblaciones.
- Existe flujo de genes entre las poblaciones domiciliadas y peridomiciliadas estudiadas de *T. venosa*.
- El movimiento de los insectos entre las poblaciones estudiadas hace necesario un mayor control del peridomicilio en los programas de eliminación de insectos vectores de la enfermedad de Chagas.

• Aunque hasta el momento se desconoce la capacidad vectorial de *T. venosa*, el posible flujo genético encontrado puede ser un factor determinante para el aumento de su capacidad vectorial.

Agradecimientos

Este proyecto se llevó a cabo gracias al apoyo financiero de Colciencias proyecto Cód: 1204-04-13018 y la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes.

Literatura citada

- ABAD-FRANCH, F.; AGUILAR, M. 2003. Control de la enfermedad de Chagas en el Ecuador. OPS/OMS – Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Quito, Ecuador.
- BORGES, É.; ROMANHA, A.; DIOTAUTI, L. 2000. Uso do Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) no estudo populacional do *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 16 (Sup.2): 97-100.
- BOSSART, J. L.; SCRIBER, J. M. 1995. Maintenance of ecologically significant genetic variation in the tiger swallowtail butterfly through differential selection and gene flow. *Evolution* 49: 1163-1171.
- CARLIER, L.; MUÑOZ, M.; DUJARDIN, J. P. 1996. A RAPD protocol for Triatominae. En: Proceedings of the International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae (C.J. Schofield, J.P. Dujardin & J. Jurberg, eds.), p. 81-83. México, D. F.: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas.
- FAVIA, G.; DIMOPOULUS, G.; LOUIS, C. 1994. Analysis of the *Anopheles gambiae* genome using RAPD markers. *Insect. Mol. Biol.* 3: 149-157.
- GARCÍA, A. L.; CARRASCO, H. J.; SCHOFIELD, C. J.; VALENTE, S.A.; FRAME, I. A.; STOTHARD, R.; MILES, M. A. 1998. Random amplification of polymorphic DNA as a tool for taxonomic studies of Triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 35: 38-45.
- GUHL, F. 2000. Programas en la eliminación de la transmisión de la enfermedad de Chagas en Colombia. *Medicina* 22 (2): 96-104.
- GUHL, F.; SCHOFIELD, C. J. 1996. Population genetics and control of triatominae. *Parasitology Today* 12: 169-170.
- GUHL, F.; MONTAÑA, R.; PINTO, N.; AGUILERA, G.; DAVIES, C.; CAMPBELL-DENDRUM, D. 2002. Efecto del clima y del medio ambiente en la distribución de triatomíneos y enfermedad de Chagas en Colombia. *Biomédica* 22 (1): 35.
- HARRY, M.; ROBIN, S.; LACHAISE, D. 1998. L'utilisation de marqueurs génétiques polymorphes (RAPDs) en entomologie évolutive et appliqué. *Annales de la Société Entomologique de France*, 34 :9-32.
- JARAMILLO, C.; MONTAÑA, M. F.; CASTRO, L.; VALLEJO G.; GUHL, F. 2001. Differentiation and genetic analysis of *Rhodnius prolixus* and *Rhodnius colombiensis* by rDNA and Random Amplified Polymorphic DNA. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96 (8): 1043-1048.
- JARAMILLO, C.; RAMÍREZ, C.; DELGADO, P.; PINTO, N.; AGUILERA, G.; GUHL, F. 2003. Estudio preliminar de la estructura genética de poblaciones domésticas, peridomésticas y silvestres de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae). *Revista Colombiana de Entomología* 29 (1): 1-5.
- KAMBHAMPATI, S.; BLACK, W. C. IV; RAI, K. S. 1992. RAPD-PCR of mosquito species and populations: techniques, statistical analysis and applications. *J. Med. Entomol.* 29:939-945.
- MORENO, J.; GALVAO, C.; JURBERG, J. 1999. *Rhodnius colombiensis* sp. N. da Colombia, com quadros comparativos entre estruturas fálizas do genero *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomol. Vect.* 6: 601-617.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 3321-3323.
- PODANI, J. 1993. SYNTAX. Computer programs for multivariate data analysis in Ecology and Systematics. Scienta Publishing. Budapest.
- SCHOFIELD, C. J.; DIOTAUTI, L.; DUJARDIN, J. P. 1999. The Process of Domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94, Suppl. I: 375-378.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- WELSH, J.; MCCLELLAND, M. 1990. Fingerprinting using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Research* 18: 7213-7218.
- WELSH, J.; PRETZRNAN, C.; POSTIC, D.; GIRON, I. S.; BARANTON, G.; MCCLELLAND, M. 1992. Genomic fingerprinting by arbitrary primer polymerase chain reaction resolves *Borrelia burgeri* into three distinct phylogenetic groups. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 370-377.
- WILLIAMS, J. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2000. *Weekly Epidemio Rec.* No. 2: 10-12.
- WRIGHT, S. 1951. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations, *Ann. Eugen.* 15: 323-354.

Recibido: Ago. 01 / 2003

Aceptado: Nov. 30 / 2003

Efecto de la asociación patilla (*Citrullus lanatus*) con maíz (*Zea mays*) sobre la población y el daño causado por tres insectos plaga y el rendimiento de estos cultivos en la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba

The effect of the association of watermelon (*Citrullus lanatus*) with corn (*Zea mays*) on the population and damage caused by three insects pests and the yield of those crops in Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba

LAGUANDIO DEL C. BANDA S.¹, DARÍO CORREDOR P.², GUILLERMO CORREDOR S.²

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 161-169 (2004)

Resumen. Con el propósito de conocer el efecto de la asociación patilla [*Citrullus lanatus* (Thumb) Matsum & Nakai] con maíz (*Zea mays* L.), sobre *Diabrotica balteata* Lec. y *Aphis gossypii* Glover en patilla; sobre *Spodoptera frugiperda* Smith y *D. balteata* en maíz, y el rendimiento en Ciénaga Grande de Lórica (Córdoba - Colombia) durante el primer semestre de 2000, se evaluaron tres asociados de patilla (4.800 plantas por hectárea) con maíz (10.000, 20.000 y 30.000 plantas por hectárea) y los monocultivos respectivos. El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar. Se cuantificó la población y el daño de los insectos, los rendimientos, calidad de la patilla, la rentabilidad y el uso equivalente de la tierra (uet). Los resultados mostraron una disminución de la población y el daño de *D. balteata* y *A. gossypii* en patilla asociada con respecto al monocultivo, con diferencias estadísticas. En maíz, la incidencia de *S. frugiperda* fue menor a 10.000 plantas por hectárea y *D. balteata* no registró diferencias estadísticas entre tratamientos. El mayor rendimiento y la mejor calidad de patilla se obtuvieron en asocio con maíz a 10.000 plantas por hectárea: 21.941 kg/ha; y el menor con maíz a 30.000 plantas por hectárea: 6.800 kg/ha; en el monocultivo: 20.460 kg/ha. El rendimiento del maíz varió entre 1.280 y 2.813 kg/ha, proporcional a la densidad de plantas. Económicamente el mejor tratamiento fue patilla con maíz a la menor densidad, con el mayor índice de rentabilidad 3,1 y un uet de 1,55; favorecido por una menor población e incidencia de los insectos plaga estudiados, con una preferencia de los monocultivos sobre sistemas asociados.

Palabras clave: Asocios. Monocultivos. Densidad de plantas. Incidencia. Rentabilidad.

Summary. In order to understand the effect of the association of watermelon [*Citrullus lanatus* (Thumb) Matsum & Nakai] with corn (*Zea mays* L.), on *Diabrotica balteata* Lec. and *Aphis gossypii* Glover in watermelon, on *Spodoptera frugiperda* Smith and *D. balteata* in corn, and yields in the Ciénaga Grande de Lórica (Córdoba - Colombia), three associations were evaluated with watermelon (4.800 plants per hectare) with corn (10.000, 20.000 and 30.000 plants per hectare) and their respective monocultures, during the first semester of 2000. The experimental design used was a complete randomized block. Populations and the damage of the insects, yields, quality of the watermelon, profitability and the land equivalent ratio (ler) were quantified. Results showed statistically significance reduction in the population and damage of *D. balteata* and *A. gossypii* in associated watermelon with respect to the monoculture. In corn the incidence of *S. frugiperda* was less in 10.000 plants per hectare and statistical differences between treatments were not detected for *D. balteata*. The best yield and quality of watermelon were obtained in association with 10.000 corn plants per hectare: 21.941 kg/ha; and the least with 30.000 corn plants per hectare: 6.800 kg/ha; in the monoculture yield was 20.460 kg/ha. Corn yield varied between 1.280 and 2.813 kg/ha, proportional to the density of plants. Economically, the best treatment was watermelon with corn at the lowest density, with the highest index of 3,1 and a ler of 1,55; this was favored by a smaller population and incidence of the insects pests studied with a preference for monoculture over associated systems.

Key words: Associations. Monocultures. Density of plants. Incidence. Profitability.

Introducción

Los cultivos múltiples o asociados son una alternativa de los sistemas de producción agrícola implementados principalmente por pequeños agricultores, dado que generan diferentes beneficios, como la diversificación de la producción en un mismo terreno y lapso de tiempo, mayo-

res rendimientos agronómicos y mejor aprovechamiento de los recursos productivos. Otro beneficio de gran importancia es la contribución al manejo de problemas fitosanitarios como los insectos plaga, que disminuyen su incidencia por acción de una mayor diversidad biológica (Altieri 1976; Leihner 1983; Tobón 1997).

La contribución de los cultivos múltiples al manejo de insectos plaga ha sido registrada por diferentes investigadores. Root (1973) definió las hipótesis de concentración de recursos y la de enemigos naturales, planteó que las plantas pueden adquirir resistencia a insectos por la asociación de cultivos, dada por las complejas interacciones de condiciones biológicas,

1 Autor para correspondencia: I. A. Estudiante de Maestría en Ciencias Agrarias: Área Fitoprotección Integrada. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Cra 76A No. 7C-69, Barrio Castilla, Tel. 292 10 06 Bogotá, D. C. E-mail: laguandio@yahoo.com.

2 Profesores Asociados. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

físicas y climáticas del sistema. Altieri (1976) contrastó las bondades de la vegetación en condiciones naturales y la tendencia de mantener el equilibrio entre fitófagos y plantas hospederas. Algo similar fue expuesto por Perrin (1976) sobre la dificultad que tienen los insectos plaga para localizar las plantas hospederas en sistemas de cultivos diversificados, por la distorsión de estímulos visuales y olfativos de los insectos.

Altieri y Leibman (1986) expusieron la complejidad de los posibles efectos de los cultivos múltiples sobre insectos plaga, relacionaron una serie de aspectos, dentro de los cuales resaltan la interferencia entre el hospedero y la conducta de búsqueda de los insectos, como es el camuflaje, el contraste de fondo del cultivo, enmascaramiento o dilución de estímulos atrayentes y la repelencia química; otro efecto mencionado corresponde a la interferencia con el desarrollo y supervivencia de las poblaciones; así mismo, incluyeron las barreras mecánicas que dificultan la dispersión de los insectos, la ausencia de estímulos llamativos, las influencias microclimáticas y las influencias bióticas, como el alto grado de complejidad de enemigos naturales.

En la Ciénaga Grande de Lórica (Córdoba) durante la época seca (primer semestre del año) alrededor de 3.000 hectáreas son dedicadas cada año a cultivos transitorios de patilla, maíz, frijol, pepino, habichuela, tomate y yuca, con tecnología tradicional en áreas de 0,5 a 2 ha por pequeño productor. Predomina la producción de patilla con cerca de 2.500 ha y rendimientos promedios de 11 t/ha; seguida por el maíz con unas 300 ha y rendimientos hasta de 1,6 t/ha. El principal limitante de estos cultivos son los insectos plaga, lo que ha conllevado a un alto uso de insecticidas y consigo a altos costos de producción (Secretaría de Agricultura 1999).

Para el cultivo de patilla, en el área mencionada, se han registrado como principales insectos plaga a *Diabrotica balteata*

[Leconte (Coleoptera: Chrysomelidae)], *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) y *Bemisia tabaci* [(Gennadius) Homoptera: Aleyrodidae] Secretaría de Agricultura (1999). *D. balteata* causa raspaduras y perforaciones irregulares en el follaje, también se alimenta de flores y yemas y su ciclo de huevo a adulto es de 30 a 40 días (Pulido y López 1973). *A. gossypii* ataca principalmente los brotes o yemas y por debajo de hojas jóvenes, algunas veces de forma generalizada, ocasiona arrugamiento, debilitamiento general y enanismo; excretan la "melaza" o "miel de rocío", lo que genera el desarrollo de *Capnodium* sp. (hollín o fumagina); el estado adulto de este insecto es alcanzado alrededor de los 8 días (Vélez 1997).

La producción de maíz en el área de la ciénaga tiene como principal limitante a *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Secretaría de Agricultura 1999). Este insecto plaga actúa como gusano tierrero, trozador y cogollero; este último es el hábito más característico en gramíneas (García *et al.* 1999). El ciclo de huevo a adulto puede variar entre 20 y 35 días, con un estado de larva alrededor de 15 días, de acuerdo con las condiciones ambientales y el valor nutritivo del cultivo (Vélez 1997). Otro insecto plaga que afecta al maíz en el área mencionada, es *D. balteata*, se alimenta del follaje, espigas y estigmas o "cabellos" de las mazorcas; el estado de larva puede afectar el sistema radical (King y Saunders 1984).

Cuando se realiza el asocio patilla con maíz en el área de la Ciénaga Grande de Lórica, el pequeño agricultor, al comercializar la patilla, obtiene altos ingresos, mientras que el maíz lo utiliza para autoconsumo, siendo el interés principal del agricultor. En consecuencia, poco o nada se ha cuantificado el efecto de estos arreglos sobre la presencia de insectos plaga y sobre la eficiencia productiva de este sistema de cultivo. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la asociación patilla con maíz sobre la fluctuación

poblacional y el daño de los principales insectos plaga, junto con el rendimiento de estos cultivos en la Ciénaga Grande de Lórica - Córdoba. Se propuso cuantificar la fluctuación poblacional e incidencia de *D. balteata* en los cultivos de patilla y maíz, de *A. gossypii* en patilla y de *S. frugiperda* en maíz, así mismo medir la influencia del asocio sobre los rendimientos, la eficiencia en el uso del recurso suelo y analizar la viabilidad económica de este sistema productivo.

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en el primer semestre del año 2000 (enero - abril) en un área de la Ciénaga Grande de Lórica - Córdoba, perteneciente al corregimiento de Sitio Viejo, 7 km al sur del municipio de Chimá (9° 15' de latitud norte y 75° 3' de longitud oeste); a una altura de 20 msnm, temperatura promedio anual de 27°C, precipitación anual de 1.250 mm, humedad relativa del 80%, brillo solar promedio de 7 horas día (Contraloría General 1999). El suelo con textura franco arcillosa, mostró un pH de 4,66, un alto contenido de materia orgánica (7,65%), una conductividad eléctrica de 0,15 mmhos/cm, niveles excesivos de S, Mg, Fe, y Zn, niveles altos de Ca y Mn, medios o moderados de P y Al y deficientes de K, Cu, y B, según el análisis realizado en el laboratorio de suelos de la Universidad de Córdoba - Montería.

Se utilizó la variedad de patilla "Charleston Gray" y la variedad regional de maíz "Setentano". La disposición espacial de los dos cultivos, de acuerdo con los tratamientos, se registran en la tabla 1. En la preparación del suelo se dejó una cobertura vegetal para protegerlo de las altas temperaturas y radiación (funcionando como mulch) y así mantenerlo con una humedad constante, dada la escasez de lluvias para la época (precipitación acumulada de enero a abril de 2000 igual a 40,9 mm, según estación 1307501 del IDEAM en Chimá - Córdoba); además esta cobertura funciona como cama para el fruto de la

Tabla 1. Establecimiento en campo de los sistemas de patilla y maíz evaluados.

Tratamientos	Proporción patilla : maíz (surcos)	Distancia de siembra, entre surcos y entre sitios (m)		No. plantas por parcela		No. plantas por hectárea	
		Patilla	Maíz	Patilla	Maíz	Patilla	Maíz
T1: p(o) (patilla monocultivo)	1 : 0	2,5 x 2,5	-	60	-	4.800	-
T2: m(o) (maíz monocultivo)	0 : 1	-	1 x 1	-	375	-	30.000
T3: pxm3 (patilla x maíz 3)	1 : 3	2,5 x 2,5	0,83 x 1,2	60	375	4.800	30.000
T4: pxm2 (patilla x maíz 2)	1 : 2	2,5 x 2,5	1,25 x 1,2	60	250	4.800	20.000
T5: pxm1 (patilla x maíz 1)	1 : 1	2,5 x 2,5	2,5 x 1,2	60	125	4.800	10.000

patilla, la cual contribuye con la calidad del mismo. El manejo agronómico fue uniforme para todas las unidades experimentales, que fue realizado de acuerdo con las condiciones del área y las exigencias de los cultivos.

El diseño experimental fue de Bloques Completos al Azar (BCA), con cinco tratamientos (Tabla 1) y cuatro repeticiones; cada bloque estuvo conformado por cinco parcelas de 10 m de ancho por 12,5 m de largo para una área de 125 m² por parcela y 20 parcelas en total. El espaciamiento entre bloques fue de 2,5 m y entre parcelas de 1,5 m, resultando una área experimental de 3.360 m² y una área efectiva de 2.500 m². Las variables evaluadas se describen a continuación.

Población y daño causado por los insectos plaga

- Población e incidencia de *D. balteata* en patilla. El muestreo se realizó mediante observaciones en los seis sitios centrales de cada parcela; Muestreo inicial de todas las plantas, luego el tercio medio de las guías principales y finalmente se utilizó un cuadrado de 0,25 m². Se cuantificó la población (adultos) y daño fresco en cada sitio, donde la unidad de muestreo fue la hoja. Las evaluaciones se hicieron cada 4 días para un total de dieciocho.

- Población e incidencia de *D. balteata* en maíz. Las observaciones se realizaron en los diez sitios centrales. Se tomó como unidad de muestreo a toda la planta y se hicieron dieciocho evaluaciones, a intervalos de 4 días.

- Población y nivel de daño de *A. gossypii* en patilla. Se utilizó un cuadrado de 0,25 m² para las observaciones en los seis surcos centrales; la unidad de muestreo fue la hoja. Se estimaron unos niveles de población de 1 a 4 (cero, de uno a diez, de once a veinte y veintiuno o más áfidos por hoja) y unos niveles de daño de 1 a 5 (hoja sin daño, hojas con bordes ligeramente entorchados, hojas ligeramente arrugadas y entorchadas, hojas arrugadas y entorchadas y por último hojas con presencia de miel de rocío). Para las dos variables se realizaron seis evaluaciones, con una frecuencia cada 4 días.

- Población e incidencia de *S. frugiperda* en maíz. Se realizaron dieciséis evaluaciones, en las que se cuantificó el número de larvas y el porcentaje de plantas con daño fresco en el cogollo en 10 sitios de los surcos centrales de cada parcela. Las evaluaciones fueron realizadas cada 4 días.

Para las variables evaluadas de los insectos plaga se realizó un análisis estadístico mediante el programa de SAS/STAT, de acuerdo con el diseño de BCA, que, por el sistema de evaluación de los insectos plaga, se constituyó en parcelas divididas en el tiempo, como lo sugieren Little e Hills (1976). Se realizó análisis de varianza por evaluación y para los promedios globales

de cada una de las variables evaluadas y se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey a la media de los tratamientos; realizando previamente las transformaciones necesarias para los datos de población con la fórmula $(x+0,5)^{1/2}$ y para la incidencia o daño expresados en porcentaje $\arcsin(x/100)^{1/2}$ y de esta forma cumplir con los supuestos estadísticos de normalidad.

Componentes del rendimiento de los cultivos

Los componentes del rendimiento evaluados en patilla fueron: El número, y el peso en kg de frutos de primera, segunda y total por hectárea. El número de frutos de primera mayor de 6 kg, y de segunda entre 4 y 6 kg. El área efectiva de cosecha por parcela fue de 37,5m² correspondiente a los seis sitios centrales. El rendimiento (R) = [(Producción en cada parcela x 10.000m²) / [(Área cosechada (37,5 m²)).

En maíz, se evaluaron el número de mazorcas por hectárea y el rendimiento en grano kg/ha. El área efectiva de cosecha fue de 24 m² correspondientes a los surcos centrales de acuerdo con la densidad de plantas. Para expresar los rendimientos en kg/ha se utilizó la fórmula propuesta por el CYMMYT (1985) donde $R = [(kg \text{ por parcela} \times \text{factor de corrección} \times 10) \times (\% \text{ Humedad} \times \% \text{ desgrane})] / (\text{área efectiva de cosecha})$.

Para determinar el efecto de los socios sobre los rendimientos agronómicos se sometieron a análisis de varianza y a prueba de Tukey. Se aplicó además un análisis bivariado de varianza, donde se consideran dos variables simultáneas, esto implica análisis de varianza y covarianza en forma conjunta, siendo útil para no considerar individualmente la producción de un cultivo que ha interactuado con otro en la misma unidad experimental (Moreno 1990).

Parámetros económicos

Se evaluaron el costo total de producción en \$/ha, el beneficio bruto en \$/ha, el beneficio neto en \$/ha y el índice de rentabilidad. Además, se estimó el uso equivalente de la tierra (uet), con el objetivo de conocer la eficiencia de cada sistema productivo en el uso del recurso suelo, donde $uet = [(x_1/y_1) + (x_2/y_2)]$, x representa el rendimiento de cada especie cultivada en forma asociada; y representa el rendimiento de la misma especie en monocultivo.

En el análisis económico se tuvieron en cuenta los beneficios netos y la rentabilidad, comparados con los costos de producción de los sistemas evaluados, según lo propuesto por Leihner (1983), y la evaluación de la eficiencia en el uso del recurso suelo con el uet, que representa el área relativa de tierra cultivada en monocultivo necesaria para obtener la misma producción que en la asociación, con base en lo propuesto por Soria *et al.* (1975), citado por Hart (1985).

Resultados y Discusión

Población y daño de *D. balteata* en patilla

Bajo las condiciones de investigación en el monocultivo, la población de adultos de *D. balteata* en patilla aumentó con el desarrollo del cultivo. La máxima población se registró entre los 36 y 44 días después de la emergencia (dde), donde se presentó la mayor población en patilla monocultivo (p(o)) y la menor en patilla por maíz 3 (pxm3) (Fig. 1). Las diferencias estadísticas se registraron en la evaluación a los 36 dde entre p(o) con 4,7 adultos por sitio y pxm3 con 2,4 adultos por sitio ($F = 4,37$; $df = 95$ (modelo), 89 (error); $P=0,04$); a los 40 dde entre p(o) y pxm3 (6,2 y 2,8 adultos por sitio respectivamente) ($F = 8,53$; $df = 95$, 89; $P=0,01$) y a los 44 dde entre p(o), patilla por maíz 2 (pxm2) con respecto a pxm3 (5,5, 3,8, y 1,8 adultos por sitio) ($F = 15,2$;

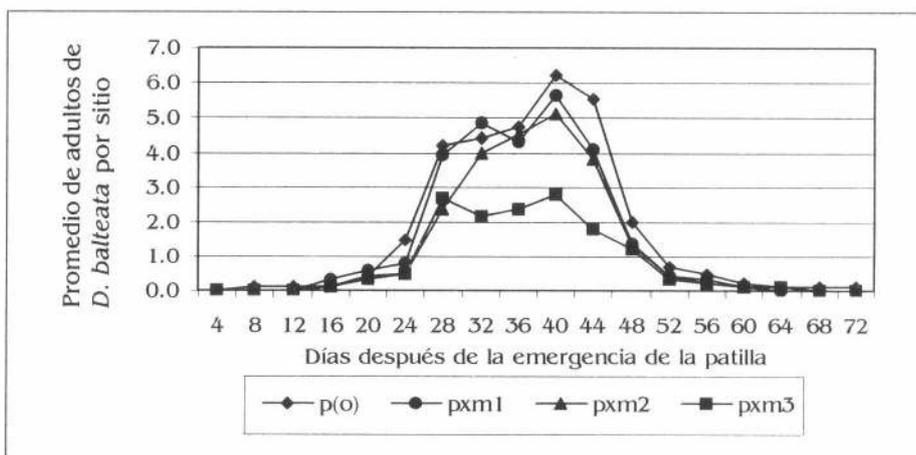


Figura 1. Fluctuación de la población de *D. balteata* en patilla, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba.

df = 95, 89; P=0,01). Los promedios generales registraron valores de 1,3, 1,1, 0,9 y 0,7 adultos por sitio, para p(o), pxm1, pxm2 y pxm3, respectivamente, con diferencias estadísticas entre p(o) y pxm3 (F= 4,69; df= 1,727*, 1,644**; P=0,04).

El daño de *D. balteata* en patilla (porcentaje de hojas afectadas) presentó diferencias estadísticas a los 24 dde entre p(o) con respecto a pxm2 y pxm3, con promedios respectivos de 7,2, 4,6 y 4,3% de hojas afectadas (F= 4,14; df= 95, 89; P=0,01). A los 40 dde entre p(o) y pxm3 (19,0 y 13,8% de hojas afectadas, respectivamente) y entre pxm3 con patilla por maíz 1 (pxm1), con un porcentaje de hojas afectadas en este último de 17,55% (F= 4,59; df= 95, 89; P=0,01). P(o) y pxm3 también registraron diferencias a los 44 dde, el porcentaje de hojas afectadas fue de 16,5 y 9,2% respectivamente (F= 6,78; df= 95, 89; P=0,01) y a los 48 dde entre p(o) con 6,25% y pxm2 con 2,9% de hojas afectadas (F= 3,47; df= 95, 89; P=0,04).

Con base en los resultados descritos, se podría afirmar que la fluctuación del daño de *D. balteata* en patilla mantuvo una tendencia similar a la de la población, los promedios más altos en la mayoría de las evaluaciones se registraron en p(o) (Fig. 2). Los promedios globales reflejaron lo mostrado en las diversas evaluaciones, las diferencias se presentaron entre p(o) con respecto a pxm2 y pxm3, con valores de 6,9, 5,4 y 5,5% de hojas afectadas respectivamente, mientras que en pxm1 el promedio fue de 5,9% (F= 5,83; df= 1,727, 1,644; P= 0,04).

Los resultados de la población e incidencia de *D. balteata* en patilla mostraron que los asociados con maíz tuvieron una influencia sobre este insecto plaga con respecto al monocultivo, lo que pudo ser debido a la mayor concentración de recursos, como lo propone Root (1973) y también por la formación de microclimas de preferencia o rechazo por parte del insecto (Altieri y Leibman 1986). La mayor presencia de *D. balteata* entre los 36 y 44 dde de la patilla se debió muy posiblemente a una nueva generación de la plaga y a una alta disponibilidad de alimento en el cultivo de patilla, con la mayor concentración de la población y del daño en el monocultivo. Por último, se presentó una correlación positiva significativa del 82% entre la población y el daño de *D. balteata* en patilla.

Población y daño de *D. balteata* en maíz

Las evaluaciones de la población y el daño de *D. balteata* en maíz solo presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos a los 56 dde del cultivo. Para la población las diferencias se presentaron entre pxm2 con 1,8 adultos por planta y pxm1 con 0,7 adultos por planta (Fig. 3) (F= 3,8; df = 159,

153; P= 0,03). En los promedios generales de la población no se registraron diferencias estadísticas entre tratamientos, con valores de adultos de *Diabrotica* por planta para pxm2 de 0,2, m(o) con 0,17, pxm1 con

0,14 y pxm3 con 0,12 (F= 1,87; df= 2,879, 2,796; P= 0,12). Para el daño, las diferencias a los 56 dde fueron también entre pxm2 y pxm1 con valores respectivos de 33,3 y 19,2% de plantas afectadas (Fig. 4) (F= 2,67;

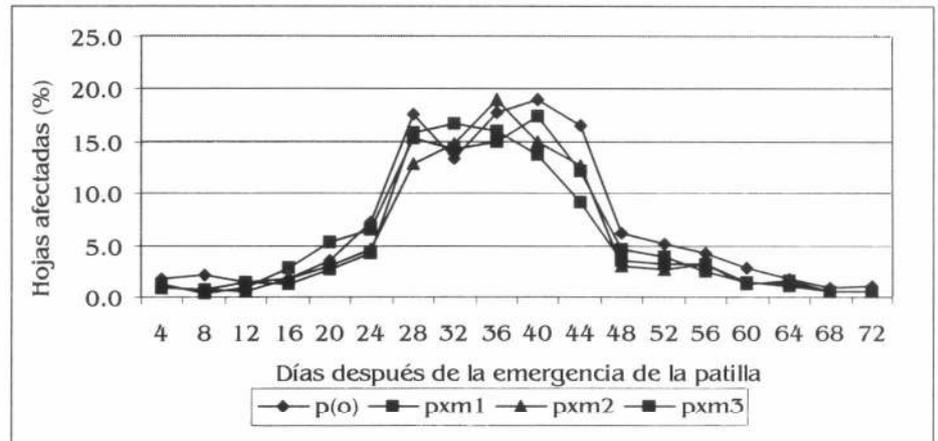


Figura 2. Daño promedio de *D. balteata* por hoja de patilla, en la Ciénaga Grande de Loricá, Córdoba.

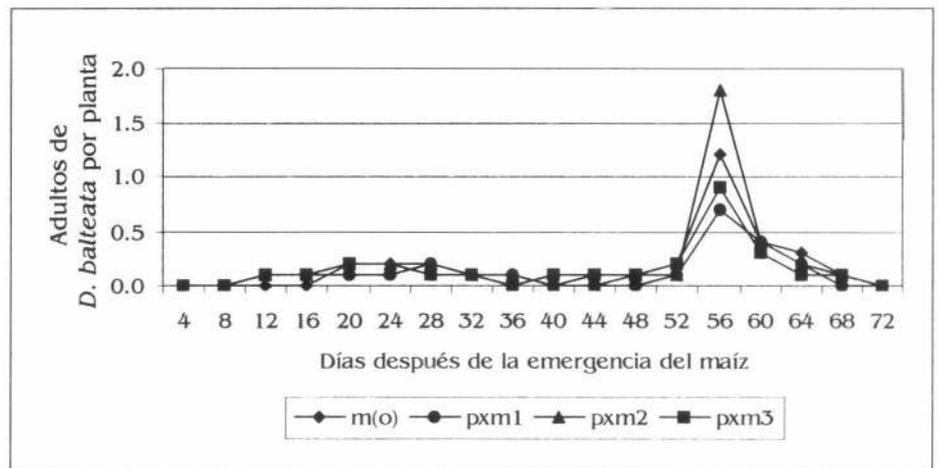


Figura 3. Fluctuación de la población de *D. balteata* en maíz, en la Ciénaga Grande de Loricá, Córdoba.

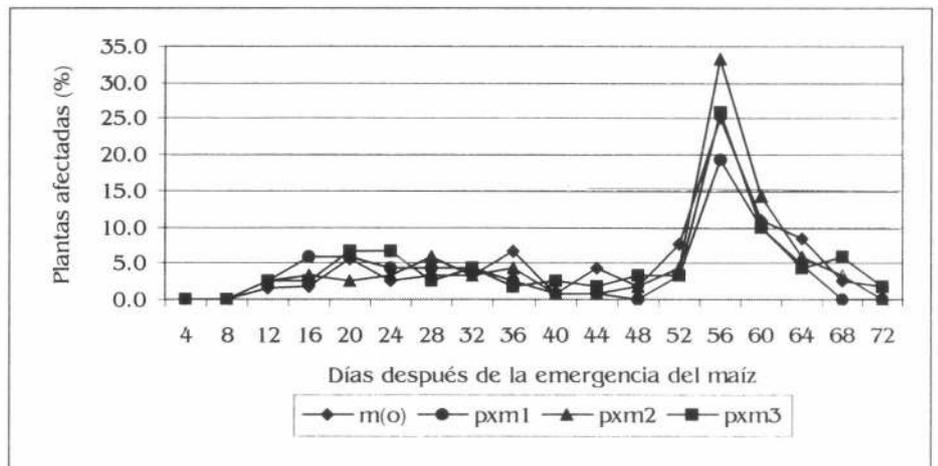


Figura 4. Porcentaje promedio de plantas de maíz afectadas por *D. balteata*, en la Ciénaga Grande de Loricá, Córdoba.

* Grados de libertad (df) del modelo, incluye los df de los bloques (3), de los tratamientos (3) del error A (Bl.xTr. = 9), del número de lecturas (17), del tratamiento x lectura (51), del error B (Bl.x Lec). = 1,644.

** Grados de libertad del error B.

df= 159, 153; P= 0,04). Los promedios generales del daño no registraron diferencias significativas, no obstante se presentaron valores de 4,9, 4,8, 4,7 y 3,7% de plantas afectadas en pxm2, m(o), pxm3 y pxm1, respectivamente (F= 1,74; df= 2,879, 2,796; P= 0,13).

Al contrastar la población encontrada de *D. balteata* sobre plantas de maíz y la hallada sobre la patilla, se podría afirmar que este insecto plaga tiene una preferencia por el segundo cultivo, dado a la mayor presencia de adultos de este insecto que se registró sobre el cultivo de patilla, como se pudo observar en las figuras 1 y 3, descritas anteriormente. En maíz se presentó un aumento considerable de la población de *D. balteata* a los 56 dde, con respecto a las anteriores evaluaciones (Fig. 3), esto se debió a que en esta evaluación el maíz se encontraba en plena fase de floración, donde se observó que *D. balteata* tenía preferencias por las inflorescencias tanto masculinas como femeninas, esto explica la mayor presencia de adultos y de daño a esta edad del maíz. También se le podría sumar a esta situación, el inicio de la senescencia de la patilla, lo que ayudó a que el insecto encontrara una mayor disponibilidad de alimento fresco en el maíz.

Población y daño de *A. gossypii* en patilla

Los niveles de población de *A. gossypii* presentaron diferencias estadísticas en las primeras cuatro evaluaciones realizadas entre los 52 y 64 dde de la patilla. Las diferencias en las primeras tres evaluaciones fueron entre el monocultivo y los tres asociados; donde p(o) registró los niveles de población más altos así: evaluación a los 52 dde 2,0 (F= 11,16; df= 95, 89; P= 0,01), a los 56 dde 3,1 (F= 10,11; df= 95,89; P= 0,01) y a los 60 dde 3,8 (F= 8,65; df= 95, 89; P= 0,01); mientras que el menor valor en estas evaluaciones lo registró pxm3 con 1,0, 1,7 y 2,4, respectivamente. En la evaluación a los 64 dde la diferencia fue entre p(o) y pxm3, con valores correspondientes de 3,8 y 3,3 (Fig. 5) (F= 4,19; df= 95, 89; P= 0,04). En los promedios generales de los niveles de población de *A. gossypii* las diferencias se presentaron entre p(o) y los tres asociados con el mayor valor en p(o) (3,4) y el menor en pxm3 (2,5), mientras que pxm1 y pxm2 presentaron valores intermedios respectivos de 2,8 y 2,6 (F= 24,37; df= 540, 505; P= 0,01).

El nivel de daño de *A. gossypii* en patilla presentó diferencias estadísticas en cinco de las seis evaluaciones realizadas. En las primeras tres (52 – 60 dde) entre p(o) con los tres asociados evaluados (evaluación uno: F= 10,64; df= 95, 89; P= 0,01; evaluación dos: F= 22,64; df= 95, 89; P= 0,01, y evaluación tres: F= 18,69; df= 95, 89; P= 0,01); en las dos siguientes (64 y 68 dde) las diferencias fueron especialmente entre p(o) y pxm3 (Fig. 6) (evaluación cuatro F= 7,75; df= 95, 89; P= 0,01), (evaluación cinco F= 2,74; df= 95, 89; P= 0,05). Los promedios generales del nivel de daño re-

gistraron diferencias entre p(o) y los tres asociados (F= 17,57; df = 540, 505; P= 0,01); p(o) con un valor de 3,4 fue el nivel de daño más alto, le siguió pxm1 con 5,2, pxm2 con 2,4 y el menor lo registró pxm3 con 2,2. La correlación entre el nivel de población y daño fue significativa y positiva, igual a 81%.

La fluctuación de los niveles de población y de daño de *A. gossypii* en patilla, descritos anteriormente, muestran la influencia de los asociados sobre este insecto plaga, el cual registró los mayores valores para las dos variables en el monocultivo y disminuyeron en los asociados, principalmente en patilla con maíz a la mayor densidad (pxm3). Esto podría explicarse por la influencia que tiene el contraste de fondo de los cultivos sobre los áfidos, siendo atraídos por cultivos o plantas hospederas con un contraste de suelo desnudo, más que a un contraste de malezas, según lo expuesto por Altieri y Leibman (1986). En este estudio el contraste que pudo dificultar la llegada de los áfidos a la patilla fue el maíz, que también pudo interferir en el movimiento de los adultos alados limitando la colonización de nuevas áreas. Los resultados de la fluctuación de la po-

blación y del daño de *A. gossypii* en patilla pueden ser sustentados especialmente en las diferencias relacionadas con el hábito de crecimiento de los dos cultivos. El maíz con un crecimiento vertical y la patilla horizontal con respecto al suelo, conlleva a una estrecha asociación que da lugar a un contraste complejo entre estas dos especies de plantas. Esto estaría dificultando el movimiento de los áfidos (hembras con alas) que buscan colonizar otros sitios u otras plantas de patilla, las cuales, tendrían que superar la barrera física conformada por el maíz; además, los áfidos que vienen de otras áreas van a encontrar a la patilla camuflada por debajo del maíz, lo que distorsiona o dificulta la localización de su alimento preferido. Muchos otros aspectos biológicos y ecológicos de los áfidos estarían influenciados por los sistemas de cultivos implementados, entre ellos, los relacionados con los estímulos químicos y/o olfativos, que intervienen en la localización del alimento por parte del insecto, no obstante, sería necesario realizar estudios más específicos de la influencia de los cultivos asociados sobre los diferentes aspectos relacionados con el comportamiento de los áfidos o de algún insecto plaga en un área determinada.

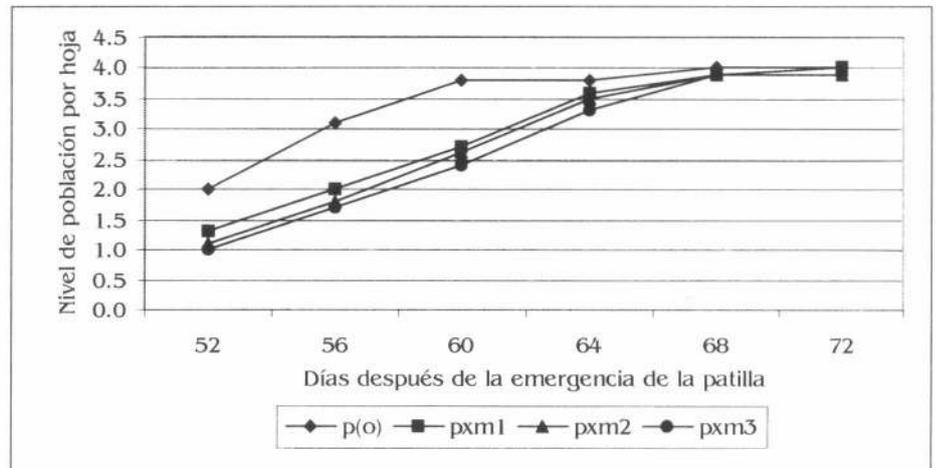


Figura 5. Fluctuación de niveles de población de *A. gossypii* por hoja de patilla, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba.

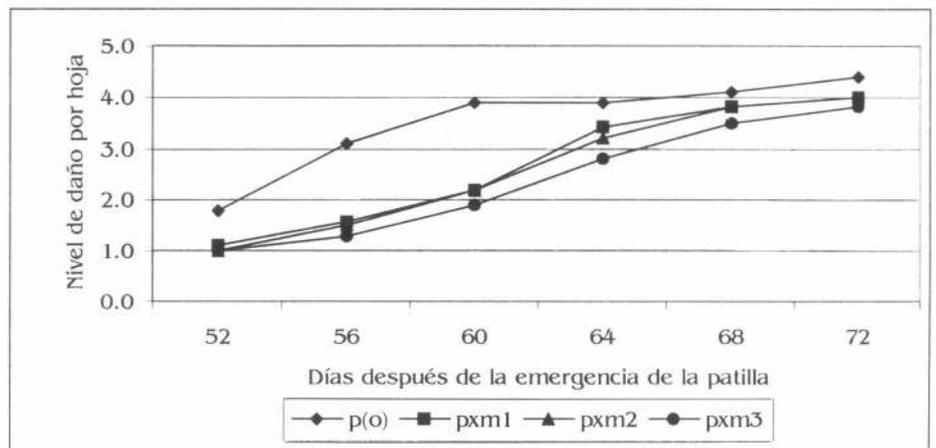


Figura 6. Fluctuación de niveles de daño de *A. gossypii* por hoja de patilla, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba.

Población y porcentaje de plantas afectadas por *S. frugiperda* en el cultivo de maíz

La población de *S. frugiperda* (larvas por planta) presentó diferencias estadísticas entre tratamientos, desde los 20 hasta los 44 dde del maíz excepto a los 32 dde. A los 20 dde entre m(o) y pxm1 ($F = 5,94$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$); 24 dde entre m(o) y pxm2 ($F = 3,27$; $df = 159$; $P < 0,042$); 28 dde entre m(o), pxm3 con respecto a pxm2 y pxm1 ($F = 12,61$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$); 36 dde entre m(o) con pxm2 y pxm1 ($F = 3,85$; $df = 159, 153$; $P = 0,05$); 40 dde entre m(o) y pxm1 ($F = 3,30$; $df = 159, 153$; $P = 0,05$) y a los 44 dde entre m(o) con pxm2 y pxm1 ($F = 7,51$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$).

El análisis de varianza para el porcentaje de plantas con daño fresco presentó diferencias estadísticas entre tratamientos a los 20 y 44 dde, así: 20 dde las diferencias fueron entre m(o) y pxm2 ($F = 6,15$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$); 24 dde entre m(o), pxm3 con respecto a pxm1 ($F = 2,06$; $df = 159, 153$; $P = 0,05$); 28 dde entre m(o) con pxm2 y pxm1 ($F = 12,59$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$); 32 y 36 dde entre m(o) y pxm1 ($F = 3,40$; $df = 159, 153$; $P = 0,05$) ($F = 3,47$; $df = 159, 153$; $P = 0,05$) y a los 44 dde entre m(o) con pxm2 y pxm3 ($F = 7,39$; $df = 159, 153$; $P = 0,01$).

La población y el daño de *S. frugiperda* aumentó con el desarrollo del maíz, con una disminución a los 24 dde (Figs. 7 y 8) debido a una precipitación de 12,5 mm un día antes de esta evaluación. Esto corrobora lo registrado por García *et al.* (1999), quienes afirman que las lluvias son un mecanismo de control de este insecto plaga. Los promedios generales mostraron diferencias estadísticas para la población y el daño de *S. frugiperda* en maíz; diferencias dadas entre m(o) y pxm3 con respecto a pxm1; para cada tratamiento m(o), pxm3, pxm2 y pxm1 la población registró promedios de 1,9, 1,6, 1,1 y 0,9 larvas por planta, mientras que el daño fue de 25,19, 20,98, 17,24 y 13,32% de plantas afectadas en forma respectiva ($F = 3,65$; $df = 2,560, 2,485$; $P = 0,05$) ($F = 4,23$; $df = 2,560, 2,485$; $P = 0,05$). En las condiciones de la investigación, *S. frugiperda* registró una reducción de la población en un 55% y del daño en un 47% para el asocio pxm1 con respecto a m(o). Esto sugiere la preferencia de este insecto por el monocultivo de maíz, posiblemente al contraste en forma, color o textura de los asociados, dado que la diversidad de los hábitats influye sobre *S. frugiperda*, como lo registra Altieri (1976) en policultivos de maíz asociado con frijol y diversificados con mamezas, la población de este insecto se redujo en un 23% y el daño en un 38% comparado con el monocultivo.

Producción de la patilla

Para el número y peso de frutos de patilla de primera, las diferencias estadísticas se

registraron entre pxm1 con pxm2 y pxm3; la producción fue de 1.667 frutos por hectárea = 13.614 kg/ha; 933 frutos por hectárea = 6.960 kg/ha y 533 frutos por hectárea = 3.560 kg/ha, respectivamente (Figs. 9 y 10) ($F = 14,04$; $df = 15, 9$; $P = 0,01$) ($F = 65,75$; $df = 15, 9$; $P = 0,01$).

El número y peso de frutos de patilla de segunda por hectárea presentaron diferencias estadísticas entre p(o) (2.400 frutos por hectárea = 11.780 kg/ha) con los tres socios evaluados, la menor cantidad fue en pxm3 (667 frutos por hectárea = 3.240 kg/ha) (Figs. 9 y 10) ($F = 21,15$; $df = 15, 9$; $P = 0,01$).

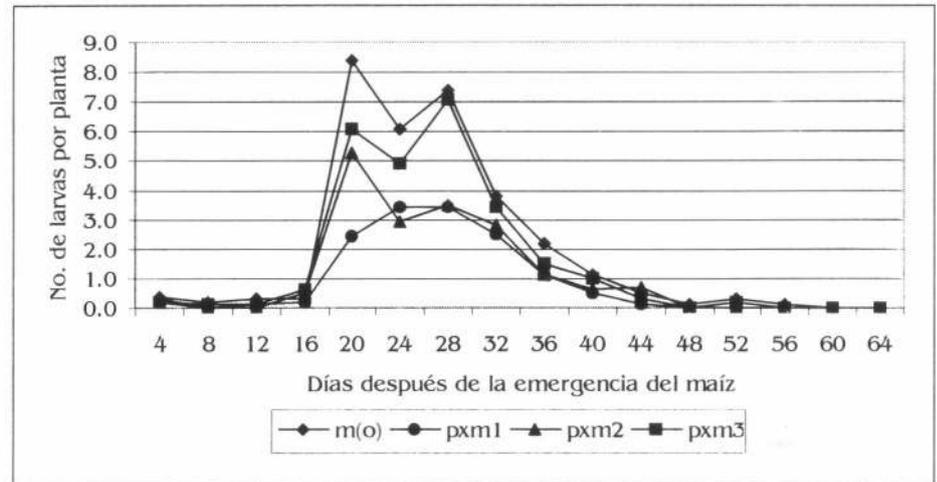


Figura 7. Fluctuación del número de larvas de *S. frugiperda* por planta de maíz, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba.

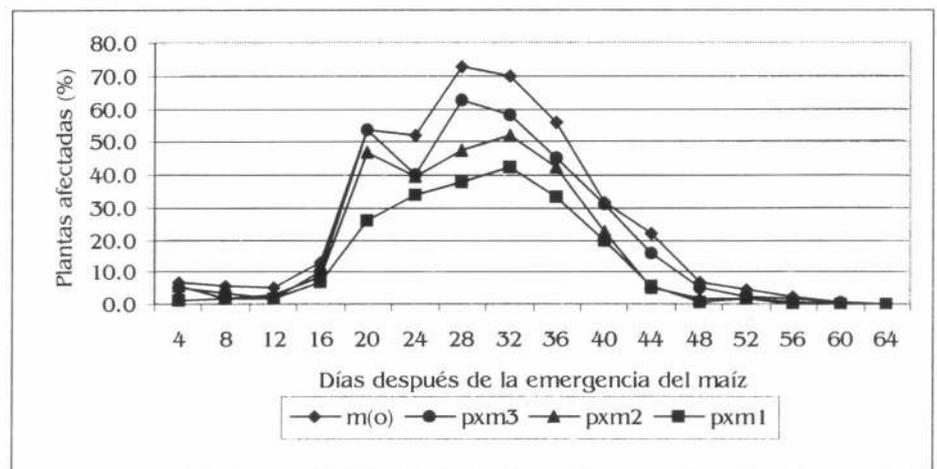


Figura 8. Fluctuación del porcentaje de plantas afectadas por *S. frugiperda* en maíz, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba.

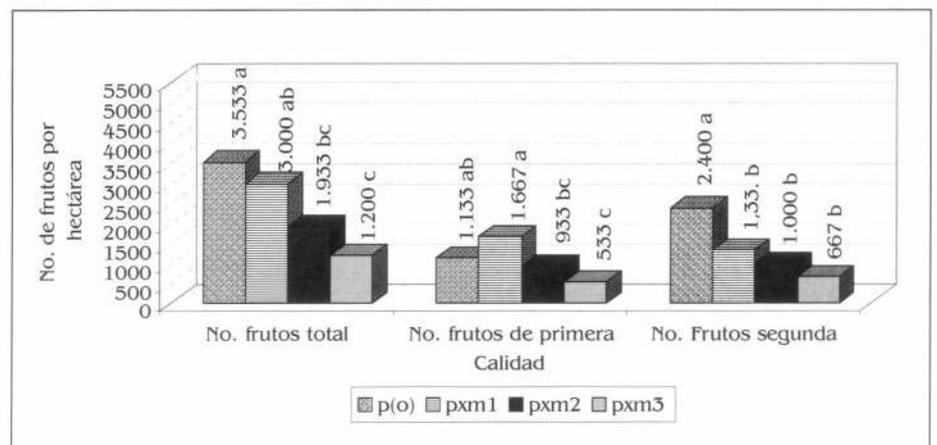


Figura 9. Producción promedio de patilla en número de frutos por hectárea para las diferentes calidades, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba. Promedios en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de Tukey 5%.

= 15, 9; P= 0,01) (F= 15,40; df= 15, 9; P= 0,01).

El número total de frutos de patilla por hectárea registró diferencias entre p(o) con respecto a pxm3 y pxm2, también entre pxm1 y pxm3 (F= 15,66; df= 15, 9; P= 0,01). El mayor número de frutos por hectárea se obtuvo en p(o) con 3.533 y el menor en pxm3 con 1.200 frutos por hectárea (Fig. 9). El peso en kg/ha mostró diferencias estadísticas entre pxm1 (21.941 kg/ha) con pxm2 y pxm3 y entre p(o) con estos dos últimos (F= 45,75; df= 15, 9; P= 0,01). El menor rendimiento fue el de pxm3 (6.800 kg/ha) (Fig. 10).

El rendimiento de la patilla en los socios evaluados con la mayor densidad de maíz (pxm2 y pxm3) fueron menores con respecto al monocultivo, no obstante pxm1 registró los mayores rendimientos con el mayor número de frutos de mejor calidad, mientras que p(o) produjo el mayor número de frutos de segunda, contrastando esto con los rendimientos más bajos que fueron registrados en pxm3 (Figs. 9 y 10). Estos rendimientos estuvieron influenciados por cada sistema productivo, se podría afirmar que los sistemas de patilla con mayor densidad de maíz ocasionan una disminución en la captación de luz y de la capacidad fotosintética de la patilla, reflejada dicha situación en la producción baja de frutos y la calidad de los mismos, como se presentó en el sistema de pxm3. La mayor producción de frutos de segunda y la disminución en cierto grado de los rendimientos de p(o) con respecto a pxm1 (Fig. 10), posiblemente se relaciona con la mayor exposición a factores limitantes como los insectos plaga estudiados, especialmente *A. gossypii*, que alcanzó rápidamente los máximos niveles de población y de daño en el monocultivo de patilla (Figs. 5 y 6), como se relacionó anteriormente.

Producción del maíz

Se registró un aumento en el rendimiento (número de mazorcas por hectárea y kg/ha en grano) a medida que se aumentó la densidad de plantas por hectárea, lo que muestra la poca o mínima influencia del cultivo de patilla sobre el rendimiento del maíz. La mayor producción se obtuvo en m(o) con 20.667 mazorcas por hectárea= 2.813 kg/ha en grano y el menor en pxm1 con 9.778 mazorcas por hectárea= 1.280 kg/ha en grano (Fig. 11). Se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos para el número de mazorcas por hectárea (F= 19,39; df= 15, 9; P= 0,01) y el peso del grano en kg/ha (F= 18,29; df= 15, 9; P= 0,01).

El análisis multivariado para los rendimientos en kg/ha de patilla y maíz en los tres socios (pxm1, pxm2 y pxm3) mostraron diferencias altamente significativas entre cada uno de los tratamientos (F= 17,57; df= 11, 6; P<0,01) (significancia con base en el criterio de Hotelling) (Fig. 12). Es interesante anotar que el resultado de las pruebas de F en el análisis bivariado es

consistente con el análisis por separado de los rendimientos de cada cultivo. En consecuencia, se podría afirmar que los socios evaluados influyeron sobre la producción de los dos cultivos, especialmen-

te sobre los rendimientos de la patilla que disminuyeron a medida que se aumentó la densidad de maíz en los sistemas asociados, mientras que en maíz la influencia pudo ser muy baja, dado que los rendi-

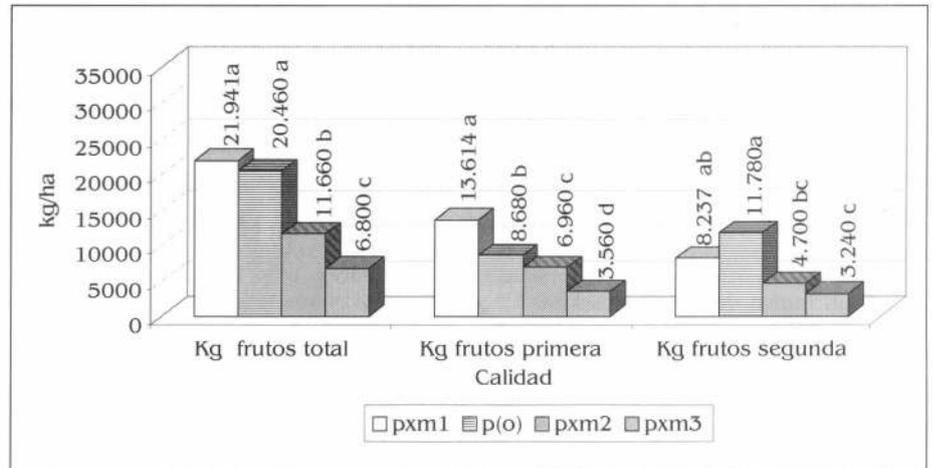


Figura 10. Producción promedio de patilla en kg/ha para las diferentes calidades, en la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba. Promedios en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de Tukey 5%.

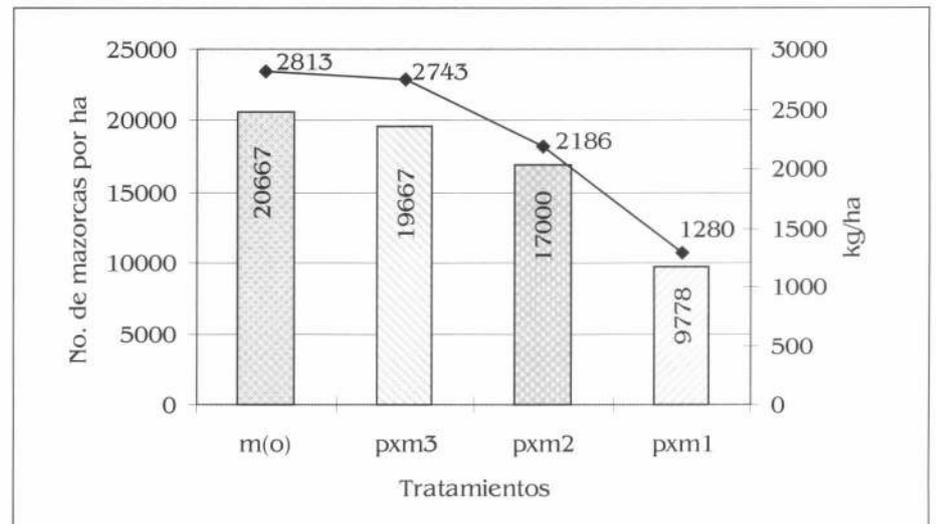


Figura 11. Producción promedio de maíz en No. de mazorca y kg por hectárea en la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba.

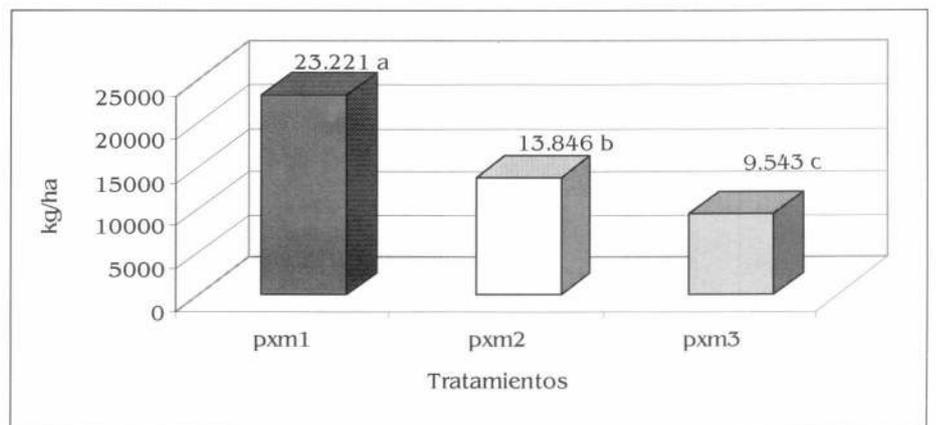


Figura 12. Rendimientos conjuntos totales de patilla y maíz en kg/ha, en la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba. Promedios en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de Hotelling al 5%.

mientos variaron de acuerdo con las densidades de siembra en cada tratamiento.

Análisis económico

Se tuvieron en cuenta los costos de producción, los beneficios netos y la rentabilidad de cada sistema de patilla y maíz evaluado, como también para los monocultivos tradicionales en el área de influencia del experimento. El mejor tratamiento evaluado fue pxm1, con unos beneficios netos por hectárea de \$2.598.680 y un índice de rentabilidad de 3,1, mientras que el menor fue m(o) con un beneficio neto de 656.380 \$/ha y un índice de rentabilidad de 1,0. En patilla tradicional se registraron unos beneficios netos de 1.169.980 \$/ha y un índice de rentabilidad de 1,3, superado por p(o), pxm1 y pxm2 evaluados (Fig. 13). En el índice de rentabilidad se presentaron diferencias altamente significativas entre pxm1 con los demás tra-

tamientos evaluados junto a patilla y maíz tradicional en monocultivo ($F= 17,57; df= 19, 12; P<0,01$). Es de anotar que los costos de producción en patilla en monocultivo tradicional se incrementan con el uso de insecticidas (insumo no utilizado en el experimento) y en la posible falta de optimización de las diferentes prácticas agronómicas del cultivo, al igual que en el maíz. Esto corrobora la aplicabilidad comercial de los asociados pxm1 y pxm2, como también del sistema de p(o) evaluado.

Uso equivalente de la tierra (UET)

Los tres asociados evaluados fueron más eficientes en el uso del recurso suelo que los monocultivos (Fig. 14), se presentaron diferencias altamente significativas en pxm1 con respecto a pxm3, p(o) y m(o) ($F= 30, df= 15, 9; P<0,01$). Pxm1 fue un 55% más eficiente en el uso del recurso suelo en comparación con p(o) y m(o), por tanto se

necesitarían 0,55 ha más de espacio o terreno al sembrar la patilla y el maíz en monocultivo. Este índice muestra la viabilidad de implementar la asociación de patilla con maíz en cultivos comerciales, en especial pxm1 donde se logra una óptima utilización del recurso suelo, recurso limitado en el área de influencia del estudio, en la que el sistema de asociación le genera al productor altos ingresos con la comercialización de la patilla y un bien básico para la alimentación como lo es el maíz.

Conclusiones

- Los diferentes asociados patilla con maíz estudiados afectaron la fluctuación poblacional y el daño de *D. balteata* y *A. gossypii* en patilla, así mismo a *S. frugiperda* en maíz y en menor medida a *D. balteata* en este último.
- De los asociados estudiados el que contribuyó con la disminución de la población y del daño *D. balteata* y *A. gossypii* en patilla fue pxm3, no obstante pxm2 y pxm1 presentaron esa tendencia con respecto al monocultivo.
- El asocio que mantuvo la población y el daño de *S. frugiperda* más bajo en maíz fue pxm1 con una reducción en un 55% de la población y en un 47% del daño fresco en este asocio con respecto al monocultivo; mientras que en pxm2 y pxm3 la población y el daño causado por este insecto presentaron valores similares al monocultivo.
- Los rendimientos mayores de patilla se presentaron en pxm1 con 21.941 kg/ha, seguido por p(o) con 20.460 kg/ha y el menor rendimiento en pxm3 con 6.800 kg/ha, entre los cuales la mayor cantidad de frutos de primera se obtuvo en pxm1 y la mayor cantidad de frutos de segunda la registró p(o).
- Los rendimientos en maíz aumentaron en forma proporcional a las densidades de siembra en cada tratamiento, con el mayor promedio en m(o) con 2.813 kg/ha y el menor en pxm1 con 1.280 kg/ha.

- El sistema de cultivo pxm1 registró los mayores beneficios netos con un índice de rentabilidad de 3,1 en comparación con el monocultivo de patilla que mostró un valor de 1,8; pxm1 también fue el más eficiente en el uso del recurso suelo con un uet de 1,55. Económicamente éste fue el mejor tratamiento, superó ampliamente a p(o) y m(o) evaluados y a los cultivos tradicionales de la zona de estudio, además que contribuyó con el manejo de los insectos plaga evaluados.

Literatura citada

ALTIERI, M. A. 1976. Regulación ecológica de plagas en agroecosistemas tropicales: Un ejemplo de mono y policultivos de maíz y frijol, diversificados con malezas. Tesis de Magister Sciencieae. Universidad Nacional - ICA, Bogotá. p. 76-83.

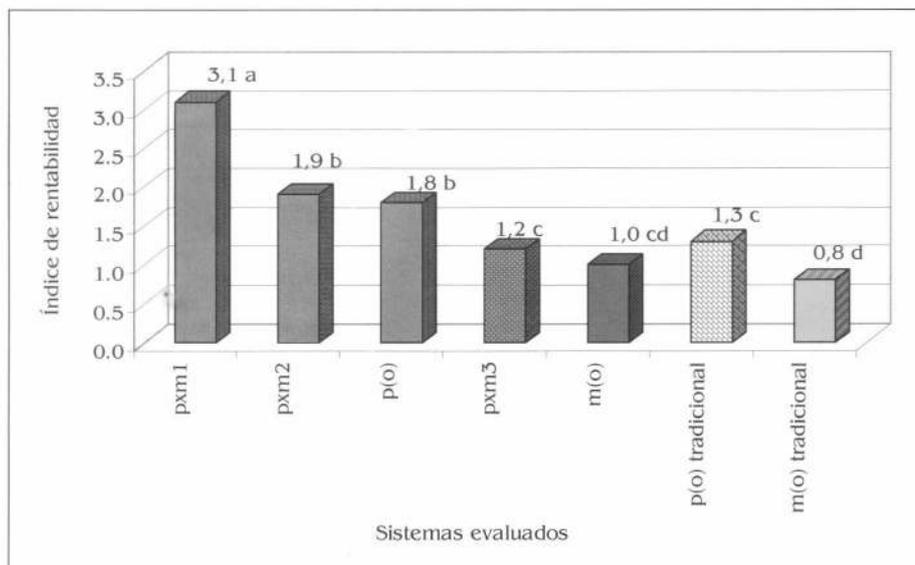


Figura 13. Índice de rentabilidad de los sistemas de patilla y maíz evaluados y de los monocultivos tradicionales de patilla y maíz, en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de Tukey al 5%

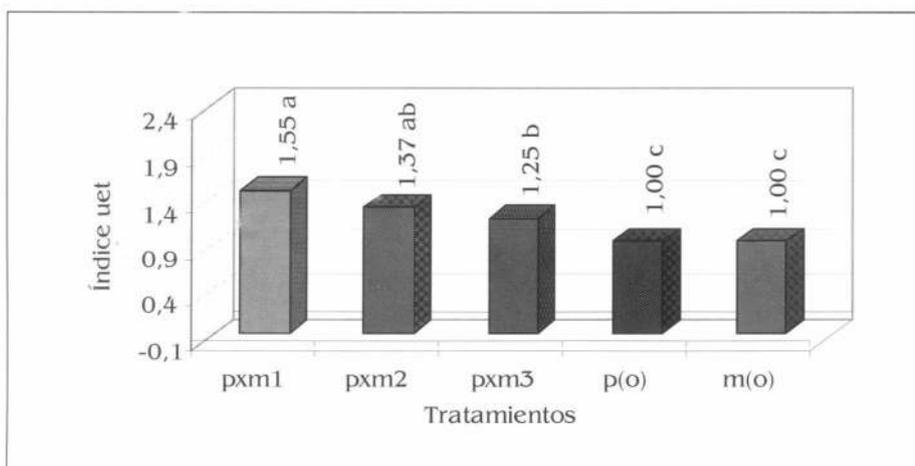


Figura 14. Uso equivalente de la tierra (uet) para los sistemas de patilla y maíz evaluados en la Ciénaga Grande de Lorica, Córdoba. Promedios en columnas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de Tukey al 5%

- ALTIERI, M. A. ; LEIBMAN, M. 1986. Insect, weed and plant disease management in multiple cropping systems. p. 184-203. En: Francis, A. (ed.). multiple cropping systems. Editorial Macmillan Publishing Company. New York, USA. 524 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO (CIMMYT). 1985. Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos. Un Manual Metodológico de evaluación Económica. CYMMYT, México. 83 p.
- CONTRALORÍA GENERAL DEL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA. 1999. Estudio de los Recursos Naturales y del Medio Ambiente. Montería - Córdoba. p. 15-40.
- GARCÍA, F.; MOSQUERA, T.; VARGAS, C.; ROJAS, L. 1999. Manejo integrado del gusano cogollero del maíz. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Boletín técnico No. 7. CORPOICA - PRONATTA. Palmira, Colombia. p. 2-3.
- HART, R. D. 1985. Conceptos básicos sobre agroecosistemas. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba - Costa Rica. p. 98-19.
- KING, A. B; SAUNDERS, J. L. 1984. Las plagas invertebradas de los cultivos anuales alimenticios en América Central. TDRI-CATIE. Costa Rica. 182 p.
- LEIHNER, D. 1983. Yuca en cultivos asociados: Manejo y evaluación. Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. Palmira, Colombia. p. 7-12, 58-72.
- LITTLE, T. M., HILLS, F. J. 1976. Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura. Limusa. México. 113 p.
- MORENO, B. A. 1990. Yuca y cultivos asociados: Uso del análisis bivariado para presentar, analizar e interpretar datos provenientes de cultivos asociados. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), Palmira, Colombia. p. 127-137.
- PERRIN, M. 1976. Pest management in multiple cropping systems. *Agroecosystem* 3 (2): 93-118.
- PULIDO, J. I.; LÓPEZ, C. 1973. Biología y algunas plantas hospedantes del cucarroncito de las hojas, *Diabrotica balteata* Lec. (Coleoptera: Chrysomelidae). Trabajo de Grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Facultad de Agronomía, Palmira. p. 50-52.
- ROOT, R. B. 1973. Organization of a plant-artropod association in simple and diverse habitats: The fauna of collars (*Brassica oleraceae*). *Ecol. Monogr.* 43 (1): 95-124.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO ECONÓMICO - SADECOR. 1999. Análisis de Coyuntura Agropecuaria. Montería - Córdoba. p. 27-30.
- TOBÓN C., J. H. 1997. Cultivos Asociados con Frijol en Colombia. FENALCE - SENA - SAC. Bogotá, Colombia. p. 5-15.
- VÉLEZ A., R. 1997. Plagas agrícolas de importancia económica en Colombia: bionomía y manejo integrado. Universidad de Antioquia, Ciencia y Tecnología. Medellín, Colombia. p. 67-97.

Recibido: Abr. 22 / 2003

Aceptado: Sep. 16 / 2003

***Corthylus* n. sp. (Coleoptera: Scolytidae), plaga del aliso en la cuenca de río Blanco en Colombia**

Corthylus n. sp. (Coleoptera: Scolytidae), pest of alder in río Blanco basin of Colombia

ZULMA NANCY GIL P.¹, ALEX E. BUSTILLO P.², DINA ESTELA GÓMEZ³, PATRICIA MARÍN M.⁴

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 171-178 (2004)

Resumen. En plantaciones de aliso, *Alnus acuminata* HBK, de la cuenca de río Blanco de Manizales, Caldas, recientemente se ha presentado el ataque de un insecto barrenador de troncos y ramas. El insecto realiza orificios y galerías especialmente en el tronco. A este daño están asociados hongos ambrosiales que causan pudrición de la madera y la muerte del árbol. Este trabajo describe los estados biológicos, el daño y los hongos asociados al barrenador, examinando especialmente los fustes de los árboles que presentaron ramas secas y poco follaje. El aislamiento de los hongos se realizó a partir de muestras obtenidas del interior de las galerías y del avance de la lesión en el árbol, incluyendo pruebas de patogenicidad en invernadero. El insecto fue identificado por el Dr. Stephen L. Wood como una nueva especie de *Corthylus* (Coleoptera: Scolytidae). Los hongos asociados al interior de las galerías se identificaron como: *Fusarium solani*, *Fusarium* sp., *Verticillium* sp. y una levadura que se asemeja a *Pichia* sp. En la lesión causada por el insecto se encontraron *F. solani* y *Ceratocystis* sp. Los resultados indicaron que *Corthylus* sp. está asociado en simbiosis con varios hongos ambrosiales y una levadura. Los hongos y la levadura hacen asimilable la madera al insecto y éste a su vez permite la invasión de estos organismos, causando finalmente la muerte del árbol. Adicionalmente, el insecto contribuye en la dispersión de los hongos en las plantaciones de aliso. Las pruebas de patogenicidad de los hongos *Ceratocystis* sp., *F. solani* y *Fusarium* sp., hechas en árboles de cinco meses y de cuatro años de edad fueron positivas, mostrando establecimiento y avance sobre la herida del tallo inoculado, obteniendo el mismo manchado observado en el campo.

Palabras clave: *Alnus acuminata*. Hongos ambrosiales. *Ceratocystis*. *Fusarium*.

Summary. In alder, *Alnus acuminata* HBK, plantations of the río Blanco basin, near Manizales, Caldas, the attack of an insect that bores into the trunk and branches of these trees was recently detected. The insect makes holes and galleries especially in the trunk. This damage is associated with ambrosia fungi that cause wood rot and death of the tree. This work describes the biological stages, the damage, and the fungi associated with the borer especially after examination of trees with dry branches and poor foliage. Isolation of the fungus was made with samples obtained from the interior of the galleries and from lesions on the tree, including pathogenicity tests in the greenhouse. The insect was identified by Dr. Stephen L. Wood identified as a new species of *Corthylus* (Coleoptera: Scolytidae). The fungi associated with the interior of the galleries were identified as *Fusarium solani*, *Fusarium* sp., *Verticillium* sp. and a yeast similar to *Pichia* sp. *Fusarium solani* and *Ceratocystis* sp. were found in the lesion caused by the insect. Results showed that *Corthylus* n. sp., has a symbiotic association with several ambrosia fungi and one yeast. These fungi and yeast make the wood available to the insect, and this allows invasion of these organisms, finally causing the death of the tree. Additionally, the insect contributes to the dispersal of the fungi in the alder plantations. The pathogenicity tests with *Ceratocystis* sp., *F. solani*, and *Fusarium* sp., using trees of five months and four years old, were positive, showing establishment and progression of the lesion in the inoculated stem, reproducing the same symptoms observed in the field.

Key words: *Alnus acuminata*. Ambrosia fungi. *Ceratocystis*. *Fusarium*.

Introducción

El aliso, *Alnus acuminata* HBK, es un árbol nativo de las zonas altas de América tropical, se encuentra distribuido desde México hasta el norte de Argentina. En Colombia crece entre los 1.700 y 3.300 msnm, encontrándose naturalmente en las zonas de vida bosque húmedo montano bajo (bh-MB), bosque muy húmedo montano bajo

(bmh - MB) y bosque pluvial o páramo pluvial montano (bp-M) en los departamentos de Caldas, Quindío y Risaralda, se adapta a temperaturas entre 8,5 y 18°C y precipitaciones anuales de 1.000 a 2.000 mm (Del Valle y González 1988). Este árbol es importante ya que suministra nitrógeno al suelo a través de bacterias nitrificantes, la hojarasca es de fácil descomposición con la consecuente produc-

ción de materia orgánica, haciéndolo recomendable para plantaciones protectoras y productoras -protectoras en cuencas hidrográficas (Muñoz 1971).

Recientemente las plantaciones de aliso localizadas en la cuenca de río Blanco, ubicada en el municipio de Manizales, Caldas, se han visto afectadas por un insecto barrenador de los troncos. Los ejemplares

1 Autor para correspondencia: Asistente de Investigación. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná. Caldas, Colombia. A. A 2427 Manizales. E- mail: zulma.gil@cafedecolombia.com.

2 Investigador Principal I. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná. Caldas, Colombia. E-mail: alex.bustillo@cafedecolombia.com.

3 Ing. Agr., Servicios Profesionales, Disciplina de ETIA, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná. Caldas. E-mail: dina.gomez@cafedecolombia.com

4 Bacterióloga, Servicios Profesionales Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná. Caldas, Colombia. E- mail: patricia.marin@cafedecolombia.com.

de este insecto, colectados en el interior de las galerías, se enviaron al Dr. Stephen L. Wood⁵, quien lo determinó como *Corthylus* n. sp. (Coleoptera: Scolytidae, Subfamilia: Scolytinae, Tribu: Corthylini), indicando que se trata de una nueva especie. Réplicas de estos especímenes se encuentran en el Museo Entomológico "Marcial Benavides" de Cenicafe y también reposan ejemplares en el Life Sciences Museum, Brigham Young University, Provo, EE.UU.

El daño producido por este insecto es considerable al causar una serie de orificios y galerías en el tronco. Asociado a este daño se observan hongos ambrosiales que causan pudrición de la madera y finalmente la muerte del árbol. Igualmente, estas galerías y orificios de penetración afectan la calidad de la madera.

En Colombia se han encontrado especies de *Corthylus* barrenando troncos y ramas de varias especies de guamo: *Inga spectabilis* Vahl, *Inga edulis* Mart, e *Inga* sp. Los estados causantes del daño son las larvas y los adultos (Posada 1989).

En México se registran varias especies de *Corthylus*: *C. nudus* Schedl atacando árboles de *Abnua acuminata* HBK, *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst., *Populus balsamifera* L., *P. deltoides* Bartr ex. Marsh y *Salix babylonica* L.; *C. detrimentosus* Schedl atacando *Arbutos xalapensis* H. B. K; *C. fuscus* Blandford en *Amelanchier denticulata* (H. B. K) Koch, *Pyrus communis* L. y *Crataegus* sp.; *C. mexicanus* Schedl en *Malus* sp. y *Salix* sp.; *C. spinifer* Schwarz en *Persea americana* Mill., *Spondias mombin* L., *S. purpurea* L. y *Theobroma cacao* L. (Cibrian et al. 1995). En Brasil se ha encontrado la especie *C. convexicauda* en plantaciones de *Hevea brasiliensis* (HBK.) Muell. y *C. praealtus* en *Araucaria* sp. (Cibrian et al. 1995).

En Norte América existen sólo tres especies: *C. punctatissimus* (Zimmerman), *C. spinifer* Schwarz y *C. columbianus* Hopkins. *C. punctatissimus* ataca *Acer saccharum* en el sur de Ontario y Quebec; sin embargo, es plaga de muchos otros árboles forestales en el este de Estados Unidos. Su biología ha sido documentada por Finnegan (1967). Otra de estas especies, *C. spinifer*, se ha registrado en la Florida atacando plantaciones de *Quercus* sp. La especie *C. columbianus*, causa daños importantes en numerosas especies de madera dura en el este de Estados Unidos, su biología y asociación simbiótica con hongos ambrosiales ha sido estudiada en detalle por Kabir y Giese (1966a, 1966b) y Giese (1967).

La literatura indica que entre los insectos que revisten importancia económica en *A. acuminata* se encuentran defoliadores como: *Nodonota irazuensis* y *Nodonota caparvula* (Coleoptera: Chrysomelidae).

Durante la estación seca se ha observado en Costa Rica un perforador del tronco *Scolytodes alni* Wood (Coleoptera: Scolytidae), este insecto causa los daños más severos en los fustes y ramas a nivel del líber (Arguedas et al. 1997). En Colombia se registran ataques de defoliadores del aliso en el departamento de Caldas. Bustillo y Villegas (1986a) hallaron el "picudito del aliso", *Bothynodontes* sp. (Coleoptera: Curculionidae), defoliando árboles de tres años de edad en la cuenca de río Blanco. En otras zonas de Caldas también se registraron defoliaciones severas causadas por el medidor, *Oxydia olivata* (Dognin) (Lepidoptera: Geometridae); esta especie fue mantenida bajo control con la introducción del parásito de huevos, *Telenomus alsophilae* (Viereck) (Hymenoptera: Scelionidae) (Bustillo y Villegas 1986b).

Aunque no hay registros de ataques de coleópteros ambrosiales y de la corteza en plantaciones de aliso en Colombia, en los últimos años se ha observado un aumento de las poblaciones de esta especie de Scolytidae identificada como *Corthylus* n. sp., atacando árboles de distintas edades y de regeneración natural en la cuenca del río Blanco cerca a Manizales.

Los insectos de la familia Scolytidae constituyen un serio problema en forestales y frutales y son muy poco conocidos, especialmente por su tamaño pequeño (rara vez sobrepasan los 5 mm); además, pasan su vida dentro de ramas, troncos, peciolo de hojas, e incluso semillas. Construyen galerías de formas curiosas, tan características que por ellas se puede deducir la identidad de una tribu o género en particular. Su hábito barrenador es favorecido por la forma cilíndrica y alargada del cuerpo, así como por mandíbulas sumamente fuertes (Wood et al. 1991).

Otras de las características de esta familia es su ataque a una parte específica del hospedante. Algunas especies lo confinan a los conos o frutos de árboles, ramas delgadas, troncos pequeños, corteza, raíces o troncos recién caídos. Sin embargo, otras son muy agresivas y logran afectar tejido sano y vivo. Por lo general, los árboles que crecen en condiciones desfavorables, son más susceptibles al ataque de este grupo de barrenadores (Wood et al. 1992).

De acuerdo con el tipo de colonización, los Scolytidae se pueden agrupar en: espermófagos, se alimentan de semillas o de la cubierta más externa que las cubre; mielófagos, se alimentan de la médula de enredaderas; floeófagos, infestan el floema y xilomicetófagos, barrenadores de madera que tienen relaciones simbióticas con hongos del tipo "ambrosia". Estos últimos representan el grupo más especializado en cuanto a selección del hospedante, debido a que inicialmente se alimentan de la madera y luego de las esporas de los hongos

ambrosiales que crecen en las galerías hechas por el insecto adulto. Por lo tanto, la relación simbiótica hongo/insecto permite el desarrollo del hongo dentro de los orificios hechos en el árbol (Beaver 1989).

Estos hongos mutualistas los llevan los adultos de los insectos en invaginaciones de su integumento que se denominan micangias o micetangias, las cuales pueden tener gran variedad de formas y sirven para el almacenamiento, transporte y cultivo de estos hongos. Estas invaginaciones se pueden presentar en la cabeza, tórax ó en los élitros de estas especies de Scolytidae (Batra 1963; Francke-Grossmann 1963; Six y Paine 1996; Furniss et al. 1987). El hongo crece saprofitamente en las galerías de cría que hacen en la madera y puede llegar a matar el árbol; sus esporas contaminan los adultos que emergen del árbol hospedero, para luego transmitirlos a árboles sanos.

La especie *Corthylus columbianus* Hopkins, plaga muy importante de muchos árboles forestales en el este de Estados Unidos, es un coleóptero ambrosial que se encuentra en simbiosis con varios hongos que lleva en su micangia y crecen en los túneles ó galerías que fabrica en los árboles, las larvas de este insecto se alimentan de estos hongos. El macho adulto inicia el ataque en los árboles y posee un par de micangias localizadas debajo del integumento del pronotum, una en cada lado de la región ventrolateral (Giese 1967). De estas micangias se lograron aislar y cultivar una levadura, *Pichia* sp. y los hongos *Ceratocystis* sp., *Fusarium solani*, *F. tricinctum*, *F. oxysporum* y *Graphium* sp. (Kabir y Giese 1966b).

Los hongos *Ceratocystis* y *Fusarium* se han encontrado asociados al ataque de muchos insectos ambrosiales especialmente de la familia Scolytidae, ocasionando marchitamientos, manchados vasculares y chancros, como es el caso de la muerte descendente en nogal negro *Juglans nigra*, enfermedad atribuida a *Fusarium lateritium* y *F. oxysporum* asociados al escarabajo ambrosial *Xylosandrus germanus* (Bonello et al. 2001). *Fusarium circinatum* en *Pinus radiata*, causa la enfermedad del chanco resinoso, donde se han identificado insectos vectores como escarabajos del género *Pityophthorus* (Coleoptera: Scolytidae), además las heridas hechas por el gorgojo *Pissodes nemorensis* y la polilla *Rhyacionia subtropica* ayudan al establecimiento del hongo porque las esporas presentes en el aire infectan las heridas frescas (Gordon et al. 2001). Morse y Blanchette (2002) mencionan a *F. solani* como el principal colonizador de heridas frescas en *Acer negundo*, más no como el agente causal del manchado rojo, por la inhabilidad del hongo para reproducir la lesión y atribuyen las áreas localizadas del manchado rojo frecuentemente encontra-

5 Comunicación personal. Dr. Stephen L. Wood, Brigham Young University, 290 MLBM, PROVO, UTAH 84602, USA., e-mail: secretary@museum.byu.edu

das alrededor de la herida como producto de la oxidación de las células del árbol en donde se producen fenoles.

Krokene y Solheim (1998) confirman la asociación entre *Ips typographus* y *Ceratocystis polonica* en *Picea abies*, los cuales producen muerte de árboles por ataque en los haces vasculares y cambium, caracterizado por un manchado azul. *Ceratocystis fimbriata* en cacao, mango y eucalipto, presenta ataques asociados a insectos perforadores de la madera como *Xyleborus* sp., ocasionando muerte descendente en los árboles (Wingfield et al. 1993).

En este grupo de insectos, la habilidad para localizar un hospedante depende en gran medida de la capacidad de vuelo, en donde intervienen factores primarios en la atracción que ejercen sobre los organismos las oleoresinas, terpenos, alcoholes y otras sustancias emitidas por el tejido recién cortado o muerto (Wood et al. 1992). Por esta razón, el uso de trampas con alcoholes puede ser una herramienta promisoría para detectar su presencia y monitorear su abundancia a través del tiempo.

El objetivo de este trabajo fue describir los estados biológicos, el daño y los hongos ambrosiales asociados a la especie *Corthylus* n. sp., encontrada atacando plantaciones de aliso.

Materiales y Métodos

Este trabajo se realizó en la cuenca hidrográfica de río Blanco. Esta cuenca hace parte de la vertiente occidental de la cordillera central de los Andes Colombianos, pertenece al municipio de Manizales y se encuentra a 3 km del casco urbano. Es una reserva natural protectora con gradientes altitudinales entre los 2.240 y los 3.790 m y una extensión de 4.343 ha. La pluviosidad promedio al año es de 2.500 mm y la temperatura promedio es de 11°C. La vegetación predominante son las plantaciones de aliso, que alternan con vegetación natural secundaria. En la reserva se tienen sembradas 795 ha de esta especie que ha sido establecida desde 1952, encontrando árboles de diferentes edades y de regeneración natural. Además, presenta abundante biodiversidad y es zona de protección de las fuentes hidrográficas que proporcionan el 30% del agua que utiliza el municipio de Manizales para suplir sus necesidades básicas.

Muestras del insecto. Para recolectar las muestras se recorrió la cuenca de río Blanco y las áreas más afectadas durante mayo de 2002. Para detectar síntomas de ataque como: exudado, perforaciones circulares en la corteza o acumulación de aserrín, se examinaron los fustes de los árboles que presentaban ramas secas y poco follaje. Posterior a este reconocimiento, se cortaron cinco árboles de regeneración

natural y de 22 años de edad, se seccionaron en piezas de un metro de longitud, las cuales se dispusieron en bolsas plásticas selladas apropiadamente para trasladarlas al laboratorio.

Se realizaron cortes longitudinales utilizando una sierra sinfin para extraer los diferentes estados de los insectos y registrar el patrón de las galerías. Los estados inmaduros encontrados (larvas y pupas) se preservaron en una solución de alcohol al 70% más glicerina. Los adultos se dispusieron en alfileres entomológicos, parte de éstos se enviaron al Dr. Stephen L. Wood de la Universidad de Brigham Young, para la identificación de la especie y los ejemplares restantes se guardaron en el museo entomológico Marcial Benavides de Cenicafé. Los diversos estados del insecto y el daño causado se registraron fotográficamente. De igual manera, se colectaron otros insectos asociados a este árbol en las muestras analizadas.

Reconocimiento e identificación de los patógenos encontrados. Se hizo una revisión sanitaria de la plantación de aliso; una vez observada la relación del ataque del insecto con la presencia de síntomas en el árbol, se tomaron muestras de tallos afectados y sanos, además se llevó registro fotográfico de lo encontrado en el campo.

Una parte de las muestras se dejó en cámara húmeda en condiciones de laboratorio y se observaron partes del tejido afectado en el estereoscopio y microscopio. Para el aislamiento de los hongos en medio de cultivo, se tomaron muestras de tallo (0,5 cm de longitud) del interior de las galerías y del avance de la lesión y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,05% y alcohol al 70% (sumergidos durante un minuto en cada solución), y luego se secaron las muestras con toallas de papel esterilizadas y se sembraron en cajas de Petri con PDA (Papa Dextrosa Agar + Tiamina 5 mg/l de medio), realizando repiques cada 5 - 6 días en PDA y Agar Extracto de Malta + Tiamina 5 mg/l de medio.

Una vez se obtuvieron los hongos purificados, se describió su morfología observando las estructuras en el microscopio y midiendo cada una de ellas con un micrómetro (25 mediciones en micras por cada estructura). La identificación del género de los hongos se hizo por comparación utilizando las claves de Barnett y Hunter (1998) y Hanlin (1990). Adicionalmente, se enviaron muestras al FABI (Forestry and Agricultural Biotechnology Institute) al estudiante de doctorado Mauricio Marín quien, mediante la secuenciación de microsátélites, identificó una de las especies de *Fusarium* encontrada tanto en las galerías como en el avance de la lesión y al Dr. Harry Evans del CABI Biosciences quien identificó el género *Verticillium* sp.

Se llevaron a cabo pruebas de patogenicidad en el invernadero y en el campo. En invernadero se utilizaron árboles de aliso de cinco meses de edad. Se realizaron dos tipos de inoculación, considerando que los hongos aislados están asociados a heridas hechas en el tallo por el insecto. Una herida en forma de U invertida a 20 cm del tallo con un bisturí desinfectado en alcohol al 90% y flameado, luego se inoculó una porción de 5 mm² del crecimiento del hongo en medio de cultivo. La otra fue una punción en el tallo de 1 cm de profundidad hecha con una pinza estéril que se inoculó con una suspensión de esporas de cada hongo aislado. La concentración usada de *F. solani* fue de 2,3 x 10⁶ microconidias/ml, de *Fusarium* sp. 2,5 x 10⁶ microconidias/ml y de *Ceratocystis* sp. (anamorfo *Chalara* sp.) 1 x 10⁶ conidias/ml. Luego, sobre las punciones y heridas, se proporcionó un ambiente húmedo con algodón y agua destilada estéril, sellado con "parafil" durante 10 días. Como testigo se tuvieron cinco árboles, reemplazando el inóculo por agua destilada estéril. La evaluación de la infección se hizo 25 días después de la inoculación.

Para las pruebas de patogenicidad en el campo se utilizaron 10 árboles de cuatro años de edad, en los cuales se realizaron tres heridas en el tallo separadas por un metro de distancia de abajo hacia arriba. Las heridas se hicieron con un taladro desinfectado y flameado, luego se inocularon con una porción de 1 cm² de crecimiento del hongo en medio de cultivo (AEM). También se dispuso una cámara húmeda que permaneció por 10 días. Se realizaron revisiones periódicas de las lesiones desarrolladas por cada uno de los hongos inoculados; sin embargo, la evaluación final se hizo a los 90 días después de la inoculación. Se tuvieron dos árboles testigo con tres heridas cada uno, reemplazando el inóculo por agua destilada estéril.

Resultados y Discusión

Identificación del insecto

En cuanto a la identificación de la especie causante del daño existía confusión ya que Cárdenas (2000)⁶, la identificó como *Gnathotrichus* sp. (Coleoptera: Scolytidae). Moreno y Blandón (2002) identificaron estos ejemplares como *Amphicranus* sp. (Coleoptera: Scolytidae: Subf: Ipinae). Sin embargo, cuando estos especímenes, colectados en río Blanco en trampas de alcohol, se enviaron al Dr. Wood, fueron identificados como una nueva especie de *Corthylus*. Los especímenes objeto del presente estudio no corresponden a los anteriores, de acuerdo con el Dr. Wood son diferentes y también los considera una nueva especie de *Corthylus*. El género *Corthylus* es muy numeroso y de distribución Neotropical, registrándose más de 60 especies, muchas producen ataques seve-

6 Cárdenas M, R. 2000. Informe de la consultoría sobre un insecto que está atacando los alisos en la reserva de río Blanco. División de recursos naturales - Aguas de Manizales, Manizales, Caldas 4 p.

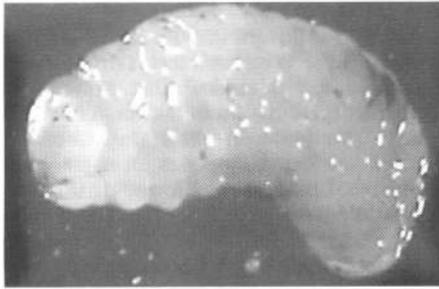


Figura 1. Larva de *Corthylus* n. sp.

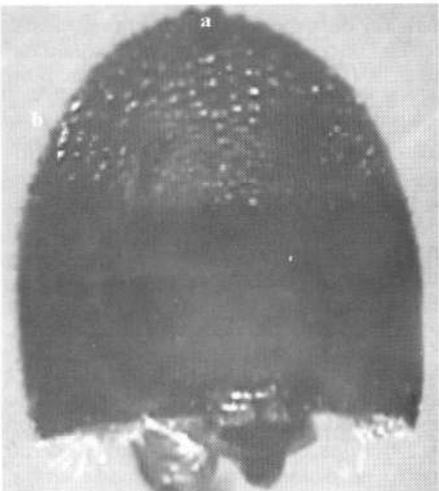


Figura 2. Pronoto de *Corthylus* n.sp. **a.** Dientecillos en el área superior. **b.** Líneas laterales de dientecillos.

ros en árboles vivos durante varias generaciones sin matar el huésped.

Descripción del insecto

La larva es vermiforme, de color blanco, apoda y en forma de "C", con las mandíbulas esclerotizadas, la sutura epicraneal es gruesa en la parte terminal (Fig. 1). Se encuentra en las cámaras de cría que se forman al converger las galerías transversales. La pupa es blanca cremosa, típicamente exarata, mostrando las partes típicas de un escolítico, el lado dorsal superior de la mandíbula está bien marcado pero se va perdiendo gradualmente con su desarrollo. El adulto mide $3,0 \pm 0,1$ mm de largo y 1,16 mm de ancho. El cuerpo es robusto, la cabeza y el tórax son de color marrón a negro y en la parte anterior de los élitros presentan una mancha de color marrón - amarillo, el resto es marrón - negro, en las áreas superior y lateral del pronoto presenta líneas de dientecillos (Fig. 2a y 2b). El declive de los élitros es levemente cóncavo y de color rojo oscuro y no presenta gránulos o protuberancias (Figs. 3b y 4b).

La especie presenta dimorfismo sexual; las hembras tienen la fachada cóncava con setas cortas y abundantes (Fig. 3a), la clava de la antena es muy larga, con el margen anterior ornamentado por un mechón de setas largas (Fig. 3c). El macho presenta la fachada convexa, sin setas (Fig.

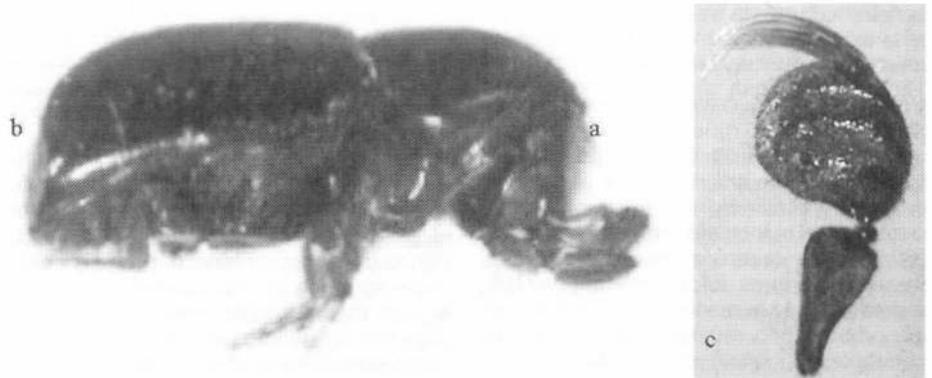


Figura 3. Hembra de *Corthylus* n. sp. **a.** Fachada cóncava y con setas. **b.** Declive de los élitros levemente cóncavo. **c.** Antena con la clava larga y el margen anterior ornamentado por un mechón de setas.

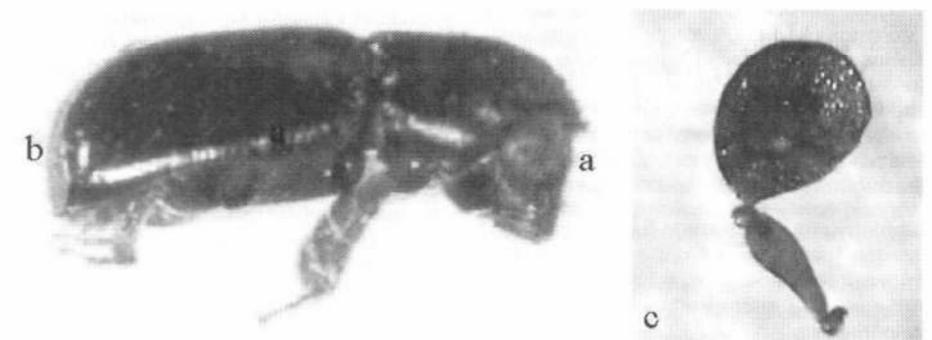


Figura 4. Macho de *Corthylus* n. sp. **a.** Fachada convexa y sin setas. **b.** Declive de los élitros levemente cóncavo. **c.** Margen anterior de la antena sin setas.

4a), la porra de la antena no porta mechón de setas como lo descrito para la hembra (Fig. 4c).

El color de las patas es marrón-amarillo. El lado posterior de las tibiae anteriores es engrosado y en el lado externo tiene más de dos dientes pequeños; lleva una espina en la base posterior de la tibia (Fig. 5).

Signos de ataque

Los árboles infectados no se diferencian claramente de los sanos; sin embargo, existen evidencias en el tallo para detectar el ataque. En el árbol se observan orificios de entrada, y un exudado que se produce

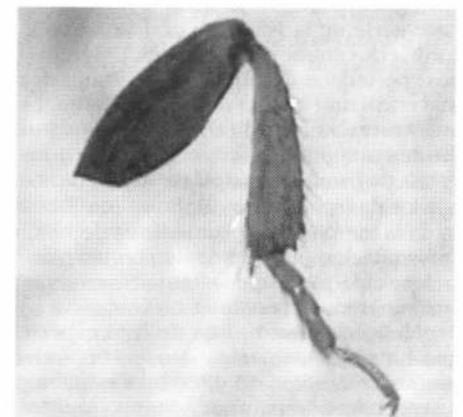


Figura 5. Pata anterior de *Corthylus* n. sp.

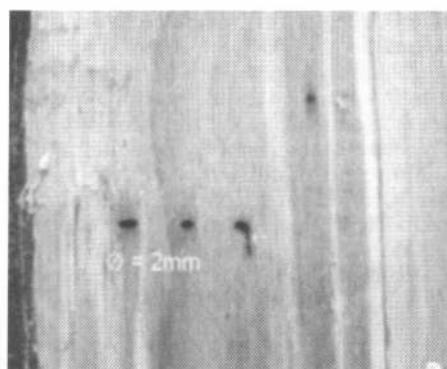


Figura 6. **a.** Orificios de entrada de *Corthylus* n. sp. **b.** Ramificación de la galería principal en dos o tres galerías perpendiculares al eje del tronco.

como reacción del árbol cuando el insecto realiza el orificio de penetración, además, ocurre una acumulación de aserrín blanquecino en la parte inferior del orificio de entrada.

Descripción del daño

El adulto realiza orificios de entrada redondeados de 2 mm de diámetro aproximadamente (Fig. 6a). La galería principal que hace el adulto se extiende en un plano horizontal, la cual se ramifica para crear las galerías de la progenie, las cuales pueden ser dos o tres perpendiculares al eje del tronco (Fig. 6b). Las galerías ramificadas convergen y forman cámaras, en éstas se observa mayor humedad y concentración de una masa negra, los huevos, larvas y pupas de *Corthylus* se encuentran en ellas. Los adultos emergen de las galerías realizadas por los padres.

Importancia del daño

El insecto ataca el fuste de árboles vivos, de distintas edades y de regeneración natural. El daño mayor que causan es el manchado de la madera al introducir y transportar el hongo ambrosial que ocasiona la pudrición de la madera y finalmente la muerte del árbol (Fig. 7); en infestaciones severas los orificios y las galerías degradan la calidad de la madera.

Otros insectos asociados

Adicional a *Corthylus* n. sp., se registraron otros insectos asociados a estas plantaciones. Se encontró otra especie de *Corthylus* que de acuerdo con el Dr. Wood es diferente a la anterior y también es una nueva especie para la ciencia. También se observaron con frecuencia especímenes de *Platypus* sp. (Coleoptera: Platypodidae) en árboles en

decadencia. Asociados a hongos de la familia Polyporaceae ubicados en la base del tallo de los árboles se registró una especie de Coleoptera de la familia Cistidae⁵.

Identificación de los hongos fitopatógenos asociados al daño

Del interior de la galería del insecto se aislaron tres especies de hongos: *Fusarium solani*⁷, *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp.⁸, ade-

más, una levadura que de acuerdo con la morfología se asemeja a *Pichia* sp. (Kabir y Giese 1966b). En el avance de la lesión se aislaron *F. solani* y *Ceratocystis* sp. (Fig. 8).

La especie *F. solani*, (teleomorfo *Nectria haematococca*) presenta crecimiento rápido en medio PDA 3,53 mm/día, la colonia es de color crema a blanco de aspecto algodonoso, el reverso es color crema cla-



Figura 7. Aspectos generales de la plantación de aliso a. Plantación de *Alnus acuminata*. b. Árbol con inicio de síntomas. c. Árboles marchitos y defoliados d. Árboles descopados por el viento.

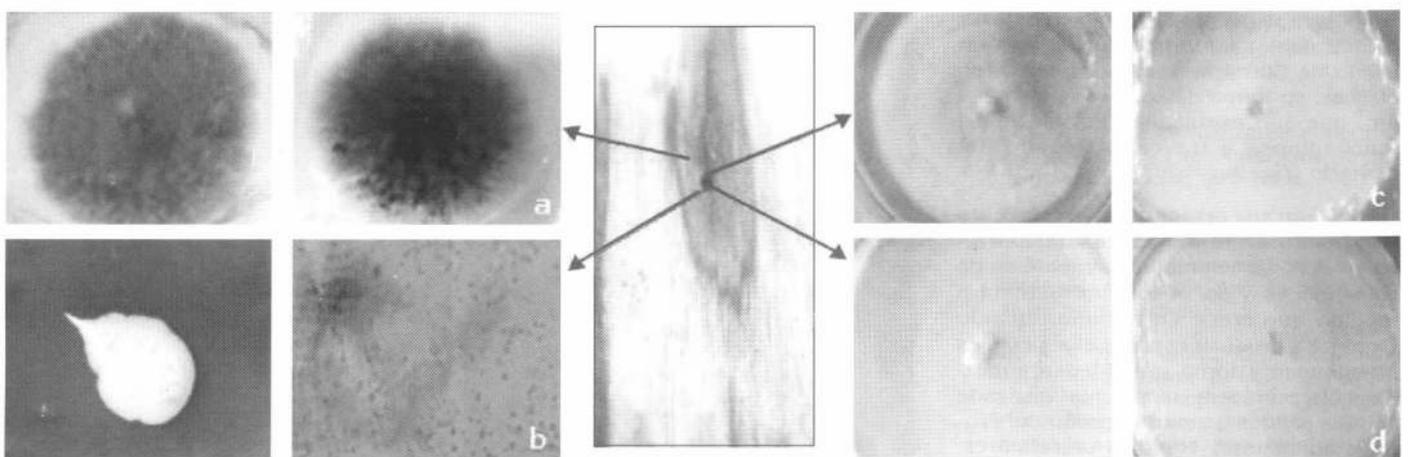


Figura 8. Hongos aislados de las galerías ocasionadas por *Corthylus* n. sp. en el tallo de aliso a. *Ceratocystis* sp. (anamorfo *Chalara* sp.) aislado del avance de la lesión. b. Levadura *Pichia* sp. aislada del interior de la galería c. *Fusarium solani* aislado del interior de la galería y avance de la lesión. d. *Fusarium* sp. aislado del interior de la galería.

7 Identificada por Mauricio Marín, estudiante de doctorado Universidad de Pretoria, Pretoria, Sudáfrica FABI (Forestry and Agricultural Biotechnology Institute), mediante la secuenciación de microsátélites

8 Identificada por el Dr. Harry Evans. Research Group Co-ordinator. Biological Control of Weeds and Plant Diseases. CABI Biosciences (Ascot). Silwood Park Ascot, UK.

ro. Produce abundantes microconidias unicelulares, hialinas, de forma ovalada y cilíndrica de $11 \times 5 \mu\text{m}$ en microconidióforos ramificados con filíidas simples que nacen en la parte lateral de la hifa; posee macroconidias multicelulares (3 -5 tabiques), hialinas, en forma de canoa o curvadas, de $19 \times 5 \mu\text{m}$, con célula apical corta y redondeada y célula basal redondeada que termina en forma de pie, producidas en conidióforos cortos y ramificados. Las clamidosporas son globosas de pared celular lisa, de $5,2 \times 5 \mu\text{m}$, se observan en forma individual o en cadenas terminales cortas.

Fusarium sp. presenta un crecimiento de $3,53 \text{ mm/día}$, la coloración de la colonia en medio PDA es de color rojizo claro la que al cabo de 20 días se torna más intensa, además de percibirse un olor a levadura en el cultivo. Sus microconidias son hialinas, bicelulares, elipsoidales de un tamaño aproximado de $8,3 \times 4,8 \mu\text{m}$, son producidas en filíidas simples, conidióforos ramificados y pocas veces simples. Las macroconidias son menos frecuentes en forma de media luna con 3-5 septos, de $19 \times 5 \mu\text{m}$, producidas en esporodocios laterales a la hifa. Las clamidosporas son globosas de $6 \times 4,5 \mu\text{m}$ y de pared lisa.

Del hongo *Ceratocystis* sp. sólo se logró purificar su estado anamorfo *Chalara* sp. La colonia en el medio agar extracto de malta, es de color gris oscuro de crecimiento lento $1,38 \text{ mm/día}$, se percibe en la colonia un olor a fruta (banano). El micelio es septado, de color oscuro, produce conidias hialinas (endoconidias) de $22 \times 5,3 \mu\text{m}$ en conidióforos con filíidas simples. Posee clamidosporas en cadenas o individuales, de $15 \times 12 \mu\text{m}$. El estado teleomorfo presenta peritecios globosos de color negro o marrón oscuro de cuello largo, la base del peritecio mide alrededor de 172 (largo) \times $115 \mu\text{m}$ (ancho), con un cuello de $600 \mu\text{m}$. Las ascosporas son hialinas, en forma de sombrero, de $7 \times 5 \mu\text{m}$, que son expulsadas en una masa mucilaginosa a través del cuello del peritecio (Fig. 9).

Verticillium sp. presenta un crecimiento lento tanto en el medio de cultivo SDA como PDA. La colonia inicialmente es de color blanco y se va tornando crema a medida que crece en tamaño; cuando empieza a producir esporas el aspecto es algodonoso y toma tonalidades amarillas. El reverso de la colonia va desde colores pálidos a amarillo profundo. Produce abundantes conidias unicelulares, hialinas, con formas cilíndricas que miden entre 3 y $6 \mu\text{m}$ y formas ovaladas que miden entre $3 \times 7,5 \mu\text{m}$ hasta $6 \times 10,5 \mu\text{m}$ y se observan agrupaciones de conidias muy características de este género. Las hifas son hialinas, delicadas, de tamaño variable de las que se desprenden de dos a tres filíidas que representan su forma verticilada. No se observaron clamidosporas.

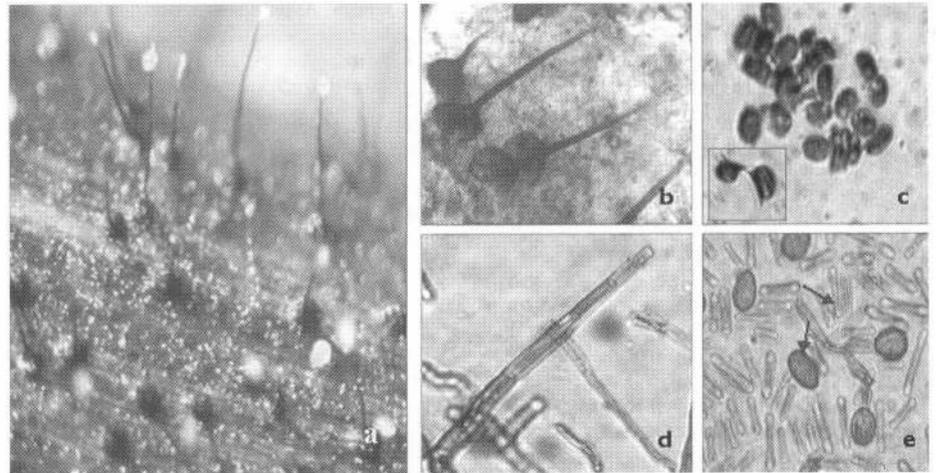


Figura 9. a. Peritecios de *Ceratocystis* sp. sobre el tejido afectado. b. Peritecios. c. Ascosporas. d. Conidióforo del estado anamorfo *Chalara* sp. e. Conidias y clamidosporas.

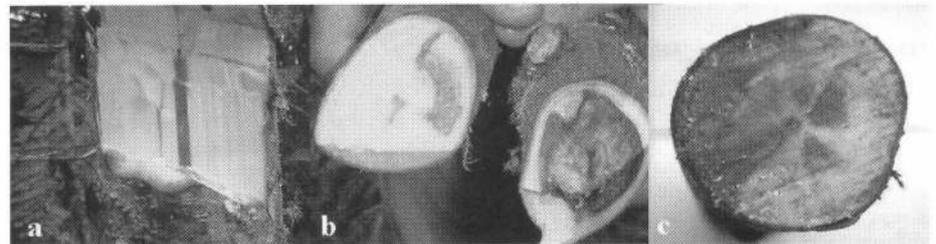


Figura 10. Manchado de la madera producida por el hongo ambrosial. a. Manchado de color café rojizo que avanza longitudinalmente de acuerdo con la galería. b. Lesión de color café que afecta directamente tejidos del parénquima en la albura del tronco. c. Lesión en forma de rayado en el xilema. Cortesía Dr. Ben Chang.

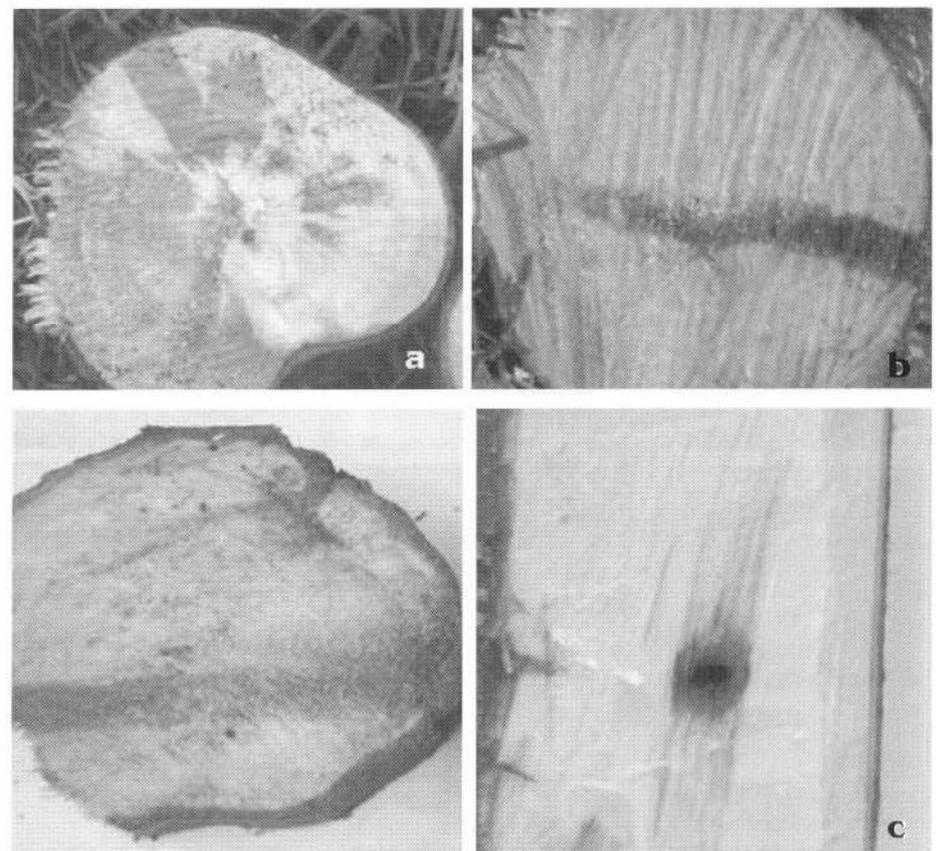


Figura 11. Prueba de patogenicidad. a. Infección con *Ceratocystis* sp. a los 90 días después de la inoculación. b. Infección desarrollada por *Fusarium solani* y *Fusarium* sp. c. Testigo (herida).

La levadura registrada que se asemeja a *Pichia* sp. presenta un crecimiento lento en los medios de cultivo SDA y PDA, el aspecto de la colonia es cremoso y de forma irregular. Las esporas varían en tamaño desde 3 hasta 9 μm .

Lesiones causadas por los hongos

Se encontraron tres tipos de lesiones en el tallo relacionados con la herida hecha por el insecto, un manchado de color marrón rojizo que avanza longitudinalmente de acuerdo con la galería, afectando los haces vasculares y las células del parénquima. Esta lesión fue la más frecuente en el campo, de la cual se aislaron las dos especies de *Fusarium* y *Ceratocystis* sp. Una lesión de color marrón que afecta directamente tejidos del parénquima en la albura del tronco y otra lesión en forma de rayado en el xilema. De estas dos últimas lesiones se aisló solamente *Ceratocystis* sp. (Fig. 10a, 10b y 10c). Es importante anotar que no se observaron otras especies de árboles con esta última sintomatología.

Las pruebas de patogenicidad de los hongos asociados a *Corthylus* n. sp. en el invernadero mostraron un establecimiento y avance superficial, observándose el manchado encontrado en el campo; solo en el 40% de los árboles inoculados con *Fusarium solani* se logró obtener avance de la lesión hacia el interior de la herida, esto señala que existe una estrecha relación entre el insecto y el hongo o que existen otros factores que intervienen en el establecimiento del hongo en la galería. La herida del testigo no presentó manchado, y comenzó a cicatrizar. Los hongos inoculados fueron reaislados y repicados en medio de cultivo PDA y AEM.

Al realizar las pruebas de patogenicidad en el campo se obtuvo el establecimiento de los patógenos y el desarrollo de las lesiones características de cada hongo. Las especies de *Fusarium* desarrollaron lesiones superficiales de color rojizo con avance longitudinal (Fig. 11).

Las lesiones características de *Ceratocystis* sp. fueron de color marrón oscuro o gris, con avance longitudinal de 38 - 55 cm a los 45 ddi; sin embargo, a los 90 días después de la inoculación, la infección de este hongo fue la única que avanzó en forma transversal en el tallo afectando el xilema y el cambium, replicando las lesiones más frecuentes encontradas en el campo; señalando así que el ataque de *Corthylus* n. sp. en asociación con el hongo *Ceratocystis* sp. ocasiona la marchitez y muerte del árbol. Esto concuerda con la biología y comportamiento de este hongo registrados en otras especies forestales. Se considera que el insecto es un medio importante de dispersión de este patógeno; sin embargo, es necesario determinar la relación del hongo y el insecto y las condiciones para que el patógeno finalmente provoque la muerte del árbol. Los hongos del género *Fusarium* son invasores secundarios.

Los signos del ataque y el comportamiento de *Corthylus* n. sp., son muy similares a los registrados por Kabir y Giese (1966a) para *Corthylus columbianus* en Norte América. Ellos también registraron los hongos *Ceratocystis* sp., *F. solani* y *Fusarium* sp. y una levadura del género *Pichia*, asociadas a las galerías realizadas por este insecto.

Conclusiones

- Las observaciones de campo y de laboratorio constataron la presencia de una nueva especie de *Corthylus* atacando las plantaciones de aliso en la reserva forestal de río Blanco. Estos insectos están asociados en simbiosis con varios hongos como *F. solani*, *Fusarium* sp. y *Ceratocystis* sp. y una levadura. Los hongos y la levadura permiten la supervivencia del insecto y éstos, a su vez, colaboran con la invasión de los hongos, causando finalmente la muerte del árbol.

- Es importante continuar estudios para determinar la posible presencia de estructuras especializadas como la micangia en estos insectos, para el transporte y diseminación de los hongos. También se hace necesario adelantar estudios sobre el impacto del insecto en esta reserva y desarrollar estrategias de manejo silvicultural que reduzcan la incidencia de la plaga y eviten el deterioro de la cuenca de río Blanco.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al Dr. Stephen L. Wood especialista en la familia Scolytidae y profesor emérito de la Universidad de Brigham Young (Provo, EE.UU), por la identificación de las especies. Al Dr. Harry Evans por la asistencia en la identificación de los hongos. A Aguas de Manizales por la colaboración en la ejecución del trabajo. A Cenicafé por proporcionar el tiempo de sus investigadores y de su infraestructura de laboratorios para llevar a cabo esta investigación.

Literatura citada

- ARGUEDAS, M.; HILJE, L.; QUIROS, L.; CHAVERRI, P.; SCORZA, F.; ARAYA, C. 1997. Catálogo de plagas y enfermedades forestales en Costa Rica. Segunda edición. Programa Interinstitucional de Protección Forestal PIPROF, Cartago, 92 p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, APS Press, 218 p.
- BATRA, L. R. 1963. Ecology of ambrosia fungi and their dissemination by beetles. Trans. Kansas Acad. Sci. 66: 213-236.
- BEAVER, R. A. 1989. Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. En: Wilding, N.; Collins N. M.; Hammond P. M.; Webber J. F. (eds.) Insect - Fungus interactions. Academic Press, New York, Chap. 5, p. 121-143.
- BONELLO, P.; MCNEE, W. R.; STORER, A. J.; WOOD, D. L.; GORDON, T. L. 2001. The

role of olfactory stimuli in the location of weakened hosts by twig-infesting *Pityophthorus* sp. Ecological Entomology 26 (1): 8-15.

- BUSTILLO, A. E.; VILLEGAS, M. C. 1986a. El picudito del aliso *Bothynodontes* sp. (Coleoptera: Curculionidae) nueva plaga de forestales en Caldas, Centro de Entomología Forestal, Manizales. Apuntes Entomológicos No. 02, 3 p.
- BUSTILLO, A. E.; VILLEGAS, M. C. 1986b. Recomendaciones para la producción masiva de *Telenomus alsophilae* en huevos de *Oxydia trychiata*. Centro de Entomología Forestal, Manizales. Apuntes Entomológicos No. 03, 5 p.
- CIBRIAN T., D.; MÉNDEZ M., J. T.; CAMPOS B., R.; YATES III, H.O.; FLORES L., J. E. 1995. Insectos forestales de México. México, Universidad Autónoma de Chapingo, p. 382.
- DEL VALLE, J. I.; GONZALEZ, H. 1988. Rendimiento y crecimiento del cerezo (*Alnus jorullensis*) en la región central andina, Colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín. 41 (1): 61-90.
- FINNEGAN, R. J. 1967. Notes on the biology of the pitted ambrosia beetle, *Corthylus puntatissimus* (Coleoptera: Scolytidae), in Ontario and Quebec. Can. Entomol. 99: 49-54.
- FRANCKE-GROSSMANN, H. 1963. Some new aspects in forest entomology. Ann. Rev. Entomol. 8: 415-438.
- FURNISS, M. M.; WOO, J. Y.; DEYRUP, M. A.; ATKINSON, T. H. 1987. Prothoracic mycangium on pine-infesting *Pityoborus* sp. (Coleoptera: Scolytidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 80: 692-696.
- GIESE, R. L. 1967. The columbian timber beetle, *Corthylus columbianus* (Coleoptera: Scolytidae). V. A description of the mycetangia. Can. Entomol. 99: 54-58.
- GORDON, T. L.; STORER, A. J.; WOOD, D. L. 2001. The pitch canker epidemic in California. Plant Diseases 85 (11):1128-1139.
- HANLIN, R. T. 1990. Illustrated genera of ascomycetes. The American Phytopathological Society, APS Press. 263 p.
- KABIR, A. K. M. F.; GIESE, R. L. 1966a. The columbian timber beetle, *Corthylus columbianus* (Coleoptera: Scolytidae). I. Biology of the beetle. Ann. Entomol. Soc. Amer. 59 (5): 883-893.
- KABIR, A. K. M. F.; GIESE, R. L. 1966b. The columbian timber beetle, *Corthylus columbianus* (Coleoptera: Scolytidae). II. Fungi and staining associated with the beetle in soft maple. Ann. Entomol. Soc. Amer. 59 (5): 894-902.
- KROKENE, P.; SOLHEIM, H. 1998. Pathogenicity of four blue-stain fungi associated with aggressive and nonaggressive bark beetles. Norwegian Forest Research Institute, The American Phytopathological Society, Phytopathology 88: 39-44.
- MORENO B., H.; BLANDON, T. E. 2002. Insectos dañinos asociados a plantaciones de roble (*Tabebuia rosae*) y aliso (*Alnus*

- acuminata*) en los departamentos de Magdalena, Córdoba y Caldas. Boletín de protección forestal plagas/control biológico. Conif, Bogotá, p. 28-32.
- MORSE, A.; BLANCHETTE, R. 2002. Etiology of red stain in boxelder *Acer negundo*. Department of plant pathology, University of Minnesota, St. Paul, Plant Management Network, 17 september, 2002.
- MUÑOZ, V. M. 1971. Apuntes sobre generalidades y manejo de plantación de *Alnus jorullensis* H. B. K. Informe presentado al III Foro de Corporaciones Forestales Manizales, Colombia, Septiembre 22-26. p. 5-6.
- POSADA O., L. 1989. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Bogotá, Boletín técnico No. 43, 662 p.
- SIX, D. L.; PAINE, T. D. 1996. A technique for the introduction of fungi to bark beetle mycangia. *Journal of Entomological Science* 31: 466-468.
- WINGFIELD, M.; SEIFERT, K.; WEBBER, J. 1993. *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, ecology and pathogenicity. The American Phytopathological Society, Minnesota, 293 p.
- WOOD, S. L.; STEVENS, G. C.; LEZAMA, H. J. 1991. Los Scolytidae de Costa Rica: Clave de géneros y de la subfamilia Hylesinae (Coleoptera). *Revista de Biología Tropical* 39:125-148.
- WOOD, S. L.; STEVENS, G. C.; LEZAMA, H. J. 1992. Los Scolytidae (Coleoptera) de Costa Rica: Clave de la subfamilia Scolytinae, Tribu Corthylini. *Revista de Biología Tropical* 40: 247-286.

Recibido: Ago. 30/2003

Aceptado: Ene. 26/2004

Efecto de entomonemátodos sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), en frutos en el suelo

Effect of entomopathogenic nematodes on populations of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in berries on the soil

JUAN CARLOS LARA G.¹, JUAN CARLOS LÓPEZ N.², ALEX E. BUSTILLO P.³

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 179-185 (2004)

Resumen. Se estudió el efecto de dos entomonemátodos nativos, *Heterorhabditis* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) y *Steinernema* sp. (Rhabditida: Steinernematidae) en dosificaciones de 125.000, 250.000 y 500.000 Juveniles Infeccivos (JI) por plato del árbol sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. Durante la primera cosecha de café del año 2001, no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos en cuanto al nivel de infestación por broca en el árbol debido a la alta variabilidad del número de frutos con los que se inició el experimento. Para la segunda cosecha de café del año 2001, se encontraron porcentajes de mortalidad de broca con las dos especies entre el 53 y el 88%, un mes después de aplicación, siendo diferentes estadísticamente ($p < 0,05$) en relación con el testigo (6%). Cinco de los seis tratamientos evaluados presentaron porcentajes promedios de infestación por broca en el árbol (PPIA), inferiores al testigo $9,93 \pm 1,81$ (prom \pm E. E), destacándose las aplicaciones de *Steinernema* sp. (500.000 JI/plato) con una infestación por broca de $4,17 \pm 0,57$ y para *Heterorhabditis* sp. (250.000 JI/plato) con una infestación por broca de $5,62 \pm 1,24$. Esta reducción para cada uno de los casos equivale al 58 y 43,4%, respectivamente con relación al testigo. Dicha disminución puede explicarse, al observar los porcentajes de mortalidad promedios de estados de broca en frutos del suelo (PMB), que fluctuaron entre el 13,64 y el 42,27% para ambas especies de nemátodos. A los 30 días después de la aplicación, esta diferencia es notoria, encontrando diferencias significativas con el testigo ($p < 0,05$). En conclusión estos nemátodos penetran los frutos brocados en el suelo, parasitan principalmente estados inmaduros, se reproducen en estos insectos parasitados y reducen poblaciones de broca en los cafetales.

Palabras clave: *Steinernema*. *Heterorhabditis*. Juvenil infeccivo.

Summary. The effect of two native entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Steinernematidae) was studied in doses of 125.000, 250.000 and 500.000 infective juvenils (IJ) per tree base on populations of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. During the first coffee harvest of 2001, there were no statistical differences between treatments for infestation level in the tree due to the high variability of the number of fruits with which the experiment began. For the second coffee harvest of 2001, percentage of mortality of the coffee berry borer with the two species was 53 and 88%, a month after their application, statistically different ($p < 0,05$) in relation to the control (6%). Five of the six evaluated treatments had average percentages of borer infestation in the tree (PPIA) lower than the control $9,93 \pm 1,81$ (mean \pm S. E), particularly the applications of *Steinernema* sp. (500.000 IJ/plate) with a PPIA of $4,17 \pm 0,57$ and *Heterorhabditis* sp. (250.000 IJ/plate) with PPIA of $5,62 \pm 1,24$. This reduction is equivalent to 58 and 43,4%, respectively, in relation to the control. This reduction can be explained by observing the mean percentages of mortality of coffee berry borer life stages in fruits on the ground (PMB), which fluctuated between 13,64 and 42,27% for each species of nematodes. Thirty days after application, this difference is well established, with significant differences compared to the control ($p < 0,05$). In conclusion, these nematodes penetrate the fallen fruits on the ground, mainly parasitize immature stages and reproduce in these insects within the fruit to reduce the populations of coffee berry borer in coffee plantations.

Key words: *Steinernema*. *Heterorhabditis*. Infective juvenile.

Introducción

La broca del fruto del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) introducida a Colombia en 1988, es la plaga más importante que afecta el café. Actualmente infesta cerca de 800.000 hectáreas de café, afectando el patrimonio de más de medio millón de

familias cafeteras (Bustillo 2002). En Colombia, el café presenta múltiples floraciones (Camayo y Arcila 1997) como respuesta a las condiciones climáticas, lo cual causa que, en zonas como el eje cafetero, se encuentren durante todo el año frutos susceptibles de ser atacados, incrementándose considerablemente la

frecuencia de las aspersiones de insecticidas para su control (Vélez *et al.* 2000).

En condiciones favorables para la broca tales como presencia de frutos en el árbol y en el suelo, ausencia de enemigos naturales, alta humedad y disposición de frutos durante todo el año, ésta desarrolla su

- 1 Estudiante de Ingeniería Agronómica. Universidad de Caldas, Manizales. Trabajo de Grado. E-mail: JuanCarlos.Lara@cafedecolombia.com
- 2 Autor para correspondencia: Asistente de Investigación. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de café. Cenicafé - Plan Alto. Chinchiná, Caldas, Colombia. Tel: (850) 65 50. E-mail: JuanCarlos.Lopez@cafedecolombia.com
- 3 Investigador Principal I. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. E-mail: Alex.Bustillo@cafedecolombia.com

potencial biótico sin ninguna restricción (Le Pelley 1973; Urrelo *et al.* 1982). Por lo anterior, se considera que es la plaga de mayor importancia en el café, lo cual amerita su control debido a las grandes pérdidas que ocasiona (Bustillo *et al.* 1993). Los frutos infestados y que caen al suelo juegan un papel importante en la dinámica poblacional al albergar el insecto durante la época de escasez de frutos y poseer mayor humedad, ofreciéndole un buen refugio para su desarrollo (Bergamín 1944; Kraker 1988; Bernal *et al.* 1999). Salazar *et al.* (1993) afirman que la broca en estos frutos continúa desarrollándose para salir posteriormente y causar nuevas infestaciones.

En Colombia, se ha implementado un programa de Manejo Integrado de la broca del café, que involucra los componentes químico, cultural y biológico. El control químico no es la solución ya que su eficacia es reducida debido a que los productos aplicados no penetran en los frutos para matar los estados de la broca que permanecen en su interior (Bustillo 1991, 1995). El control cultural es una práctica que debe estar enfocada a realizar labores en el cultivo como: cosechar oportunamente los frutos maduros del árbol, retirar del cultivo todos los frutos secos y en los focos cosechar semanalmente todos los frutos brocados y si es posible los caídos alrededor de los árboles infestados, lo cual demanda una gran cantidad de mano de obra disponible (Bustillo 1991). El control biológico con parasitoides es una alternativa con alto potencial para el control de la broca; sin embargo, aún no es una opción fácil porque sus procesos de producción masiva son bastante costosos (Baker 1999).

Dentro del grupo de organismos considerados con potencial para el control de la broca en el suelo, están los entomonemátodos (EN) (Commonwealth Institute of Biological Control 1990; Bustillo 1991; Georgis y Hom 1992) destacándose las familias Steinernematidae, Heterorhabditidae, Allantonematidae y Mermithidae (Allard y Moore 1989; Hominick y Collins 1997; Smiths 1997) siendo consideradas las dos primeras como las más apropiadas para controlar plagas del suelo debido a sus hábitos crípticos (Georgis y Hom 1992). Estos organismos poseen una característica particular al estar asociados con bacterias entomopatógenas. Avances en la producción masiva, formulación y métodos de aplicación, han permitido considerarlos en programas de control contra insectos cuyo hábitat es el suelo (Georgis y Hom 1992; López 1999).

Los EN podrían sustituir a los insecticidas por el amplio número de insectos que pueden atacar, su seguridad y facilidad de aplicación y la ausencia de restricciones de registro en algunos países (Capinera y Epsky 1992).

Investigaciones realizadas en Cenicafé (López 1999; Molina y López 2002) en

condiciones de laboratorio e invernadero han comprobado el efecto patogénico de entomonemátodos de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae sobre diferentes estados de la broca del café. Bajo condiciones de campo no se conoce su comportamiento, por lo que la presente investigación se dirigió a averiguar la acción de dos nemátodos nativos encontrados previamente en ecosistemas cafeteros (*Heterorhabditis* sp. y *Steinernema* sp.) sobre poblaciones de la broca del café que se encuentra en frutos en el suelo.

Materiales y Métodos

El experimento se realizó en el laboratorio de Entomología de Cenicafé y en la Estación Central "Naranjal" en un lote de 696 m², correspondiente a una zoca de tres años con 432 plantas de café variedad Colombia sembradas a 1,5 x 1,0 m y con una pendiente aproximada del 20%.

Para la multiplicación de los entomonemátodos se utilizaron larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), de último instar, criadas en dieta artificial, la cual constaba de 150 ml de miel, 45 g de cera de abejas, 310 g de salvado de trigo y 150 ml de glicerina.

Se utilizaron frutos de café variedad Colombia de 190 días de desarrollo fisiológico, los cuales se infestaron artificialmente en la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafé en una proporción de cuatro brocas por fruto; estos frutos se desinfectaron previamente con el fin de reducir contaminación; para esto, los frutos se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 15 minutos. Luego los frutos se marcaron en un extremo con pintura para su fácil identificación en las distintas evaluaciones. Después de 30 días de la infestación, se tomó una muestra correspondiente al 10% de los frutos a utilizar en el experimento y se disecaron evaluando la proporción de estados con el fin de estimar la población inicial en los frutos colocados en el plato de cada árbol.

Los tratamientos (Tabla 1) fueron tres dosis de los dos entomonemátodos (125.000, 250.000 y 500.000 JI) en 300 ml de agua por árbol, aplicados por medio de un dispensador de agua, sobre frutos brocados colocados previamente en el plato del árbol (30 frutos brocados / árbol), coincidiendo con la presencia de frutos brocados en el plato del árbol después de

las cosechas. Como testigo se aplicó en cada plato del árbol el mismo volumen de agua (300 ml) utilizado en la aplicación de JI, pero sin nemátodos. Cada tratamiento constó de ocho unidades experimentales, en las cuales se evaluó la infestación y en los platos de los mismos se evaluó la mortalidad de los estados de broca. Para esto último, se retiraron cinco frutos al azar del plato de los árboles para ser disecados, cada 15 días (seis evaluaciones) hasta el inicio de la primera cosecha del año y cada 30 días hasta el inicio de la segunda cosecha.

La unidad experimental (U. E.) estuvo constituida por un árbol sobre el cual se colocó una jaula entomológica de 1,20 m. x 1,20 m. x 2,40 m., fabricada en PVC cubierta con muselina, la cual tenía en un extremo cinta velcro para facilitar el ingreso a la unidad experimental en la toma de datos. Al cubrir cada árbol con una jaula entomológica se permitía el paso de luz y aire, y por ser permeable se permitía el ingreso de agua cuando se presentaban las lluvias. El objeto de usar dicha jaula fue el de evitar el ingreso o el escape de broca de la U. E.

En cada U. E. se colectaron los frutos brocados del árbol, dejando únicamente los frutos verdes sin brocar. De la misma manera, se retiraron todos los frutos caídos en cada plato y luego se distribuyeron 30 frutos brocados. Este mismo procedimiento se repitió para la segunda parte del experimento.

Con los resultados parciales encontrados para la primera cosecha del año, se pudo determinar una variación alta para las variables evaluadas, lo que llevó a realizar algunas modificaciones para la segunda cosecha como: descope de los árboles, con el fin de evitar el daño de las jaulas, desrame de la parte inferior del árbol, puesto que estas ramas ya no eran productivas y dificultaban las evaluaciones, homogenización de la muestra dejando cada U. E. con un número similar de frutos y modificación del sistema de aplicación utilizando un frasco atomizador, con el cual se podían simular mejor las condiciones de una aspersión, pues se disminuía el tamaño de la gota.

Adicionalmente se quiso evaluar la persistencia de los nemátodos en el suelo, para lo cual se realizaron dos muestreos tan pronto como se terminaron las evaluacio-

Tabla 1. Tratamientos evaluados durante la primera cosecha de café del año

Tratamiento	Entomonemátodo	JI / 300 ml de agua por plato del árbol
T0	Testigo	0
T1	<i>Heterorhabditis</i> sp.	125.000
T2	<i>Heterorhabditis</i> sp.	250.000
T3	<i>Heterorhabditis</i> sp.	500.000
T4	<i>Steinernema</i> sp.	125.000
T5	<i>Steinernema</i> sp.	250.000
T6	<i>Steinernema</i> sp.	500.000

nes para las respectivas cosechas; es decir, a los 3 y 4 meses después de las aplicaciones. Para esto se colectaron muestras de suelo de las unidades experimentales donde se tenían los diferentes tratamientos y se realizó una prueba con larvas de *Galleria mellonella* en las cuales se observaba o no la infección por nemátodos. Para esto, en recipientes plásticos de 17,5 cm x 12,5 cm x 7,5 cm, se agregaron 800 g de suelo aproximadamente de cada tratamiento y con un 12% de humedad. En cada recipiente se colocaron cinco larvas de *G. mellonella* axénicas. Los recipientes se sellaron y 10 días después se examinaron las muestras. Las larvas con indicios de parasitismo se separaron y a cada muestra positiva se le realizó una disección, para confirmar que el parasitismo era producido por nemátodos. Luego se llevaron a cámaras secas y más adelante a cámaras modificadas tipo White (Fig. 1) para extraer los JI de los entomonemátodos y comparar si coincidían con las dos especies evaluadas.

Análisis estadístico

Las variables evaluadas en el experimento en la parte aérea del árbol fueron: porcentaje promedio de infestación por árbol y porcentaje de mortalidad de broca. Para evaluar el efecto de la aplicación de los JI en el plato del árbol se consideró la variable porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos en el suelo. Adicional a esta variable, se evaluó el porcentaje de ausencia y porcentaje de abandono de adultos de broca en estos frutos.

Para las dos etapas del experimento se utilizó el mismo análisis estadístico como se muestra a continuación: promedios y variación para las variables descritas por tratamiento, análisis de varianza de acuerdo con el modelo de análisis del diseño completamente aleatorio en arreglo factorial 3 x 3 + 1, prueba de comparación de Tukey al 5% para comparar los promedios de los factores por separado en caso de que la interacción fuera significativa y que el Anava mostrara efecto de ellos. Para el análisis de los resultados, los datos se transformaron con Log10. Dicha transformación se realizó en la primera parte del experimento en las variables porcentaje de infestación con el total de frutos y porcentaje de infestación con el total de frutos maduros brocados.

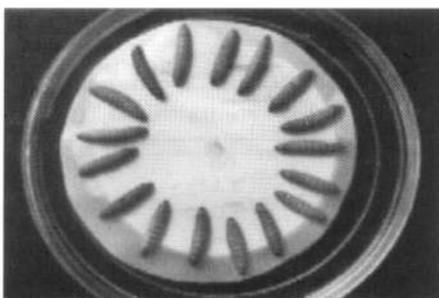


Figura 1. Trampa modificada tipo White utilizada para la emergencia de Juveniles Infeccivos.

Resultados y Discusión

Evaluación durante la cosecha de mitaca

Efecto de entomonemátodos sobre el desarrollo de la broca en frutos en el suelo. Durante la primera cosecha de café del año, al aplicar nemátodos entomopatógenos a frutos infestados con broca en el suelo, se observaron mortalidades con las tres dosis utilizadas y las dos especies evaluadas. Tratamientos como el de *Heterorhabditis* sp. (125.000 JI / plato) y *Steinernema* sp. (250.000 JI / plato) alcanzaron los valores más altos de mortalidad, siendo éstos respectivamente de 28,9 y 29,7%. Mientras que en el testigo, los valores de mortalidad en broca por causas distintas estuvieron alrededor del 17,5% (Fig. 2). Para esta variable no se encontró una relación directa entre el aumento de la mortalidad y el aumento de la dosis de entomonemátodos aplicada, pero si se pudo observar una tendencia de ambos entomonemátodos a disminuir la mortalidad con la mayor dosis aplicada (500.000 JI / plato). El incremento que se logra en el

porcentaje de mortalidad de broca con la aplicación de los dos entomonemátodos con respecto al testigo, es importante dentro de un esquema de manejo integrado ya que se pueden reducir poblaciones de broca que van a ser fuentes importantes de reinfestación de la plaga en el cultivo.

En cuanto al porcentaje de mortalidad corregido, el cual fue estimado por la fórmula de Schneider – Orelly, éste no mostró diferencias estadísticas en esta primera parte entre concentraciones y especies de entomonemátodos, pero es importante resaltar un aumento en los porcentajes de mortalidad del 14,6% para la primera evaluación hasta el 83,6% hacia la cuarta evaluación como se aprecia en la figura 3.

En relación con el número de entomonemátodos por fruto se puede observar que los únicos tratamientos donde se encontraron JI fue donde hubo aplicación de los mismos, encontrándose desde 0,1 hasta 6,7 JI en promedio por fruto, a partir de los 15 días de la aplicación. Este número de JI permanece a través del tiempo notándose que a partir de los 60 días hay un incremento en

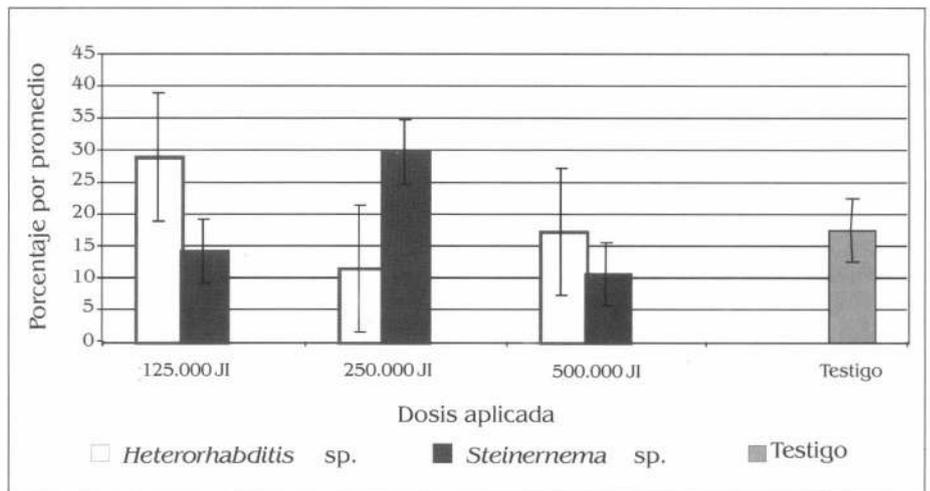


Figura 2. Porcentaje promedio de mortalidad y error para seis evaluaciones realizadas durante la primera cosecha del año 2001.

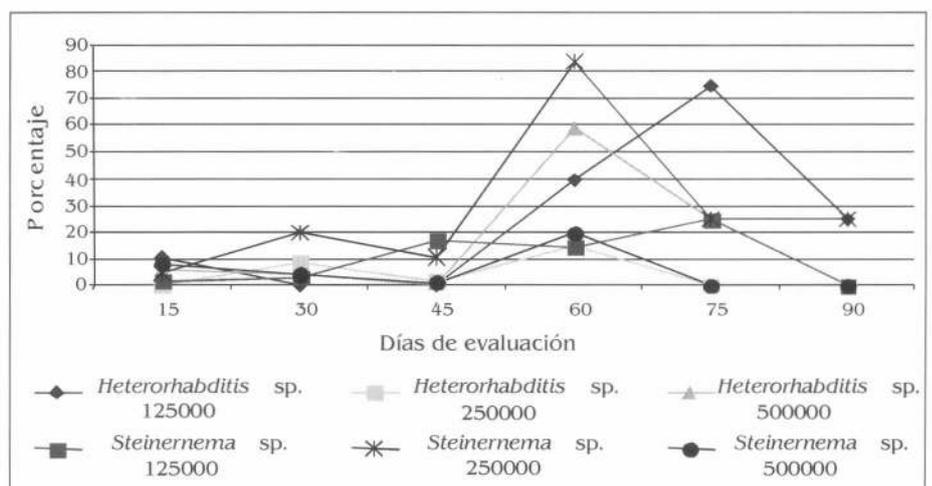


Figura 3. Porcentaje de mortalidad corregida de broca a través de seis evaluaciones realizadas cada 15 días durante la primera cosecha del año 2001.

todos los tratamientos, lo que indica que hay reproducción del entomonemátodo dentro del fruto de café. Hacia los 15 días el nemátodo que se presenta en mayor cantidad dentro del fruto es *Steinernema* sp. en concentración de 125.000 JI, con 6,7 JI en promedio por fruto. A los 30 días el mayor promedio lo presenta *Heterorhabditis* en concentración de 125.000 JI con 33,9 JI por fruto. Esto concuerda con Molina y López (2002) quienes al analizar dos especies de entomonemátodos comprobaron que estos nemátodos en condiciones de laboratorio tenían la capacidad de alcanzar en poco tiempo el orificio de entrada de la broca al grano, penetrar e infectar estados de ésta. Además, es importante resaltar que a los 15 y 30 días después de la aplicación se observó un mayor número de nemátodos por fruto con las concentraciones menores de ambos entomonemátodos (125.000 JI/plato).

En cuanto a las variables porcentaje de ausencia de estados de broca y porcentaje de abandono de adultos de broca de estos frutos luego de la aplicación de los entomonemátodos, no se encontraron diferencias estadísticas. Sin embargo, es importante resaltar que al final de esta parte del experimento, los tratamientos donde se aplicaron nemátodos, presentaron porcentajes de ausencia mayores que los del testigo. Estos tratamientos estuvieron entre un 80 y un 100%, mientras que en el testigo se alcanzaron porcentajes de ausencia del 65%, lo cual demuestra la tendencia de éstos a disminuir las poblaciones de broca dentro de los frutos.

Efecto de los entomonemátodos sobre el desarrollo de la broca y la infestación en el árbol. El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$) para la variable porcentaje promedio de infestación por árbol. Sin embargo, observando los valores promedio para la variable porcentaje de infestación (Tabla 2), en los diferentes pases de recolección antes de la primera cosecha del año, se da una tendencia a ser inferiores a los encontrados en el testigo, destacándose el tratamiento *Heterorhabditis* sp. (500.000 JI / plato), que durante todos los pases de cosecha para esta variable de infestación en el árbol siempre fue menor que el testigo. La

tendencia anteriormente descrita se observa para los tratamientos *Steinernema* sp. en concentraciones de 125.000, 250.000 y 500.000 JI. Como se puede observar en la tabla 2, es importante mencionar que a través de las seis evaluaciones los tratamientos de mayor concentración de JI (500.000), para ambas especies de entomonemátodos, presentaron valores menores de infestación a través del tiempo 7,9 y 9,77% con respecto al testigo 14,43%, lo cual desde el punto de vista de control de broca y daño al grano de café es bueno, pues así el agricultor se puede estar viendo beneficiado en el producto final que va a llevar para la venta.

Adicionalmente, se evaluó el porcentaje de infestación en frutos maduros, en el cual se observaron porcentajes menores de los tratamientos con respecto al testigo a través de las seis evaluaciones, pero éstos no presentaron diferencias estadísticas entre sí, igualmente por la variabilidad de los resultados. Los tratamientos de *Steinernema* sp. (T4, T5 y T6) con sus tres dosis presentaron porcentajes de infestación en frutos maduros menores a los de *Heterorhabditis* sp. en su respectiva concentración a través del tiempo de evaluación y a su vez menores que el testigo, lo cual puede deberse a que con este nemátodo se obtuvieron los mayores porcentajes de mortalidad de frutos en el suelo.

Evaluación durante la cosecha principal

Los resultados obtenidos en la segunda parte del experimento mostraron diferen-

cias en relación con el porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos en el suelo. Todo esto puede deberse a los ajustes realizados para esta etapa, los cuales fueron explicados anteriormente en la metodología.

Efecto de entomonemátodos sobre el desarrollo de la broca en frutos en el suelo. Para la variable porcentaje de mortalidad en frutos en el suelo, se realizó un análisis de varianza y se encontraron diferencias estadísticas para la primera evaluación ($p < 0,05$) de los tratamientos con respecto al testigo. Para las evaluaciones posteriores los resultados obtenidos no mostraron diferencias entre sí (Tabla 3). Lo anterior puede explicarse debido a que en la primera evaluación se tuvieron los mayores promedios de nemátodos dentro de fruto.

Posteriormente, los valores de mortalidad fueron corregidos por el testigo, por medio de la fórmula de Sneider - Orelly y no se observaron allí diferencias estadísticas entre las dos especies de entomonemátodos y las tres concentraciones utilizadas. Lo importante acá es resaltar que cuando se aplican nemátodos, las mortalidades promedio para la cosecha principal estuvieron entre un 13,64 y un 42,27% como se puede observar en la tabla 4. Además, que para las cuatro evaluaciones que se realizaron durante esta parte del experimento, los valores de mortalidad más altos se lograron con la dosis de 250.000 JI / plato para ambos entomonemátodos, siendo éstos de 57,06 y 59,82% para *Heterorhabditis* sp. y *Steinernema* sp., respectivamente (Fig. 4), lo que coincide

Tabla 2. Promedio de infestación por broca en el árbol durante seis evaluaciones en la primera cosecha del año 2001

Tratamiento	Concentración	Promedio (%)	D. E.
Testigo	0	14,43a	8,36
	125.000	13,41a	6,97
	250.000	19,15a	8,73
<i>Heterorhabditis</i> sp.	500.000	7,9a	3,70
	125.000	8,79a	4,70
<i>Steinernema</i> sp.	250.000	11,57a	5,26
	500.000	9,77a	4,51

Promedios seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente según Tukey al 5%. D. E.: Desviación estándar.

Tabla 3. Porcentajes de mortalidad de estados de broca en los frutos del suelo para cuatro evaluaciones realizadas cada 30 días correspondientes a la cosecha principal

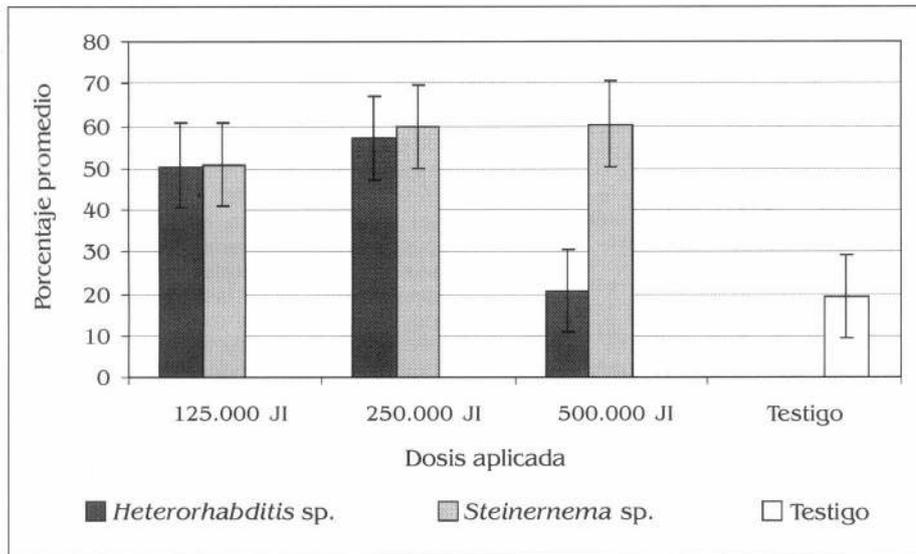
Tratamiento	30 días		60 días		90 días		120 días	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Testigo	6,10b	1,06	30,83a	46,61	40,18a	51,92	0a	0
Het. 125.000	78,46a	19,52	36,11a	55,48	78,57a	0	4,44a	5,44
Het. 250.000	82,01a	18,94	28,20a	33,62	68,05a	44,94	25,00a	50,00
Het. 500.000	53,21a	20,69	29,78a	10,69	0a	0	0a	0
Ste. 125.000	71,25a	19,45	56,71a	37,47	25,00a	35,35	25,00a	25,00
Ste. 250.000	88,19a	9,45	39,98a	27,09	11,11a	19,24	25,00a	50,00
Ste. 500.000	76,09a	15,22	40,59a	39,87	100a	0	12,5a	25,00

* Promedios seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente según Tukey al 5%. Het.: *Heterorhabditis* sp.; Ste.: *Steinernema* sp.; DE: Desviación estándar

Tabla 4. Porcentajes promedio de mortalidad corregida de estados de broca en frutos del suelo, para la cosecha principal

Especie	Concentración	Media	DE	CV
<i>Heterorhabditis</i> sp.	125.000	30,63a	40,26	131,42
	250.000	42,27a	43,35	102,55
	500.000	13,64a	24,28	177,96
<i>Steinernema</i> sp.	125.000	35,08a	40,99	116,82
	250.000	32,77a	43,78	133,59
	500.000	34,25a	42,21	123,22

* Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey al 5%.
DE: Desviación estándar; CV: Coeficiente de variación.

**Figura 4.** Porcentaje promedio de mortalidad durante la cosecha principal del año 2001.

además con los valores más altos de entomonemátodos por fruto (Tabla 5). Los resultados encontrados muestran un efecto de ambas especies de nemátodos hasta cuatro meses después de su aplicación, lo cual concuerda con Baur y Kaya (2001), quienes mencionan que dependiendo de las condiciones ambientales y del mismo tipo de suelo, *Steinernema* puede sobrevivir hasta cinco meses y *Heterorhabditis* hasta dos meses.

Adicionalmente, para esta parte se realizaron los análisis de dos variables como

fueron el total de estados de broca por fruto en el suelo y el total de entomonemátodos por fruto. No encontrándose diferencias estadísticas en el análisis de varianza que se realizó ($p > 0,05$) para ninguna de las dos. Los promedios para ambas variables a través de las tres primeras evaluaciones se aprecian en la tabla 5. Para la tercera evaluación se puede observar claramente que el testigo supera a los tratamientos en cuanto al número promedio de estados de broca por fruto, lo cual da muestras del efecto que tienen los entomonemátodos sobre el insecto, al disminuir

las poblaciones del mismo en los frutos del suelo. En lo que se refiere al número de nemátodos por fruto, es importante resaltar que en las dos primeras evaluaciones el mayor promedio es para *Steinernema* sp. lo cual da una idea de la mayor capacidad que posee éste para penetrar los frutos de café, pero hacia la tercera evaluación, los mayores promedios corresponden a *Heterorhabditis* sp. lo cual da a entender la capacidad que posee este nemátodo de multiplicarse mejor que *Steinernema* sp., ya que de *Heterorhabditis* sp. es suficiente que penetre un nemátodo para multiplicarse, puesto que en su primera generación éste es hermafrodita, caso contrario con el segundo que necesita de un macho y una hembra para multiplicarse.

Efecto de entomonemátodos sobre el desarrollo de la broca y la infestación en el árbol. Para la variable porcentaje promedio de infestación en el árbol se realizó un análisis de varianza, en el cual no se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0,05$). Dicho análisis se realizó con base en el total de frutos y el total de frutos maduros. Tales comportamientos a través del tiempo, se pueden observar en las figuras 5 y 6.

Vale la pena mencionar que en esta parte del experimento tampoco se encontró parasitismo y mortalidad de brocas en frutos en el árbol. Además, las modificaciones que se hicieron al inicio de esta segunda parte, para tratar de disminuir la variación para la variable porcentaje de infestación en árbol, no fueron suficientes; no siendo así para la variable porcentaje de mortalidad de estados de broca en fruto y número de nemátodos por fruto, donde el cambio del equipo de aspersión favoreció notablemente el comportamiento de los nemátodos entomopatógenos.

Es importante mencionar que, a lo largo de las dos etapas de evaluación (primera cosecha del año y cosecha principal), se llevaron registros de la información climática de la Estación Central Naranjal (Fig. 7), donde se puede apreciar que variables como la temperatura y la humedad relativa, presentan un comportamiento si-

Tabla 5. Promedios de entomonemátodos y estados de broca por fruto del suelo para tres evaluaciones durante la cosecha principal del año 2001

Tratamiento	Entomonemátodos / fruto						Estados de broca / fruto					
	30 días		60 días		90 días		30 días		60 días		90 días	
	M	DE	M	DE	M	DE	M	DE	M	DE	M	DE
Testigo	0	0	0	0	0	0	32,7	18,6	12,0	8,0	13,0	16,7
Het. 125.000	6,6	9,2	0,3	1,1	21,0	37,5	25,5	22,0	3,5	5,6	3,5	7,0
Het. 250.000	16,9	24,8	4,7	15,7	17,7	38,4	26,2	11,1	16,7	17,8	3,7	3,8
Het. 500.000	9,6	14,7	3,2	4,4	32,3	58,8	50,0	16,0	26,7	9,2	1,7	3,5
Ste. 125.000	16,2	25,2	9,4	28,7	6,5	12,4	29,5	7,8	11,0	11,6	2,7	4,8
Ste. 250.000	10,2	13,7	4,3	6,7	21,5	19,1	30,2	11,4	14,2	9,2	2,7	2,5
Ste. 500.000	15,1	22,3	5,2	9,2	7,2	16,5	27,5	4,6	14,2	8,3	0,2	0,5

Het.: *Heterorhabditis* sp.; Ste.: *Steinernema* sp.; M: Media; DE: Desviación estándar.

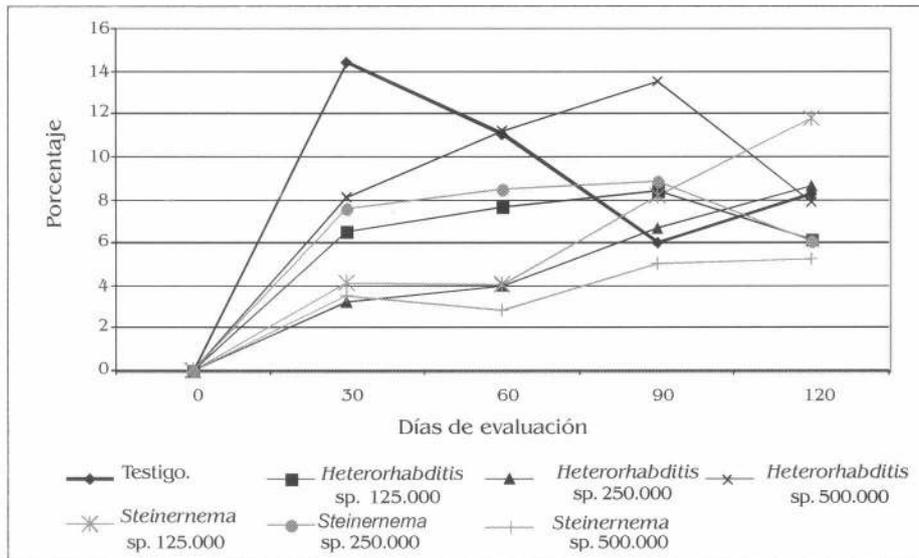


Figura 5. Porcentaje de infestación en el árbol calculado con base en el total de frutos brocados para cuatro evaluaciones durante la cosecha principal del año 2001.

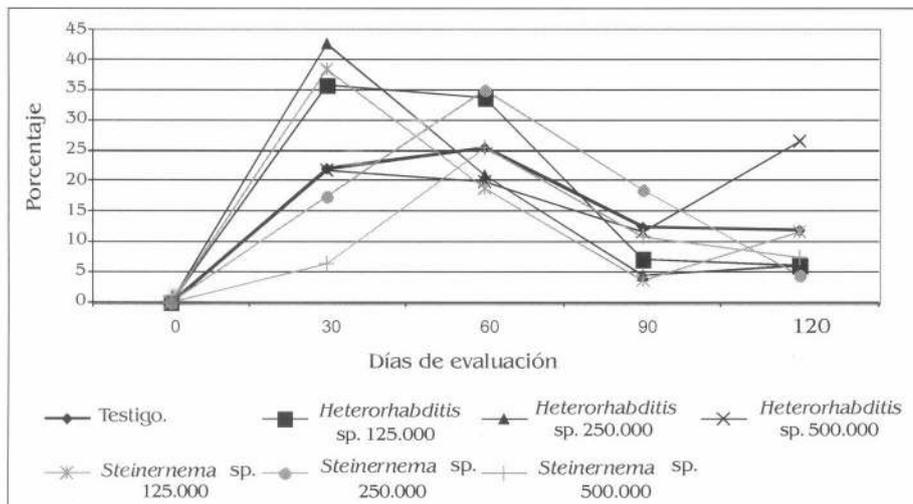


Figura 6. Porcentaje promedio de infestación por árbol calculado en base al total de frutos maduros para cuatro evaluaciones realizadas cada 30 días durante la cosecha principal del año 2001.

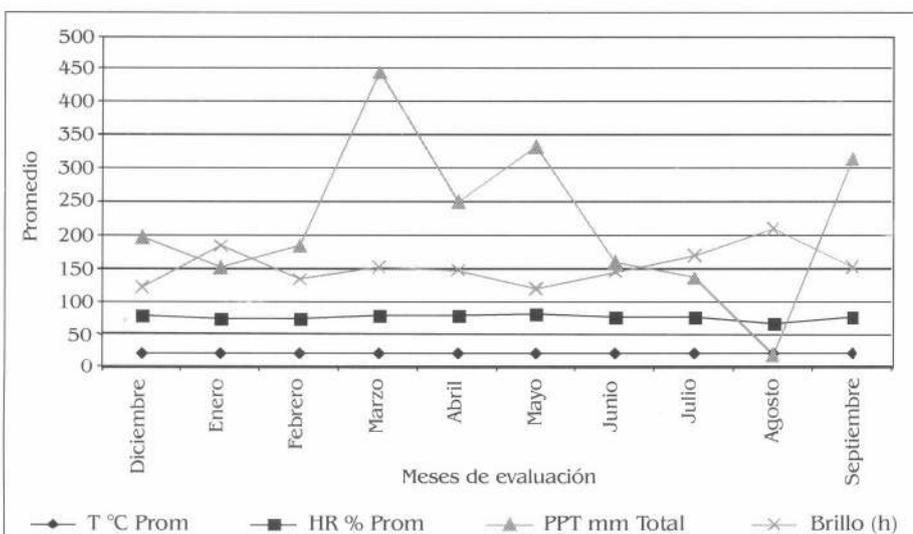


Figura 7. Datos climáticos de la Estación Central Naranjal. Diciembre del año 2000 a septiembre del año 2001.

* Información suministrada por la Disciplina de Agroclimatología de Cenicafé.

milar a través de los diez meses de evaluación, mientras que las variables brillo solar y precipitación sí tienen unos picos muy marcados a través del tiempo, pudiéndose observar para la primera valores entre 118,1 y 209,5 horas de luz al mes; en tanto que para la segunda se observan valores entre 18,6 y 445,6 mm de precipitación por mes. Al analizar la información registrada para los meses de diciembre de 2000 y julio de 2001, que fueron los meses en los cuales se hicieron las aplicaciones de los entomonemátodos para las dos partes del experimento, las condiciones iniciales en ambos casos son similares.

En el mes de marzo de 2001, se presentaron los mayores registros de precipitación, alcanzando éstos valores de 445,6 mm, lo cual concuerda con un aumento en el porcentaje de ausencia de broca en frutos del suelo, lo que se ve reflejado directamente en una reducción del número de estados del insecto dentro del fruto. Bustillo (2002) menciona también que la humedad afecta la mortalidad y el potencial reproductivo de la broca. A su vez, esta mayor precipitación coincide con las épocas de mayor infestación de broca en tratamientos como los de *Heterorhabditis* sp. en sus tres dosis con respecto al testigo y una disminución generalizada en el porcentaje de infestación de frutos maduros de los tratamientos.

En contraste con lo anterior, en el mes de agosto de 2001, se presentaron los valores menores de precipitación, los cuales coinciden con los porcentajes mayores de mortalidad de estados de broca en el suelo para ambas especies (82,01% para *Heterorhabditis* en dosis de 250.000 JI y 88,19% para *Steinernema* en dosis de 250.000 JI), un promedio mayor de entomonemátodos dentro del fruto para ambas especies (*Heterorhabditis* con 16,9 JI / fruto en una dosis de 250.000 JI, y *Steinernema* con 16,26 JI / fruto en una dosis de 125.000 JI). Además, esta poca precipitación coincidió con una disminución en el porcentaje de infestación en el árbol que fue de 3,55 hasta 8,08% en los tratamientos, mientras que en el testigo fue de 14,43%.

Conclusiones

- Las dos especies de entomonemátodos evaluadas tienen la capacidad de penetrar los frutos de café brocados que se encuentran en los platos de los árboles, causar mortalidad y multiplicarse en los estados de broca que hay en dichos frutos.
- La reducción en la cantidad de estados de broca en los frutos en el suelo, se reflejó en una menor infestación en los árboles.
- Las dos especies de entomonemátodos parasitan principalmente los estados inmaduros de la broca que se encuentran dentro de los frutos que están el suelo.

• No se hallaron estados de broca parasitados por los entomonemátodos en frutos localizados en el árbol de café.

Agradecimientos

Al Dr. Celso Arboleda, por sus valiosos aportes técnicos, al auxiliar Uriel Eduardo Posada, por la colaboración en el campo y en el laboratorio, a las Disciplinas de Entomología de Cenicafé, por el suministro de la información climática y al personal de la Estación Central "Naranjal", por su ayuda en el montaje y adecuación en campo de las parcelas experimentales.

Literatura citada

- ALLARD, G. B.; MOORE, D. 1989. *Heterorhabditis* sp., nematodes as control agents for coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Scolityidae). Journal of Invertebrate Pathology 54 (1): 45-48.
- BAKER, P. S. 1999. La broca del café en Colombia; informe final del Proyecto MIP para el café DFID - CABI Bioscience. Chinchiná (Colombia). CENICAFE - CABI Bioscience 146 p.
- BAUR, M. E.; KAYA, H. K. 2001. Persistence of entomopathogenic nematodes. En: Baur, M. E. and Fuxa, J. (eds.). Environmental persistence of entomopathogens and nematodes. Southern Cooperative Series Bulletin 398. Oklahoma Agricultural Experiment Station 47 p.
- BERGAMIN, J. 1944. Sombreamiento e broca. Revista do Departamento Nacional do Café 12 (138):1009-1014.
- BERNAL U., M. G.; BUSTILLO P., A. E.; CHAVES C., B.; BENAVIDES, M. P. 1999. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolityidae) que emergen de frutos en el suelo. Revista Colombiana de Entomología 25 (1-2): 11-16.
- BUSTILLO P., A. E. 1991. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. Agricultura tropical (Colombia) 28 (1): 83-93.
- BUSTILLO P., A. E. 1995. Estado actual de las recomendaciones sobre el manejo integrado de la broca, *Hypothenemus hampei*, en la caficultura colombiana. Chinchiná, seminario sep. 29.
- 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 de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia 40 p.
- BUSTILLO P., A. E.; VILLALBA G., D. A.; CHAVES C., B. 1993. Consideraciones sobre el uso de insecticidas químicos en la zona cafetera en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. Memoria XX Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. p. 152-155. Cali.
- CAMAYO V., G. C.; ARCILA P., J. 1997. Desarrollo floral del cafeto en condiciones de la zona cafetera colombiana (Chinchiná - Caldas). Avances técnicos Cenicafe No. 245: 1-8.
- CAPINERA, J. L.; EPSKY, N. D. 1992. Potential for biological control of soil insects in the Caribbean basin using entomopathogenic nematodes. Florida Entomologist 75 (4): 525- 532.
- COMMONWEALTH INSTITUTE OF BIOLOGICAL CONTROL- CIBC. LONDRES. INGLATERRA. 1990. Control biológico de la broca de la cereza del cafeto. Manual de Capacitación de Control Biológico. Chinchiná (Colombia), CENICAFE. p. 140-153.
- GEORGIS, R.; HOM, A. 1992. Introduction of entomopathogenic nematode Products into Latin America and the Caribbean. Nematropica 22 (1): 81-98.
- HOMINICK, W. H.; COLLINS, S. A. 1997. Application of ecological information for practical use of insect pathogenic nematodes. Chapter 2. Microbial insecticides: Novelty or necessity?. Farham. British Crop Protection Council. 302 p.
- KRAKER, J. DE. 1988. The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) factors affecting emergence and early infestation. Report of field experiments. Wageningen, Holanda. University of Wageningen. 70 p.
- LE PELLEY, R. H. 1973. Las plagas del café. Agricultura Tropical. Editorial Labor, S: A. Calabria, Barcelona (España). p. 140-170. 643 p.
- LÓPEZ N., J. C. 1999. Movilidad y búsqueda de hospedero: Ventajas de un entomopatógeno. Memorias Seminario Nematodos Entomopatógenos. p. 26-29. Santafé de Bogotá D. C., Universidad Nacional.
- MOLINA A., J. P.; LÓPEZ N., J. C. 2002. Desplazamiento y parasitismo de entomonemátodos hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolityidae). Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 145-151.
- SALAZAR G., M.; ARCILA P., J.; RIAÑO H., N.; BUSTILLO P., A. E. 1993. Crecimiento y desarrollo del fruto de café y su relación con la broca. Chinchiná (Colombia). Avances Técnicos Cenicafé No. 194. Cenicafé.
- SMITHS, P. H. 1997. Insects pathogens: their suitability as biopesticides. Microbial Insecticides: Novelty or necessity?. Farham British Crop Protection Council. 302 p.
- URRELO G., R.; ALBORNOZ J., N. Z.; BARTRA P., C. 1982. Control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.), con insecticidas formulados en polvo seco y aplicados al suelo. Tropicultura 2 (1): 32-38.
- VÉLEZ A., B. E.; JARAMILLO R., A.; CHAVES C., B.; FRANCO, M. 2000. Distribución de la floración y la cosecha de café en tres altitudes. Avances Técnicos Cenicafé No. 272: 1-4.

Recibido: Abr. 22 / 2003

Aceptado: Oct. 27 / 2003

Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae)

Evaluation of larvicidal activity of polar and nonpolar extracts from acetogenins of *Annona muricata* on *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus* larvae (Diptera: Culicidae)

CARLOS ANDRÉS MORALES¹, RANULFO GONZÁLEZ², RAÚL ARAGÓN³

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 187-192 (2004)

Resumen. Muchas especies de plantas superiores producen metabolitos secundarios, a los cuales se les atribuye funciones ecológicas y de defensa contra microorganismos y fitófagos. El objetivo de este trabajo fue conocer la susceptibilidad de larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus* a dos tipos de extractos de acetogeninas obtenidos de semillas de *Annona muricata*. Las dos especies de Culicidae estudiadas fueron altamente susceptibles a ambos tipos de extractos bajo condiciones de laboratorio. Las concentraciones letales medias (CL50) para los extractos polar, no polar y mezcla de acetogeninas para *Ae. aegypti* fueron de 74,7 ppm, 236,2 ppm y 20,3 ppm, respectivamente, mientras que en *An. albimanus* fueron de 0,8 ppm, 16,2 ppm y 1,4 ppm. Se presentan las dosis diagnósticas y su respectivo rango de variación. Las diferencias entre la mortalidad producida por los extractos no fueron estadísticamente significativas. Una elección para su utilización, podrá ser determinada posteriormente cuando se evalúe la residualidad de ambos compuestos y la relación costo beneficio.

Palabras clave: Control. Extractos de plantas. Insecticidas. Toxicología.

Summary. Many species of higher plants produce secondary metabolites, to which ecological functions and defense against microorganisms and phytophages are attributed. The objective of this work was to understand the susceptibility of *Ae. aegypti* and *An. albimanus* larvae to two types of acetogenins extracts obtained from seeds of *Annona muricata*. The two species of Culicidae studied were highly susceptible to both kinds of extracts under laboratory conditions. The mean lethal concentrations (CL50) for the polar, nonpolar and mix of acetogenins extracts for *Ae. aegypti* were 74,7 ppm, 236,2 ppm and 20,3 ppm, respectively, while in *An. albimanus* they were 0,8 ppm, 16,2 ppm and 1,4 ppm. The diagnostic doses are presented with their respective range of variation. The differences in mortality produced by the extracts were not statistically significant. An option for its use could eventually be determined when the residuality of both compounds and the cost-benefit ratio are evaluated.

Key words: Control. Insecticide. Plants extracts. Toxicology.

Introducción

Dengue y malaria son dos enfermedades transmitidas por vectores, de gran importancia en salud pública. La prevalencia del dengue está asociada a su principal vector *Aedes aegypti* (Linnaeus), es endémica en más de 100 países y unos 2.500 millones de personas están ahora en riesgo de contraer la enfermedad. Según la Organización mundial de la salud (O. M. S) pueden presentarse unos 50 millones de infecciones por dengue cada año. En el año 2002 se presentó la cifra más alta de casos de dengue en las Américas, 1'019.196 casos fueron registrados, de los cuales 17.363 fueron de dengue hemorrágico, presentándose 225 muertes. Colombia mostró un comportamiento similar con 81.831 casos, de los cuales 5.245 fueron de dengue hemorrágico (OPS 2002). Se conside-

ra que en Colombia aproximadamente 18 millones de personas se encuentran en áreas de riesgo para dengue (Camacho 1991).

La malaria humana es transmitida por mosquitos del género *Anopheles*. En el ámbito mundial se calcula que aproximadamente el 40% de la población está expuesta a esta enfermedad en unos 91 países o áreas y en el continente Africano es responsable por la muerte de 1,4 a 2,6 millones de personas cada año (WHO 1995). Se ha calculado una incidencia anual de 488 millones de casos en el mundo, de los cuales 14,8 millones se presentan en Centro y Suramérica (Sturchler 1989). En las Américas el 36,5% de la población vive en zonas ecológicamente propicias para la transmisión de la malaria. En éstas, para 1998 y 1999, se presentó

una morbilidad de 418,3 y 404,4 casos por 100.000 habitantes (OPS 1999).

La malaria representa un grave problema de salud en el 85% del territorio rural colombiano (MINSALUD 2002). En la actualidad una serie de factores sociales, económicos, climáticos y administrativos han contribuido al incremento en la tasa de prevalencia de la malaria, la cual fue especialmente alta en 1998 cuando alcanzó una cifra de más de 250.000 casos (OPS/OMS 2000).

Aedes aegypti como vector del dengue clásico, dengue hemorrágico y fiebre amarilla urbana y *Anopheles albimanus* Wiedemann, como vector de malaria, son vectores primarios en las Américas, por lo tanto es prioritario adelantar estrategias de manejo y desarrollar nuevas tecnolo-

1 Biólogo. Universidad del Valle. E-mail: carmorales72@hotmail.com

2 Autor para correspondencia: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Depto. de Biología. A. A. 25360 Cali. E. mail: ranulfo@biologos.univalle.edu.co

3 Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Departamento de Química. Cali.

gías que permitan tener alternativas química o biológicas, en el caso de que las ya existentes no sigan siendo útiles por problemas de resistencia o tengan poca eficiencia en su control.

En la actualidad más de 200 especies de artrópodos de importancia médica han mostrado resistencia a muchos de los pesticidas contemporáneos; cada vez es más necesario desarrollar químicos más potentes, originando mayores costos económicos y ambientales (Brown 1986). Estos problemas han popularizado el concepto de manejo integrado de plagas, que implica trabajar no sólo en la búsqueda de controladores biológicos y manejo ambiental, sino también en la investigación del posible uso de insecticidas botánicos, los cuales tienen la ventaja de proveer modos de acción novedosos que reducen el riesgo de resistencia cruzada, que sean eficaces, más seguros para el medio, que sean degradables y más específicos para las especies de mosquitos, produciendo poco o ningún impacto ambiental (Arnanon et al. 1989).

Numerosas especies de plantas superiores producen metabolitos secundarios a los cuales se les atribuye funciones ecológicas y de defensa contra microorganismos y fitófagos (Rosenthal 1986). Actúan principalmente como toxinas a través de los estados de vida de las especies de insectos, otros interfieren en el desarrollo y la reproducción o pueden actuar a nivel de los receptores olfatorios siendo responsables de atracción o repelencia (Sukumar et al. 1991).

Varios insecticidas orgánicos han sido extraídos y/o sintetizados a partir de plantas. Entre los innumerables compuestos insecticidas de origen botánico que han sido sintetizados son de renombre la nicotina, las piretrinas y la rotenona (Matsumura 1975). Cambell et al. (1933) usando alcaloides extraídos de *Anabasis aphylla* L. (Caryophyllales: Amaranthaceae), demostró efectividad sobre larvas de *Culex pipiens* Linnaeus, *Cx. territans* Walker y *Cx. quinquefasciatus* Say.

De las semillas de Annonaceae se han aislado sustancias conocidas como acetogeninas. En esta familia se incluyen más de 2.000 especies. De éstas solamente 150 (7%), pertenecientes a 43 géneros (33%), han sido investigadas (Leboeuf et al. 1982).

Las acetogeninas de Annonaceae son una serie de productos naturales de origen policíclico derivados de ácidos grasos con 35 a 37 carbonos, su estructura general está caracterizada por una gran cadena alifática con un grupo metil terminal, una gran lactona insaturada con un metil como sustituyente, uno o dos anillos tetrahidrofurano y varios sustituyentes hidroxilo o cetónicos (Roblot et al. 1993). Éstas presentan un amplio rango de actividades biológicas inmunosupresivas, antiparasitarias, citotóxicas, antimicrobianas, pesticidas y antitumorales (Correa y Bernal 1989). La

primera acetogenina aislada fue el uvaricin (Cavé 1993).

Entre las especies del género *Annona* se destacan por sus propiedades insecticidas: *A. cherimolia*, *A. glabra*, *A. muricata*, *A. squamosa*, *A. melitu*, *A. palustri*, *A. reticulata* y *A. spinescens* (Atheortua 1994). Las acetogeninas características de *A. muricata* son las monotetrahidrofuránicas. La primera acetogenina aislada de esta especie fue el Annonacin en 1987 (Myint et al. 1991). Mikolajczak et al. (1988, 1989) patentaron acetogeninas de annonaceas como sustancias para el control de plagas, Moeschler et al. (1986, 1987) patentaron la acetogenina Annonin como un insecticida.

Una posible utilización de semillas de *A. muricata* es su procesamiento para obtención de acetogeninas naturales para control de algunas plagas. En este trabajo se presentan y analizan los resultados de evaluaciones realizadas bajo condiciones de laboratorio de extractos de semillas de *A. muricata* (mezcla de acetogeninas) así como el extracto polar y no polar obtenido de la mezcla, sobre larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*.

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló en los laboratorios de Entomología de la Universidad del Valle, con una temperatura promedio de 26°C y una humedad relativa del 70%. La extracción de los principios biológicamente activos de *A. muricata* se realizó en los laboratorios de productos naturales del departamento de Química de la Universidad del Valle.

El análisis químico de las semillas mostró la presencia de acetogeninas lactónicas monotetrahidrofuránicas. La extracción del extracto no polar se hizo con éter de petróleo en un equipo Soxhlet a partir de 325 g de semilla molida, previamente secada a 60°C. Este extracto se sometió a temperaturas bajas para lograr la precipitación de las acetogeninas. Al marco obtenido después de esta extracción se le adicionó etanol como solvente y se obtuvo el extracto polar. Luego, la muestra se trasladó a un rotoevaporador con el fin de eliminar el solvente a presión reducida y obtener la muestra concentrada libre de solvente orgánico, el rendimiento promedio de la extracción fue de 22,5% de extracto no polar, 6,39% de extracto polar y 0,80% de acetogeninas.

Los especímenes de *Ae. aegypti* se obtuvieron de una colonia de la sección de Entomología de la Universidad del Valle. Los de *An. albimanus* fueron proporcionados por el insectario del Instituto de Inmunología de la Universidad del Valle.

Establecimiento de la línea base de susceptibilidad

Con base en ensayos preliminares de laboratorio, se establecieron cuatro a siete concentraciones de cada uno de los ex-

tractos a ser evaluados, cada concentración se probó con 20 a 25 larvas de tercer y cuarto estadio temprano de *Ae. aegypti* y *An. albimanus* en vasos de precipitado de 600 ml, previamente esterilizados en autoclave. Para preparar las concentraciones se utilizó un volumen de 250 ml de agua filtrada, teniendo tres a cuatro repeticiones por tratamiento y las siguientes dosis para *Ae. aegypti*: extracto no polar 1.800, 600, 300, 150, 75 y 37,5 partes por millón (ppm). Para el extracto polar, además de las dosis anteriores se adicionó otra de 18,7 ppm.

Para *An. albimanus* se evaluaron las siguientes dosis del extracto no polar: 600, 150, 75, 37,5, 18,7 y 9,4 ppm. Para el extracto polar se adicionó una dosis de 4,7 y se eliminaron las de 150 y 300 ppm. La mortalidad se evaluó a las 24 h postratamiento. Se consideraron como larvas muertas aquellas que al ser punzadas en la región cervical o en el sifón no presentaron movimiento alguno. Con ambas especies, para cada extracto, se tuvo su respectivo control; para el extracto no polar se utilizó como emulsionante triona (aceite mineral), el cual fue adicionado también a su respectivo control. Las larvas que se transformaron en pupas durante la prueba, fueron desechadas del análisis. Para porcentajes de mortalidad menores que el 20%, se hicieron ajustes con respecto a lo observado en el grupo testigo de cada ensayo, mediante la fórmula de Abbott (1925).

La construcción de la línea de regresión dosis mortalidad, así como las diferentes concentraciones letales, se calcularon por medio del programa de análisis Log-Probit elaborado por Raymond (1985). También se hizo un análisis de varianza de dos vías en donde la variable de respuesta fue la mortalidad observada y los factores las dos especies y tipo de extracto. Previamente se realizó una validación de los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianza (prueba de Bartlett) y con base en los resultados un postanova de Tukey entre las medias de mortalidad de los tratamientos (extractos) seleccionando como variables las dosis.

Residualidad

Con base en la línea base de mortalidad calculada anteriormente, se prepararon 9.000 ml con la dosis diagnóstica de cada extracto en frascos bomboneros de vidrio previamente esterilizados. Estos se taparon con papel aluminio y se expusieron a 12 h de luz solar diariamente. Para los extractos no polar y mezcla de acetogeninas se adicionó Kembolol como coadyuvante. Durante los primeros ocho días, cada dos días se probaron cuatro repeticiones en vasos de precipitado con 250 ml de cada extracto con larvas de *Ae. aegypti* de tercero y cuarto estadio temprano. Las pruebas se continuaron cada 15 días en los días subsiguientes. Este procedimiento se mantuvo hasta los ocho meses o hasta obtener una mortalidad menor que el 50%.

Resultados

A las 24 h postratamiento ambos tipos de extractos produjeron mortalidad. Con el extracto no polar en *Ae. aegypti* la dosis mayor (1.800 ppm) produjo 100% de mortalidad, mientras que la menor (37,5 ppm) produjo 3% de mortalidad (Tabla 1). En *An. albimanus* la dosis que produjo el 100% de mortalidad fue de 600 ppm; con la de 37,5 ppm se obtuvo una mortalidad corregida del 64,7% (Tabla 2). Con el extracto polar las concentraciones letales fueron más bajas. En *Ae. aegypti* si bien fue necesaria la concentración de 1.800 ppm para obtener el 100% de mortalidad, la dosis de 37,5 ppm produjo 24% de mortalidad (Tabla 3).

En *An. albimanus* fue necesario únicamente una concentración de 75 ppm para obtener un 100% de mortalidad (Tabla 4). Con las mezclas de acetogeninas, en las dos especies se obtuvieron respuestas de mortalidad con la misma tendencia de susceptibilidad observada en los extractos. En *Ae. aegypti* como en *An. albimanus* 75 ppm causaron el 100% de mortalidad, pero la dosis de 9,2 ppm causó una mortalidad del 9% en *Ae. aegypti* (Tabla 6), mientras que en *An. albimanus* fue del 79,6% (Tabla 7). La mortalidad causada por los extractos fue significativamente diferente entre las dos especies de mosquitos ($P=0,0003$) y tanto en *Ae. aegypti* como en *An. albimanus* los extractos polar y no polar actuaron significativamente diferente al igual que entre el polar y la mezcla de acetogeninas. Entre los extractos no polar y la mezcla de acetogeninas no se observaron diferencias significativas en cuanto a la mortalidad producida por ellos.

El análisis de varianza realizado, considerando la especie y el tipo de extracto, mostró diferencias significativas entre la mortalidad causada por el tipo de extracto en las dos especies de mosquitos ($F = 11,5$; $P = 0,0003$). El análisis postanova de Tukey mostró que en ambas especies los dos extractos y las mezclas de acetogeninas actuaron de manera significativamente diferente ($P < 0,005$) (Tabla 5). Para ambas especies, entre el extracto no polar y la mezcla de acetogeninas, no se presentaron diferencias estadísticas significativas; sin embargo, presentaron pendientes diferentes (Figs. 1 y 2).

Establecimiento de la línea base de susceptibilidad

Al graficar la línea base de susceptibilidad del logaritmo de la dosis versus porcentaje de mortalidad observada sobre *Ae. aegypti*, se obtuvo una línea recta de pendiente elevada (Fig. 1) producto de puntos bien ajustados a una línea de regresión (nivel de confianza del 95%) lo cual influye en los rangos estrechos de las concentraciones letales (Tabla 8) y aporta a la CL 50 una varianza baja (0,0004) mostrando además que los resultados obtenidos son homogéneos. Las pendientes obtenidas con el extracto polar y no polar fueron

Tabla 1. Mortalidad larval de *Ae. aegypti* obtenida con seis concentraciones de extracto no polar de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución X^2
		Observada	Esperada	
37,50	100	03,00	4,06	0,470
75,00	100	10,00	12,48	0,626
150,00	100	44,00	32,51	6,135
300,00	100	53,00	60,73	2,489
600,00	100	82,00	84,29	0,390
180,00	100	100,00	98,52	1,479
TOTAL	600			11,589

gl = 3 $X^2_{tab} 0,05 = 7,815$ $X^2_{tab} < X^2_{cal}$
Mortalidad en el control 2%.

Tabla 2. Mortalidad larval de *An. albimanus* obtenida con seis concentraciones de extracto no polar de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución X^2
		Corregida	Esperada	
9,40	60	42,40	26,94	0,2978
18,60	60	53,60	34,73	0,0050
37,40	60	64,70	42,38	0,1440
75,00	60	77,70	48,85	0,0741
150,00	60	85,10	53,66	0,4419
600,00	60	100,00	58,54	1,3464
TOTAL	360			2,3093

gl = 4 $X^2_{tab} 0,05 = 9,49$ $X^2_{tab} > X^2_{cal}$
Mortalidad en el control 10%.

Tabla 3. Mortalidad larval de *Ae. aegypti* obtenida con siete concentraciones de extracto polar de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución X^2
		Observada	Esperada	
18,75	100	15,00	14,31	0,038
37,50	100	24,00	29,75	1,584
75,00	100	55,00	50,13	0,948
150,00	100	75,00	70,47	0,984
300,00	100	84,00	85,84	0,277
600,00	100	92,00	94,61	1,331
1.800,00	100	100,00	99,30	0,710
TOTAL	700			5,872

gl = 5 $X^2_{tab} 0,05 = 11,070$ $X^2_{tab} > X^2_{cal}$
Mortalidad en el control 0%.

Tabla 4. Mortalidad larval de *An. albimanus* obtenida con cinco concentraciones de extracto polar de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución X^2
		Observada	Esperada	
4,70	60	85,00	49,40	0,2850
9,40	60	88,30	54,20	0,2655
18,60	60	93,30	57,10	0,4615
37,40	60	98,30	58,80	0,0523
75,00	60	100,00	59,50	0,4897
TOTAL	300			1,5540

gl = 3 $X^2_{tab} 0,05 = 7,81$ $X^2_{tab} > X^2_{cal}$
Mortalidad en el control 0%.

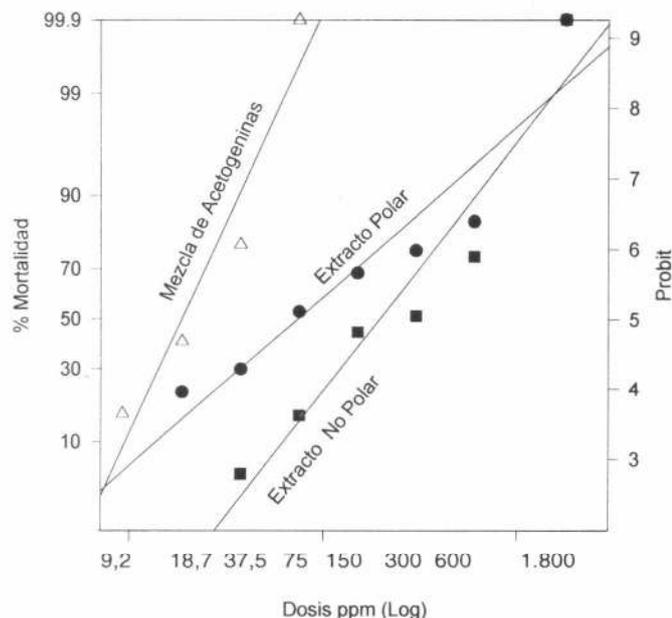


Figura 1. Líneas de regresión del porcentaje de mortalidad observada de *Ae. aegypti* vs. el logaritmo de la dosis de extractos polar, no polar y mezcla de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio.

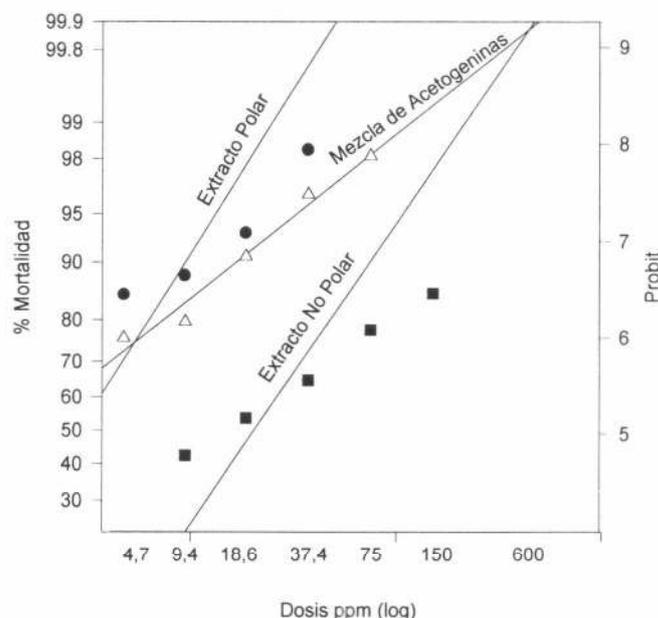


Figura 2. Líneas de regresión del porcentaje de mortalidad observada de *An. albimanus* vs. el logaritmo de la dosis de extractos polar, no polar y mezcla de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio.

Tabla 5. Postanova de Tukey para comparar la mortalidad promedio causada por los extractos polar no polar y mezcla de acetogeninas sobre larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*

ESPECIE/EXTRACTO	Probabilidades de mortalidad			
	(1)	(2)	(4)	(5)
<i>Ae. aegypti</i> /E. Polar (1)				
<i>Ae. aegypti</i> /E. no polar (2)	0,0055*			
<i>Ae. aegypti</i> /Mezcla (3)	0,8567*	0,0034*		
<i>An. albimanus</i> /E. polar (4)				
<i>An. albimanus</i> /E. no polar (5)			0,0002*	
<i>An. albimanus</i> /Mezcla (6)			0,9835*	0,0022*

*Significativamente diferente con una probabilidad de 0,005.

Tabla 6. Mortalidad larval de *Ae. aegypti* obtenida con cuatro concentraciones de mezcla de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución χ^2
		Observada	Esperada	
9,20	100	9,00	6,68	0,8619
18,70	100	38,00	42,52	0,8351
37,50	100	86,00	86,06	0,0003
75,00	100	100,00	99,06	0,9486
TOTAL	400			2,6459

gl = 2 $\chi^2_{tab} 0.05 = 5,99$ $\chi^2_{tab} > \chi^2_{cal}$
 Mortalidad en el control 0%.

menores que las de la mezcla de acetogeninas; sin embargo, los datos también son homogéneos y la amplitud de los intervalos de confianza fue mayor que la de la mezcla. En el proceso de cálculo de las concentraciones letales del extracto no

polar sobre *Ae. aegypti* (Tabla 8), el análisis mostró que los datos no representaban una línea recta bien ajustada, esto se manifestó en el valor total de Chi cuadrado resultante de la interacción entre la mortalidad esperada versus la mortalidad

observada, el cual fue muy elevado en la dosis de 150 ppm ($\chi^2 = 6,13$); lo anterior condujo a un valor total de χ^2 calculado más alto ($\chi^2 = 11,58$) que el χ^2 tabulado ($\chi^2 = 7,8$) (Tabla 1).

Todos los valores de las pendientes de las líneas, obtenidas con los tres tipos de extractos evaluados en *An. albimanus*, fueron bajos, con datos bien ajustados a una línea de regresión, (Fig. 2) pero a diferencia de *Ae. aegypti* las concentraciones letales fueron más bajas (Tabla 8) y con intervalos de dosis muy amplios en el caso del extracto polar de la mezcla de acetogeninas, especialmente la CL99. Con base en estos resultados las dosis diagnósticas para *Ae. aegypti* fueron de 3.046 ppm, 4.072 ppm y 148,1 ppm para el extracto polar, no polar y mezcla de acetogeninas, respectivamente.

Residualidad

Las pruebas realizadas en *Ae. aegypti* hasta ocho meses después de exponer los dos tipos de extractos a luz solar, fueron compatibles con una residualidad alta (100%), con variaciones en el tiempo letal medio. Con el extracto no polar se observó adicionalmente una posible acción mecánica sobre larvas y pupas ya que aparentemente la condición aceitosa del extracto bloquea la entrada de aire a través del sifón de las larvas y las trompetas respiratorias de las pupas. Sin embargo, la residualidad se redujo considerablemente cuando se utilizó el producto de las acetogeninas sin separación de los extractos polar y no polar, ya que a partir de los 20 días no se observó mortalidad de larvas.

Tabla 7. Mortalidad larval de *An. albimanus* obtenida con cinco concentraciones de mezcla de acetogeninas, bajo condiciones de laboratorio

Dosis (ppm)	No. Larvas tratadas	% Mortalidad		Contribución χ^2
		Observada	Esperada	
4,70	60	75,90	45,43	0,2091
9,40	60	79,60	51,08	0,5201
18,70	60	90,70	55,04	0,0004
37,50	60	96,30	57,55	0,0787
75,00	60	98,10	58,91	0,0066
TOTAL	300			0,8148

gl = 3 $\chi^2_{tab} 0,05 = 7,81$ $\chi^2_{tab} > \chi^2_{cal}$
Mortalidad en el control 10%.

Tabla 8. Dosis letales obtenidas con extracto polar y no polar de acetogeninas sobre larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*, bajo condiciones de laboratorio. (Nivel de confianza 0,95)

Concentración Letal (CL)	Dosis letal (ppm)			
	Polar		No Polar	
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. albimanus</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>An. albimanus</i>
50	74,68	0,82	236,23	16,20
90	393,24	9,10	784,33	179,47
95	629,87	18,00	1.102,29	354,95
99	1.523,66	64,73	2.086,56	1.275,03

Discusión

Los resultados con estos extractos se pueden considerar promisorios, ya que se encuentran por debajo de la concentración máxima (5.000 ppm) recomendada por la Agencia de Cooperación Técnica Alemana (GTZ) para condiciones de laboratorio (Hellpap 1993).

No es sorprendente la actividad insecticida de los dos extractos de *A. muricata* sobre larvas de *Ae. aegypti*. Ohsawa *et al.* (1990), con extractos de *Annona glabra*, *A. montana*, *A. muricata*, *A. squamosa*, *A. chirimolia* y *A. reticulata*, observaron un porcentaje variable de mortalidad sobre *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) al actuar por contacto. *A. squamosa* presenta acetogeninas bistetrahidofuránicas las cuales poseen una acción biológica mayor que las monotetrahidofuránicas de *A. muricata* (Rupprecht *et al.* 1990). Feras *et al.* (1999) en una revisión sobre este tema, señalaron un exitoso manejo de cucarachas (*Blattella germanica*) resistentes a los grupos insecticidas tradicionales, utilizando acetogeninas de anonáceas.

Sobre Culicidae, extractos de hojas y semillas de *A. squamosa* han mostrado actividad insecticida sobre larvas de *Anopheles*. Saxena *et al.* (1993 a), utilizando extractos de hojas de esta planta, obtuvieron una CL50 que varió entre 126 y 178 ppm sobre larvas de *An. stephensi*. Saxena *et al.* (1993 b) utilizando extractos de semillas obtuvieron una CL50 de 213,79 ppm sobre larvas de *An. culicifacies*. Por otro lado, Cepleanu (1993) con extractos de *A. purpurea* observó una CL100 de 10 ppm en larvas de segundo instar de *Ae. aegypti*.

Posiblemente los dos tipos de extractos actúan por ingestión, pero habría que diseñar una metodología diferente para precisar su modo de acción. Considerando el tiempo letal de los extractos sobre larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*, la mayor rapidez con que se inicia la acción de los extractos polares se debe posiblemente a que las larvas ingieren más fácil y rápidamente el extracto polar a diferencia del extracto no polar, el cual queda en mayor cantidad en la superficie y las larvas sólo al respirar por el sifón se impregnan de aceite y lo ingieren cuando limpian su sifón con los peines bucales. Por lo menos en las concentraciones más elevadas del extracto no polar, se presenta aparentemente cierto efecto mecánico. Es de suponer que el extracto polar forma una solución más homogénea que el no polar. Para poder emulsionar el extracto no polar y la mezcla de acetogeninas, se ensayaron varios productos comerciales tales como Triona®, Dimetil sulfóxido (DMSO) y Kemkol®, los cuales no necesariamente tienen los mejores resultados al mezclarse con el agua y aparentemente retrasan la acción del ingrediente activo. Esta dificultad hizo que posiblemente los resultados observados con el extracto no polar, produjeran en el análisis probit valores relativamente altos de χ^2 , lo cual es indicativo de que el grado de distribución de los datos alrededor de la línea de regresión dosis-mortalidad sea alto. La interpolación de dos de los datos fue suficiente para obtener un mejor ajuste de la línea de regresión e hizo que los datos no fueran significativamente heterogéneos, la cual en este caso, puede ser atribuido a factores claramente ambientales.

La buena residualidad observada de los extractos polar y no polar indican que posiblemente presenten otros componentes adicionales a las acetogeninas que les confieren buena estabilidad a la luz especialmente a luz ultravioleta.

Estos resultados son promisorios para el control de larvas de *Ae. aegypti* y *An. albimanus*, y posiblemente para otras larvas de Culicidae. Sin embargo, parece ser que la respuesta de cada especie es variable con respecto a la dosis diagnóstica y al rango de toxicidad de las dosis, para *An. albimanus* se debió haber establecido un mayor rango de dosis hacia las de menor concentración, por que según lo observado fueron más susceptibles que las de *Ae. aegypti*.

La alta toxicidad y residualidad de los dos extractos conteniendo acetogeninas, observadas bajo condiciones de laboratorio, ameritan la realización de evaluaciones a pequeña escala en condiciones de campo, en donde se evalúe igualmente si la estabilidad del producto, determinante de su residualidad, observada en laboratorio, es igualmente válida en condiciones naturales y determinar cuál es el impacto ambiental sobre la fauna asociada de los criaderos de *Ae. aegypti* y *An. albimanus* u otras especies de mosquitos que se reproducen en aguas lénticas o en donde sea viable de realizar este tipo de aplicación. De igual modo, se debe evaluar en condiciones naturales, el por qué de la poca estabilidad observada en la mezcla de acetogeninas, posiblemente esto sea más bien un problema de la dosis diagnóstica empleada (148,1 ppm), la cual fue comparativamente mucho más baja que la de los extractos por separado y no de la formulación propiamente dicha. En este sentido es recomendable evaluar una dosis diagnóstica más alta, similar a la de los extractos polar y no polar.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Sandra Garzón por el trabajo de laboratorio, a los profesores de la sección de Entomología, del departamento de Biología, por la revisión del manuscrito. Así mismo, a la Universidad del Valle por el apoyo y la colaboración brindada para la realización de esta investigación. A los laboratorios de productos naturales del departamento de Química y Entomología del departamento de Biología por proveer facilidades logísticas. Al Instituto de Inmunología de la Universidad del Valle por proporcionar larvas de *An. albimanus*.

Literatura citada

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- ARNANSON, J. T.; Philogéne, B. J. R.; Morand, P. (Eds.) 1989. Insecticides of plant origin. A.C.-S. Symposium series. 387. American Chemical Society. Washington, D.C.

- ATHEORTUA, L. 1994. Retrospectiva de los plaguicidas de origen vegetal. Memorias XXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología: 186-225.
- BROWN, A. W. A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes; A pragmatic review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 2: 123-140.
- CAMACHO, R. 1991. Situación actual del dengue en Colombia. III reunión de investigadores de malaria y otras enfermedades tropicales. Ministerio de Salud Colombia O. P. S. Río negro: 81-95.
- CAMBELL, F. L.; SULLIVAN, W. W.; SMITH, L. N. 1933. The relative toxicity of nicotine, anabasine, methyl anabasine and lupinine for *Culicidae* mosquito larvae. *J. Econ. Entomol.* 26: 500-509.
- CAVE, A.; CORTES D.; FIGADERE, B.; HOCQUEMILLER, R.; LAPREVOTE, O.; LAURENS, A.; LEBOEUF, M. 1993. Recent advances in the acetogenins of Annonaceae. En: *Phytochemical potential of tropical plants*, K. R. Downum *et al.*, (ed.), Plenum press. New York: 167-202.
- CEPLEANU, F. 1993. Validation and application of three benchtop bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation. These de Doctorat. Présentée à l'Ecole de Pharmacie de l'université de Lausanne.
- CORREA, J. E.; BERNAL, H. 1989. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Bogotá. Colombia. Tomo I: 227-241.
- FERAS, Q. A.; XIAO-XI, L.; McLAUGHLIN, J. 1999. Annonaceous acetogenins recent progress. *J. Nat. Prod.* 62: 504-540.
- HELLPAP, C. 1993. Steps for developing botanical pesticides. Manuscrito. G. T. Z.
- LEBOEUF, M.; CAVE, A.; BHAVMIK, P. K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. 1982. The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry* 21: 2783-2813.
- MATSUMURA, F. 1975. Toxicology of insecticides. Plenum press, New York.
- MIKOLAJCZAK, K. L.; McLAUGHLIN, J. L.; RUPPRECHT, J. K. 1988 and 1989 Control of pest with Annonaceous acetogenins. US patent, No. 4,721,727 and 4.855,319.
- MINISTERIO DE SALUD COLOMBIA, INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. 2002. Sivigila. Boletín epidemiológico semanal. Semana 52. Dic. 22- 28.
- MOESCHLER, H. F.; PFLUGER, W.; WENDISCH, D. 1986. Annonin insecticide. Germán patent, DE 3,438,763 A1.
- MOESCHLER, H. F.; PFLUGER, W.; WENDISCH, D. 1987. Puré Annonin and process for the preparation. US patent, No.4,6889,232.
- MYINT, S. H.; CORTES, D.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R.; LEBOEUF, M.; CAVE, A.; COTTE, J. 1991. Solanin a citotóxico monotetrahidrofuranico gama-lactone acetogenin from *Annona muricata* seeds. *Phytochemistry* 30 (10): 335-338.
- OHSAWA, K.; KATO, S.; HONDA, H.; YAMAMOTO, I. 1990. Pesticidal active substances in tropical plants: insecticidal substance from the seeds of Annonaceae. *J. Agric. Sci. Tokio, Nogyo, Daigaku (Japón)* 34 (4): 253-258.
- OPS. 1999. Informe de la situación de los programas de malaria en las américas. HCP/HCT/M.
- OPS/OMS 2000. Informe sobre la implementación de la iniciativa hacer retroceder la malaria en Colombia. R. de Colombia, Ministerio de Salud.
- [HTTP://WWW.PAHO.ORG/ENGLISH/HCP/HCT/VBD/DENGUE-CASES-2002.HTM](http://www.paho.org/english/hcp/hct/vbd/dengue-cases-2002.htm)
- RAYMOND, M. 1985. Presentation de un programme de analyse log-probit pour micro-ordinnateur. *Cah. Orstom Ser. Ent. Med et parasitol.* 22 (2): 117-121.
- ROBLOT, F.; LAUGEL, T.; LEBOEUF, M.; CAVE, A.; LEPREVOTE, O. 1993. Two acetogenins from *Annona muricata* seeds. *Phytochemistry* 34: 281-285.
- ROSENTHAL, G. A. 1986. Defensa química de las plantas superiores. *Investigación y Ciencia* 114: 70-77.
- RUPPRECHT, J. K.; HUÍ, Y. H.; McLAUGHLIN, J. L. 1990. Annonaceous acetogenins: a review. *J. Nat. Prod.* 53: 237-278.
- SAXENA, R. C. 1989. Insecticides from neem. En: *Insecticides of plant origin*. Arnanson, J. T., B. J. R. Philogene ; P. Morand. (eds.). Am. Chem. Soc. Washington D.C. 110-135.
- SAXENA, A.; HARSHAN, V.; SAXENA, R. C. 1993a. Mosquito larvicidal activity of *Annona squamosa* extract. *Zeitschrift fuer angewandte zoologie (Germany)* 79: 185-191.
- SAXENA, R. C.; HARSHAN, V.; SAXENA, A.; SUKUMARAN, P.; SHARMA, M. C.; LAKSHMANA, M. 1993b. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 9: 84-87.
- STURCHLER, D. 1989. How much malaria is there worldwide?. *Parasitology Today* 5 (2): 39-40.
- SUKUMAR, K. J.; PERICH, M.; BOOBAR, L. R. 1991. Botánica derivatives in mosquito control: a review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 7 (2): 210-237.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1995. Vector control for malaria and other mosquito-borne diseases. Technical Report Series 857.

Recibido: Ago. 28/2003

Aceptado: Ene. 24/2004

Determinación del azúcar preferencial en la dieta de *Lutzomyia evansi* (Nuñeztovar) (Diptera: Psychodidae)

Determination of the preferred sugar in the diet of *Lutzomyia evansi* (Nuñeztovar) (Diptera: Psychodidae)

GILBERTO BASTIDAS P.¹, MILAGROS OVIEDO², ALEJANDRA VIVENES J.³, ADALBERTO GONZÁLEZ³

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 193-196 (2004)

Resumen. Los azúcares han sido señalados por jugar un papel clave en la biología y relación parásito *Leishmania* – hospedador. Bajo condiciones experimentales se precisó el azúcar de preferencia en la dieta de *Lutzomyia evansi* vector alterno de *Leishmania chagasi*. A hembras de una colonia de *L. evansi* y hembras silvestres, postdepleción de azúcares naturales, se les ofreció a la vez y durante 72 h: fructosa, sacarosa, melezitosa, glucosa, galactosa y maltosa debidamente marcados con colorantes vegetales; bajo lupa binocular se determinó el azúcar ingerido por el color presente. Los resultados se compararon con los obtenidos con hembras de colonia de *L. longipalpis*. De 618 hembras de *L. evansi* ensayadas, en 340 se detectó fructosa (55%) indistintamente del colorante empleado seguido por melezitosa (18,6%) y sacarosa (15,5%). Resultados similares fueron obtenidos con 199 hembras de colonia. En contraste, *L. longipalpis* prefirió sacarosa (34%), seguida de glucosa (29%) y fructosa (24%). La prueba de antrona evidenció en hembras silvestres la presencia de fructosa en 55,5% de la muestra. Estos hallazgos son relevantes para la biología de la especie y pudieran ser significativos en el establecimiento y patrón de desarrollo del parásito dentro del insecto vector.

Palabras clave: Dieta. Azúcares reductores. Leishmaniosis.

Summary. Sugars have been shown to play an important role in the biology and relationship between the host and parasitic *Leishmania*. Under experimental conditions the preferred sugars in the diet of *Lutzomyia evansi*, alternate vector of *Leishmania chagasi*, were determined. After the depletion of their natural sugars, females from the wild and females from a colony of *L. evansi* were periodically offered, over a period of 72 hours, fructose, saccharose, melezitose, glucose, galactose and maltose, identified by different vegetable colorings; the ingested sugar was determined by its color under a binocular magnifying glass. The results were compared with those from a colony of *L. longipalpis*. Of 618 wild *L. evansi* studied, fructose was detected in 340 females (55%), regardless of the color used, followed by melezitose (18,6%) and saccharose (15,5%). Similar results were obtained from 199 females from the colony. In contrast, *L. longipalpis* preferred saccharose (34%), followed by glucose (29%) and fructose (24%). The anthrone test detected the presence of fructose in 55,5% of the sample of females from the wild. These discoveries are relevant to the biology of the species and could be significant in the establishment and pattern of parasite development inside the insect vector.

Key words: Diet. Sugar reductors. Leishmaniosis

Introducción

El azúcar es el alimento básico de los mosquitos, es el único nutriente consumido por machos y probablemente uno de los más comunes para las hembras, aún cuando ellas necesitan sangre de vertebrado para producir huevos. Se sostiene que los machos toman azúcar varias veces durante su vida y las hembras, poco después de su emergencia (Foster 1995).

En la naturaleza, las fuentes naturales de azúcar son néctar, jugos de plantas, (Sandholm y Price 1962; Shleim y Warburg 1986) frutos maduros y secreciones de áfidos y coccídeos. Scorza *et al.* (1985)

sugieren que el fruto maduro del cafeto puede servir como fuente de azúcar para *Lutzomyia youngi* (Feliciangeli y Murillo, 1987) y Killick - Kendrick (1979) propone que la solución excretada por los áfidos podría ser importante como fuente de energía. Estos carbohidratos son indispensables para los flebótomos adultos de ambos sexos puesto que proporcionan energía para el vuelo y otras actividades y además, para las hembras es el complemento de la ingesta sanguínea (Samie *et al.* 1990). Otros estudios señalan la influencia de la presencia de áfidos en la densidad de los flebótomos, señalándose una acción fagoestimulante de tales secreciones sobre los insectos (Cameron *et al.* 1995). Así

mismo, los flebótomos muestran preferencia hacia ciertas especies de plantas al momento de realizar la ingesta azucarada y ante diferentes tipos de azúcares (Chanotis 1974; Schlein y Warburg 1986; Castillo 1989).

Trazas de diferentes azúcares, monosacáridos y disacáridos, se han detectado en el tracto digestivo de diferentes especies de flebótomos, tanto del Viejo como del Nuevo Mundo; entre éstos se mencionan: glucosa, sacarosa, maltosa, arabinosa y melobiosa encontrados libres en la naturaleza y se sugiere la presencia de una enzima invertasa glicosidasa en el intestino, capaz de degradar los disacáridos a sus

- 1 Autor para correspondencia: Profesor e Investigador del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales "Dr. J. W. Torrealba" Apdo. 214, adscrito a la Universidad de Carabobo. Valencia-Venezuela. E-mail: bastidasprotozoo@hotmail.com
- 2 Profesora e Investigadora del Centro de Investigaciones José Witremundo Torrealba, Laboratorio de Biología de *Lutzomyia* e Insectario Pablo Anduze. Trujillo-Venezuela. E-mail: longipalpis@cantv.net
- 3 Investigadores del Centro de Investigaciones José Witremundo Torrealba, Laboratorio de Biología de *Lutzomyia* e Insectario Pablo Anduze. Trujillo-Venezuela.

componentes monosacáridos (Young *et al.* 1980; Castillo 1989; Morton *et al.* 1991).

La presencia de fructosa y de otros carbohidratos, que por hidrólisis generan fructosa, fue verificada por Young *et al.* (1980) en *Phlebotomus ariasi* mediante la prueba de antrona en frío descrito por Van Handel (1967). Empleando otra metodología, Añez *et al.* (1994) detectaron por cromatografía de gas, en el intestino y divertículo esofágico de *L. youngi*, sacarosa, fructosa, glucosa y maltosa, sugiriendo que estos cuatro azúcares son comúnmente ingeridos por flebotomos de ambos sexos. Se ignora cuál puede ser el azúcar preferido por *Lutzomyia evansi*, considerado vector de leishmaniosis visceral en algunas áreas de Colombia y Venezuela (Travi *et al.* 1990; Aguilar *et al.* 1998; Feliciangeli *et al.* 1999; Vivenes 2000).

Además de su valor energético, los azúcares influyen de manera significativa en el establecimiento y desarrollo de parásitos leishmánicos dentro del insecto. Ejercen acción quimiotáctica sobre estos parásitos determinando su migración anterior y posterior colonización del intestino anterior, asegurando su transmisión al hospedador vertebrado. En sentido contrario, pueden inhibir la unión de los parásitos a los receptores lectínicos presentes en la superficie del intestino del insecto bloqueándolos o induciendo su liberación (Molyneux *et al.* 1986).

Como parte de un estudio sobre biología de *L. evansi* y su papel como transmisor de *Leishmania chagasi*, se investigó la preferencia de azúcar por esta especie en ejemplares silvestres y de colonia y se precisó la presencia de fructosa y otros azúcares en hembras silvestres.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *L. evansi* utilizados en este estudio fueron: poblaciones de colonia de 48 horas de emergencia, obtenidas de acuerdo con Oviedo *et al.* (1995) y mantenidas en el Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba" en Trujillo, Venezuela y poblaciones silvestres coleccionadas sobre trampas Shannon en dos localidades del estado Trujillo de la región andino-venezolana; los Pajones (9° 30' 28" LN y 70° 33' 19" LO) y Montaña de Peraza (9° 27' 05" LN y 70° 31' 33" LO) considerada esta última como un foco endémico de leishmaniosis visceral. Así mismo, se emplearon ejemplares de colonia de *L. longipalpis* (Lutz y Neiva, 1912) comprobado vector de *L. chagasi* en el Neotrópico.

Se hicieron dos tipos de experimentos:

1) Estudio de la preferencia de azúcar por hembras silvestres y de colonia de *L. evansi* y hembras de colonia de *L. longipalpis* mediante ingesta de azúcares coloreados con colorante vegetal Mc Cormick®, ya que esto permitiría probar varios azúcares en una prueba competitiva y visualizar en for-

ma práctica el carbohidrato ingerido. En el caso de las hembras silvestres de *L. evansi*, éstas se mantuvieron en ayunas durante 72 h a 25°C y 90% de humedad relativa para que depletaran los carbohidratos ingeridos naturalmente. Posteriormente, se les proporcionó en trozos de polietileno, soluciones saturadas de fructosa (monosacárido), sacarosa (disacárido), melezitosa (trisacárido), maltosa (disacárido), glucosa (monosacárido) y galactosa (SIGMA) previamente marcadas con colorante vegetal (Mc Cormick) y renovadas cada 24 h.

Con la finalidad de evitar un eventual sesgo de escogencia por el color de las soluciones azucaradas, se realizaron 6 réplicas en cada una de las cuales se intercambié el color del azúcar; los colorantes empleados fueron: rojo, amarillo, azul, verde, anaranjado y morado. Los ensayos se hicieron de manera competitiva; es decir, se le suministró al mismo grupo de insectos, en forma simultánea seis azúcares marcados con diferente color. Transcurridas 48 h cada insecto fue disecado y bajo lupa binocular se determinó el azúcar ingerido por el color presente. Se ensayaron 618 hembras silvestres de *L. evansi*, de éstas 303 se coleccionaron en los Pajones y 315 en Montaña de Peraza.

Igual procedimiento fue empleado para detectar la preferencia de carbohidratos en hembras de colonia de *L. evansi* y hembras de colonia de *L. longipalpis*.

2) Investigación de la ingesta natural de azúcar por hembras silvestres de *L. evansi* por medio de la prueba de antrona (Van Handel 1967). Inmediatamente después de capturados los insectos, fueron narcotizados con dióxido de carbono para evitar la depleción de los azúcares naturales, y se colocaron en placas de titulación y fueron triturados (cada uno) con una varilla de vidrio para evitar contaminación. Luego se les agregó 0,16 ml de solución de antrona al 0,1% (w/v) en 72% (v/v) de ácido sulfúrico en frío.

La positividad de la prueba fue leída por la aparición de un color azul, empleando una escala subjetiva (0, +, ++ y ++++) de acuerdo con la intensidad del color desarrollado en un tiempo no mayor de 15

minutos. Los insectos negativos fueron aquellos que no revelaron color en el lapso de una hora.

Resultados

Ingestión selectiva de azúcares coloreados

Los resultados obtenidos en la ingestión experimental de carbohidratos se presentan en la tabla 1. Se evidencia que del total de la muestra, 618 flebotomos, el 55% ingirió fructosa seguida de un 18,6% de melezitosa y 15,5% de sacarosa. Los azúcares restantes glucosa, galactosa y maltosa se ingirieron en muy baja proporción, lo que muestra una franca preferencia de *L. evansi* por la fructosa. Cuando se analizan los insectos por área de procedencia para ambas localidades es marcada la preferencia por fructosa, pero en el caso de la ingestión de melezitosa fue mayor en las hembras de Montañas de Peraza con un 26% en comparación con un 10,8% de las hembras provenientes de la localidad de los Pajones.

En cuanto a la preferencia por fructosa, resultados similares se observaron en especímenes de colonia, en donde, de 199 hembras ensayadas el 49,2% ingirió fructosa, independientemente del colorante utilizado. Sin embargo, en las hembras de colonia no se detectó ingestión de melezitosa, sólo ingirieron fructosa, glucosa y sacarosa (Tabla 2). En esta misma tabla se muestran los resultados obtenidos en especímenes de colonia de *L. longipalpis*, en cuyos ejemplares se detectaron los marcadores de sacarosa, melezitosa y maltosa, lo que sugiere que la especie pareciera ser ecléptica en la ingestión de azúcares; sólo se observa una ligera predilección por sacarosa, ya que el 34% de las 191 hembras ensayadas mostraron el marcador de sacarosa.

Ingesta natural de azúcar

En cuanto a la detección de azúcares reductores en hembras silvestres mediante la prueba de antrona, se evidenció en general que el 55,5% de las hembras reaccionó positivamente en un tiempo no mayor de 15 minutos (Tabla 3). El contenido de fructosa se observó en diferentes con-

Tabla 1. Ingestión experimental de carbohidratos por hembras de *Lutzomyia evansi* coleccionadas en los Pajones y Montaña de Peraza, Trujillo, Venezuela

Azúcar	Pajones		Peraza		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Fructosa	167	55,1	173	54,9	340	55
Sacarosa	59	19,4	37	11,7	96	15,5
Glucosa	36	11,8	22	6,9	58	9,3
Melezitosa	33	10,8	82	26,0	115	18,6
Galactosa	8	2,6	-	-	8	1,2
Maltosa	-	-	1	0,3	1	0,16
Total	303	99,7	315	99,8	618	100

Tabla 2. Preferencia de carbohidratos en la dieta de ejemplares de colonia de *Lutzomyia evansi* y *Lutzomyia longipalpis*

Azúcar	<i>Lutzomyia evansi</i>		<i>Lutzomyia longipalpis</i>	
	Nº	%	Nº	%
Fructosa	98	49,2	46	24
Sacarosa	44	22,1	65	34
Glucosa	57	28,6	56	29
Melezitosa	-	-	11	5,7
Galactosa	-	-	-	-
Maltosa	-	-	13	6,8
Total	199	99,9	191	99,5

Tabla 3. Resultado del test de antrona en hembras de *Lutzomyia evansi* capturadas en las localidades de los Pajones y Montaña de Peraza, Trujillo, Venezuela

Escala	Pajones		Peraza		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Positivos	99	52,1	160	57,9	259	55,5
Negativos	91	47,8	116	42,0	207	44,4
Total	190		276		466	

Tabla 4. Presencia de azúcares reductores en hembras silvestres de *Lutzomyia evansi*, Trujillo, Venezuela

Escala	Pajones		Peraza		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
+	57	22,0	66	25,4	123	47,4
++	31	11,9	66	25,4	97	37,4
+++	11	04,2	28	10,8	39	15,0
Total	99		160		259	

centraciones a juzgar por la intensidad de la reacción leída como positiva, desde + hasta +++.

De los 259 ejemplares reactivos, 47,3% dieron reacción débilmente positiva (+); el 37,4% dieron reacciones francamente visibles (++) y el 15% dieron una reacción intensamente positiva (+++); todo antes de 15 minutos como se ejemplifica en la tabla 4. Los insectos que no reaccionaron con la prueba de antrona después de una hora de exposición fueron considerados como negativos, esto significó el 44% del total de la muestra.

Discusión

Los resultados confirman hechos bien conocidos, a saber, que los flebotomos al igual que otros dípteros Nematóceros ingieren naturalmente azúcar como fuente de energía, a juzgar por su presencia en el tubo digestivo en especímenes recién capturados y en insectos bajo condiciones experimentales (Castillo 1989).

La ingestión experimental de carbohidratos por hembras de *L. evansi* y *L. longi-*

palpis se llevó a cabo empleando como marcadores, colorante vegetal Mc Cormick®. Los insectos no fueron afectados en la selección del carbohidrato por el color ya que cuando hubo preferencia por un carbohidrato indistintamente del color del marcador del azúcar empleado, éste fue ingerido. Esto confirma lo planteado por Dethier *et al.* (1956) y Salama (1966) quienes describen que la ingestión de carbohidratos en ciertos insectos es controlado por un sistema de quimiorreceptores localizados en los tarsos, labela, labro y cibario, por lo que el estímulo visual no jugaría parte importante en la selección.

Experiencias previas sobre preferencias de azúcar en flebotomos han sido realizadas proporcionándoles carbohidratos marcados con colorante vegetal a grupos de insectos por separado, tal es el caso de Chaniotis (1974), quien ensayó la preferencia de 11 azúcares por *L. trapidoi* Fairchild y Hertig, 1952; refiriendo que esta especie acepta en orden de preferencia cinco azúcares a saber: sacarosa, fructosa, maltosa, rafinosa y D glucosa.

Los ensayos realizados de forma competitiva pueden representar de mejor manera la existencia de preferencia por un determinado carbohidrato.

A pesar de que estas pruebas fueron sólo realizadas con soluciones saturadas de azúcar, este hecho pareciera no tener un efecto marcado sobre la aceptación de la misma, tal como fuera demostrado por Chaniotis (1974).

Bajo este sistema, los ejemplares de *L. evansi* muestran una franca predilección por la fructosa, mientras que los ejemplares de *L. longipalpis*, aunque ingieren la mayoría de los carbohidratos empleados (fructosa, glucosa, sacarosa, melezitosa y maltosa), muestran ligera predilección por sacarosa, resultados similares encontró Castillo (1989) en *L. youngi*.

Un aspecto importante a resaltar es la diferencia en la aceptación de un mayor número de azúcares por los especímenes silvestres de *L. evansi* que los de colonia, resaltando a la vez que el trisacárido melezitosa fue el segundo más ingerido por ejemplares silvestres, en tanto que los especímenes de colonia no lo ingirieron. Esto pudiera ser explicado por el hecho de que los ejemplares de colonia han sido sometidos al consumo de sacarosa por varias generaciones, mientras que en la naturaleza ellos pudieran tomar néctar floral y extrafloral, que de acuerdo con Foster (1995) a menudo contiene el trisacárido melezitosa.

En el caso de *L. longipalpis*, a pesar de ser una colonia que ha sido mantenida por 70 generaciones, esta posible explicación de preferencia de azúcar de *L. evansi* no es aplicable, ya que puede ingerir cinco de los seis azúcares probados, a saber; fructosa, sacarosa, glucosa, melezitosa y maltosa; esta especie, bajo condiciones de laboratorio, es altamente adaptable a diferentes condiciones.

Es importante resaltar que la lectura de la positividad de la reacción de antrona fue leída a los 15 minutos, ya que después de este tiempo no se encontró reactividad en los ejemplares, contrariamente a lo señalado por Young *et al.* (1994) quienes describen en su metodología lectura hasta 120 minutos.

El hecho de que *L. evansi* mostrara marcada preferencia por fructosa plantea la necesidad de llevar a cabo estudios posteriores de la implicación de la fructosa en la bionomía de la especie de *Lutzomyia* y en la relación parásito - hospedador en el modelo *L. chagasi* - *L. evansi*, ya que la ingesta de azúcares puede intervenir en el establecimiento y desarrollo de los parásitos de *Leishmania* (Molyneux *et al.* 1986; Muskus 1997).

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. José Vicente Scorza por las revisiones y críticas al manuscrito. Al FONACIT por financiar la investigación, a través del proyecto S1- 2002-000501.

Literatura citada

- AGUILAR, C. M.; FERNÁNDEZ, E.; FERNÁNDEZ, R.; CANNOVA, D.; FERRER, E.; CABRERA, Z.; SOUZA, W.; COUTINHO, S. 1998. Urban visceral Leishmaniasis in Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93 (1): 15-16.
- AÑEZ, N.; LUGO, A.; LOAIZA, A.; NIEVES, E., OROZCO, J. 1994. Sugar in the alimentary canal of *Lutzomyia youngi* (Diptera: Phlebotominae). *Medical and Veterinary Entomology* 8: 38-42.
- CAMERON, N. M.; MILLIGAN, P. J. M.; CUENTAS, A. L.; DAVIES, C. R. 1995. An association between phlebotomine sandflies and aphids in the Peruvian Andes. *Medical and Veterinary Entomology* 9 (2): 127-132.
- CASTILLO, L. 1989. Mecanismo de adhesión de *Leishmania braziliensis* en *Lutzomyia youngi*. Trabajo de Ascenso. Mimeografiado. Núcleo Universitario "Rafael Rancel", Universidad de los Andes. 25 p.
- CHANOTIS, B. N. 1974. Sugar - feeding behavior of *Lutzomyia trapidoi* (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *Journal of Medical Entomology* 11: 73-79.
- DETHIER, V. G.; WOLBARSH, M. L. 1956. The electron microscopy of chemosensory hairs. *Experientia* 12 (9): 335-337.
- FELICIANGELI, M. D.; RODRÍGUEZ, N.; de GUGLIELMO, Z.; RODRÍGUEZ, A. 1999. The re-emergence of American visceral leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II. Vectors and parasites. *Parasite* 6: 113-120.
- FOSTER, W. A. 1995. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Annu. Rev. Entomol.* 40: 443-474.
- KILLICK - KENDRICK, R. 1979. The biology of Leishmania in phlebotomine sandflies. *Biology of the Kinetoplastida*, p. 395-460. Vol II (ed, by W. H. R. Lumsden and D. A. Evans), Academic Press, London.
- MOLINEUX, D.H.; RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J. J. 1986. The Leishmania - sandfly interface. *Leishmania Taxonomie et Phylogenese Applications eco-epidemiologiques* (Coll. Int. CNRS INSERM, 1984). IMEE. Montpellier. p. 311-321.
- MORTON, I.; BRAZIL, R.; WARD, R.; VASCONCELOS, A. 1991. The presence of fructosa in wild-caught *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 86 (1): 125-125.
- MUSKUS, C. E. 1997. Papel del LPG y carbohidratos en la virulencia de *Leishmania* del subgénero *Viannia*. Tesis de Maestría en Microbiología y Parasitología. Universidad del Valle, Departamento de Microbiología, corporación CIDEIM, Santiago de Cali-Colombia. 72 p.
- OVIEDO, M.; MORENO, G.; GRATEROL, D. 1995. Bionomía de los vectores de leishmaniasis visceral en el Estado Trujillo, Venezuela. III - Colonización de *Lutzomyia evansi*. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental* 35 (Supl. 1): 269-276.
- SAMIE, M.; WALLBANKS, K. R.; MOORE, J. S.; MOLYNEUX, D. H. 1990. Glycosidase activity in the sandfly *Phlebotomus papatasi*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 96B: 577-579.
- SALAMA, H. S. 1966. The function of mosquito taste receptors. *J. Insect Physiol.* 12: 1051-1060.
- SANDHOLM, H. A.; PRICE, R. D. 1962. Field observations on the nectar- feeding habits of some Minnesota mosquitoes. *Mosq. News* 22: 346-349.
- SCHLEIN, Y.; WARBURG, A. 1986. Phytophagy and the feeding cycle of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *Journal of Medical Entomology* 23 (1): 11-15.
- SCORZA, J. V.; CASTILLO, L.; REZZANO, S.; MARQUEZ, M.; MARQUEZ, J. C. 1985. El papel del café en la endemidad de la Leishmaniasis cutánea en Venezuela. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental* 25: 82-88.
- TRAVI, B.; VELEZ, I.; BRUTUS, I.; SEGURA, I.; JARAMILLO, C.; MONTOYA, J. 1990. *Lutzomyia evansi* an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombia focus of Leishmaniasis. *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.* 84: 676-677.
- VAN HANDEL, E. 1967. Determination of fructosa and fructose- yielding, carbohydrates with cold anthrone. *Analytical Biochemistry* 19: 193-194.
- VIVENES, A. 2000. *Lutzomyia evansi* hospedero biológico del complejo *Leishmania mexicana*. Tesis de Maestría en Protozoología. Mimeografiado. Núcleo Universitario Rafael Rangel Universidad de los Andes. 93 p.
- YOUNG, C. J.; TURNER, D. P.; KILLICK-KENDRICK, R.; RIOUX, J. A.; LEANY, A. J. 1980. Fructose in wild - caught *Phlebotomus ariasi* and the possible relevance of sugars taken by sandflies to the transmission of Leishmaniasis. *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.* 74 (3): 363-366.

Recibido: Sep. 25/2003

Aceptado: Feb. 21/2004

Trichoptera del Santuario de Iguaque (Boyacá, Colombia) y su relación con la calidad del agua

Trichoptera of he Santuario de Iguaque (Boyacá, Colombia) in relation to water quality

FRANCISCO MEDELLÍN C.¹, MÓNICA RAMÍREZ O.¹, MARÍA EUGENIA RINCÓN²

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 197-203 (2004)

Resumen. Se presentan los resultados obtenidos durante la investigación realizada en algunos de los principales cuerpos de agua del Santuario de Fauna y Flora de Iguaque, Boyacá: Quebradas Carrizal, Mamarramos Colorada y río Cane, donde se analizaron aspectos físico-químicos y composición de la trichoptero fauna bajo la técnica de recolección de coriotopos, durante los meses de septiembre de 2001 a abril de 2002. Se realizaron tres muestreos cubriendo temporadas de alta y baja precipitación, con el fin de analizar algunos aspectos físico-químicos y la composición de la trichoptero fauna. Se encontró que el régimen pluviométrico incide sobre las condiciones biológicas y físico-químicas ocasionando disminución en la abundancia de la comunidad de tricópteros durante los meses de alta precipitación (abril- mayo) y un aumento de la abundancia cuando disminuyen las lluvias. En todos los sistemas se registraron 3.281 individuos distribuidos en 10 familias y 19 géneros, se destacan por su abundancia los géneros *Contulma* y *Ochrotrichia*, con 45,68 y 16,36%, respectivamente. Se informaron como registros nuevos para la zona a los géneros *Culoptila* y *Metrichia*. De otro lado, son considerados como posibles bioindicadores para la zona algunas especies de los géneros: *Contulma*, *Ochrotrichia*, *Helicopsyche* y *Mortoniella*.

Palabras clave: Insectos acuáticos. Distribución espacio-temporal. Diversidad. Bioindicación.

Summary. Results are presented that were obtained during research conducted in some of the main bodies of water in the Iguaque Fauna and Flora Sanctuaries, Boyacá: Carrizal, Mamarramos, Colorada mountain streams and the Cane River. The physical-chemical characteristics and composition of the thrichopteran fauna were studied using the choriotope sampling technique during the months from September 2001 to April 2002. Three samples were taken covering periods of high and low precipitation in order to analyze some physical and chemical elements and composition of thrichopteran fauna. It was found that rain regime had an influence on the biological and physical chemical conditions causing a reduction in the abundance of the thrichopteran community during the months of high precipitation (April-May) and an increase in abundance when rains decreased. In all of the systems, 3.281 individuals distributed in 10 families and 19 genera were recorded. The genera *Contulma* and *Ochrotrichia* were predominant, with 45,68 and 16,36%, respectively. *Culoptila* and *Metrichia* were reported as new records for the zone. On the other hand, some species of the genera *Contulma*, *Ochrotrichia*, *Helicopsyche* and *Mortoniella* are considered as possible bioindicators for the zone.

Key words: Aquatic insects. Spatial and temporal distribution. Diversity. Bioindication.

Introducción

Los sistemas acuáticos continentales presentan una diversidad amplia de insectos acuáticos, dentro de la cual se encuentran organismos del orden Trichoptera que se han venido utilizando como indicadores de calidad de agua y donde se precisa el avance en su conocimiento en aspectos taxonómicos y ecológicos. Para la región neotropical, el catálogo de especies más actualizado es el de Flint *et al.* (1999) quienes registran 205 especies válidas para Colombia. Posteriormente, Muñoz (2000) publica un listado del grupo recopilando los registros existentes en Colombia, así informa de 210 especies válidas (una subespecie) clasificadas en 45 géneros y 13 familias. Respecto a la ecología del orden, se destacan los trabajos de Quintero y Rojas (1987) en el Valle de Cauca, Correa *et al.* (1981) en el departamento de Antioquia, Garavito (2002), González *et al.* (2001), Ruiz (2001) en el departamento de Cundinamarca.

Los trabajos de bioindicación se han realizado en el Valle del Cauca por Zúñiga y Rojas (1994), estudios orientados a la evaluación de la calidad de agua, donde presentan el índice de calidad de agua (ICA). Otros estudios de calidad de agua han estado a cargo de Morales (1984) para el río Medellín, Rojas (1991) para el río Cauca, Valle y Risaralda. Escobar (1989) estudia las comunidades macrobénticas del río Manzanares, sus principales afluentes y su relación con la calidad del agua. De otro lado, Roldán (1999) propone la adaptación del sistema de bioindicación para aguas contaminadas BMWP, con aplicaciones para el departamento de Antioquia. Posteriormente, Riss y Ospina (2002) realizan una nueva adaptación de este índice con base en los macroinvertebrados de la Sabana de Bogotá.

Para el Santuario de Iguaque se encuentran estudios como los de La Rotta (1989) quien publica el primer listado de tricóp-

teros de la zona, Paez *et al.* (1996) y Rincón (1996) quienes centran sus estudios en la bioecología de la comunidad de insectos en especial del orden Trichoptera; Rincón (2002) estudia la quebrada Mamarramos, ubicada en este mismo lugar donde caracteriza la composición de la comunidad de Insectos acuáticos.

Este trabajo se realizó durante el segundo periodo del año 2001 y el primer periodo del año 2002, en algunas de las corrientes más importantes del Santuario de Fauna y Flora de Iguaque: río Cane, y quebradas Colorada, Mamarramos y Carrizal. El Santuario se encuentra localizado en el departamento de Boyacá sobre la cordillera oriental (Garcés y de la Zerda 1994) (Fig. 1). El objetivo principal de esta investigación fue determinar la composición de la comunidad de Trichoptera y establecer cómo las variaciones físico-químicas inciden sobre ésta. Así mismo, se pretendió contribuir a consolidar un posible sistema

1 Licenciados en Biología Universidad Pedagógica Nacional. E-mail: franciscomedellin@hotmail.com

2 Autor para correspondencia: Profesora Departamento de Biología. Universidad Pedagógica Nacional. Av. Cll. 80 No 73A-21. Apto. 538. E-mail: merincon01@starmedia.com

de bioindicación regional, basado en los anteriores estudios realizados en la zona, en el marco de la Línea de Investigación Biodiversidad y Conservación de los Sistemas Acuáticos de la Región Andina, de la Universidad Pedagógica Nacional.

Materiales y Métodos

Se realizaron tres muestreos entre los meses de septiembre de 2001, enero y abril de 2002, meses que corresponden a periodos de baja y alta precipitación respectivamente, según datos suministrados por la estación pluviométrica Arcabuco, localizada en el Municipio de Arcabuco.

Para las quebradas Mamarramos, Colorado y río Cane se estableció una estación de muestreo, en altitudes que oscilan entre los 2.500 msnm y los 2.800 msnm, ubicadas a su vez dentro de las zonas de vida bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB) y bosque húmedo montano bajo (bh-MB) (Barrera y Acosta 1995).

Así mismo, en la quebrada Carrizal se seleccionaron tres estaciones sobre un gradiente altitudinal que osciló entre 2.900 msnm y 2.800 msnm, en la zona de vida correspondiente a bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB), para evidenciar el posible impacto que sobre este cuerpo de agua tiene un desagüe proveniente del centro de visitantes. Para la se-

lección de las estaciones se tuvieron en cuenta criterios como: pendiente, altitud, uso del suelo, cobertura vegetal, tipo de sustrato, variables hidrológicas y diversidad de insectos acuáticos.

En cada muestreo se evaluaron las siguientes variables: descarga, pH, turbidez, conductividad y sólidos disueltos totales a través del uso de instrumentos electrónicos como Oxímetro YSI modelo S54, previamente calibrado a cada altitud; conductímetro Orion modelo 130, Turbidímetro H 193703 Range 0.00...1.000 FTU y pHmetro modelo Orion 250 A. De otra parte, en la quebrada Carrizal, por solicitud del Ministerio del Medio Ambiente Regional Boyacá-Casanare, además de las variables mencionadas, se hizo un análisis físico-químico más detallado que incluyó los parámetros de alcalinidad total, nitritos, nitratos, dureza total, fósforo total y DBO5, mediante la toma de muestras de 1 L de agua en frascos esterilizados y oscuros. Este análisis se realizó en un laboratorio particular, teniendo en cuenta los parámetros de la APHA (1989).

La colecta de los organismos inmaduros se realizó en un área de 10 m², mediante la técnica de coriotosos propuesta por Rincón (1996). Cada coriotoso se muestreó en un área aproximada de 1 m² con ayuda de red de Thienneman. Los coriotosos seleccionados para cada estación fueron:

musgos y piedras en corriente rápida y lenta (MCL, MCR, PCL y PCR), cascada (CAS), hojarasca (HOJ), salpicadura (SAL) y ribera (RIB). Posterior a la colecta, los estados inmaduros de tricópteros y la fauna acompañante se conservaron en frascos con alcohol etílico al 70%, debidamente rotulados para su posterior limpieza en laboratorio. En cada una de las estaciones a su vez, se realizaron colectas directas de adultos, entre las 18:00 y las 21:00 h utilizando trampas de luz y alcohol.

Para la limpieza de las muestras y la separación de los organismos se utilizaron tamices de diferente poro y estereoscopio para la observación detallada de las mismas. Las determinaciones de la comunidad de inmaduros de Trichoptera se realizaron hasta el nivel de género, a través del uso de claves taxonómicas como las de Holzenthal y Flint (1995), Angrisano y Korob (2001), Merrit y Cummins (1996), Wiggins (1996), Roldán (1988), entre otras.

En el caso de los especímenes adultos de los tricópteros, las determinaciones se hicieron hasta el nivel de especie y fueron corroboradas por el Doctor Oliver Flint curador de este grupo en el Instituto Smithsonian de Washington.

El análisis e interpretación de los resultados físico-químicos mes a mes de la quebrada Carrizal se realizó con base en la técnica de ordenamiento (análisis de componentes principales) utilizando el programa Statistic Ecology. Además, se establecieron los índices de diversidad de Shannon-Weaver, dominancia de Simpson y equitatividad de Pielou a nivel de género, para cada uno de los sistemas estudiados.

La calidad del agua se evaluó mediante la aplicación del índice BMWP/Col (Biological Monitoring Working Party), adaptado por Roldán (1999) para la evaluación de los ecosistemas acuáticos de montaña, asignando un puntaje que va entre 1 y 10 para las familias de los macroinvertebrados encontrados. Este método se basa en un diagnóstico cualitativo de presencia -ausencia de organismos. Igualmente, se compararon los valores de tolerancia media (*Tm*) asignados por Riss y Ospina (2002), a las familias de Trichoptera de la Sabana de Bogotá, como una primera aproximación para el neotrópico, esta nueva adaptación al índice BMWP/Col incluye familias como Helicopsychidae y Anomalopsychidae, esta última no valorada en el sistema anterior. Los valores de tolerancia media se asignan con base a la sensibilidad de los taxa a las variables físicoquímicas, estos valores van en una escala de 1 a 10, donde el máximo valor indica menor tolerancia al tensor.

Resultados y Discusión

Aspectos físico - químicos

La zona de estudio se caracteriza por presentar un régimen de precipitaciones de carácter bimodal, de acuerdo con los registros de la estación pluviométrica de

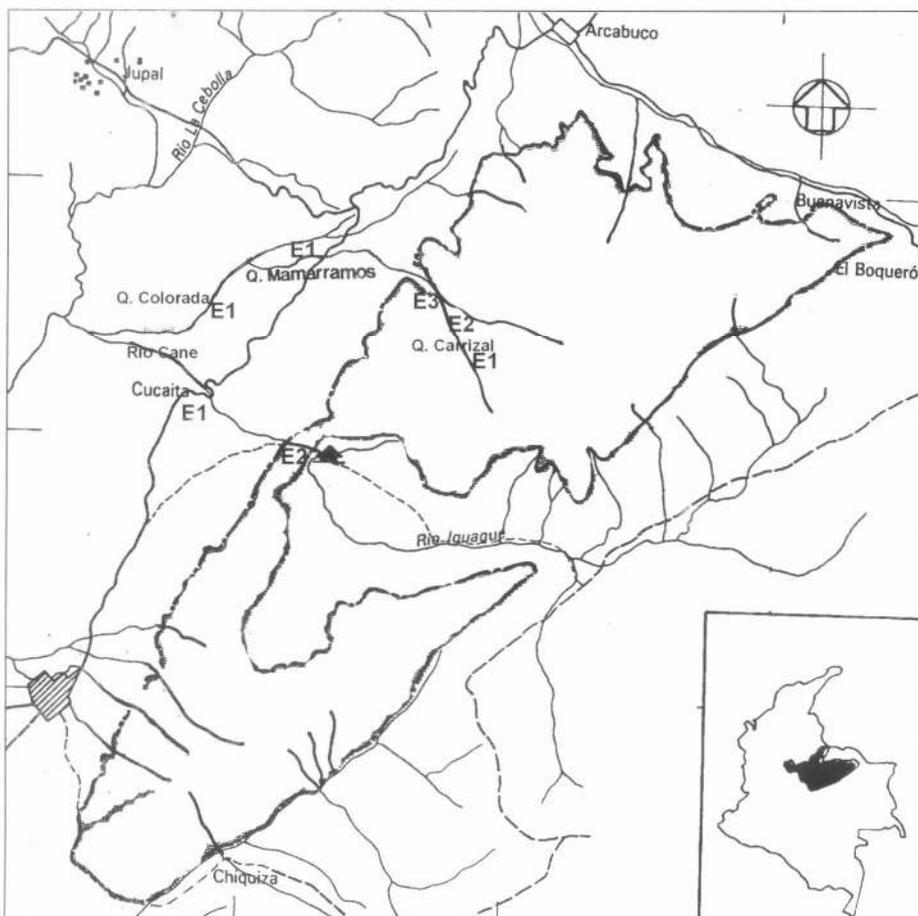


Figura 1. Mapa de la zona de estudio.

Arcabuco, ubicada en cercanías al Santuario, donde se destacan dos picos de precipitaciones altas en los meses abril-mayo y octubre-noviembre. En relación con las variables hidrológicas analizadas, se encontró que los valores mayores de descarga, para cada uno de los sistemas muestreados, están en el mes de abril, oscilando entre los 0,143 m³/seg y 1,032 m³/seg, este último valor se registró para el río Cane. Así mismo, el aumento en las variables conductividad y sólidos disueltos totales coincide con las precipitaciones bajas propias de los meses de septiembre y enero (Tabla 1), estos valores no superan los registrados para sistemas de alta montaña donde la alcalinidad y conductividad no son mayores de 50 mg/l y 20 mS/cm⁻¹, respectivamente (Roldán 1992).

El comportamiento de la quebrada Carrizal no presenta mayores variaciones en los parámetros físico-químicos analizados, con respecto a anteriores estudios realizados en la zona (Páez *et al.* 1996; Rincón 1996). La figura 2 muestra las variaciones de dureza total, ortofosfatos y DBO5, en cada una de las tres estaciones muestreadas, encontrando una posible dilución en la concentración de iones de calcio y magnesio para la dureza total, como resultado de un aumento en el caudal en la temporada de precipitaciones altas, correspondiente al mes de abril. De igual forma durante este mismo mes, aumentaron los valores de ortofosfatos, superando los 0,001 mg/L PO₄, propios de sistemas altoandinos. En el caso de las estaciones 2 (E2) y 3 (E3), este aumento se relaciona posiblemente con el aporte de un vertimiento de aguas servidas, proveniente del centro de visitantes, que ocurre cuando aumentan las lluvias.

La demanda biológica de oxígeno presenta valores entre 1 y 2 mg/L, aguas con estas características de DBO se ubican dentro

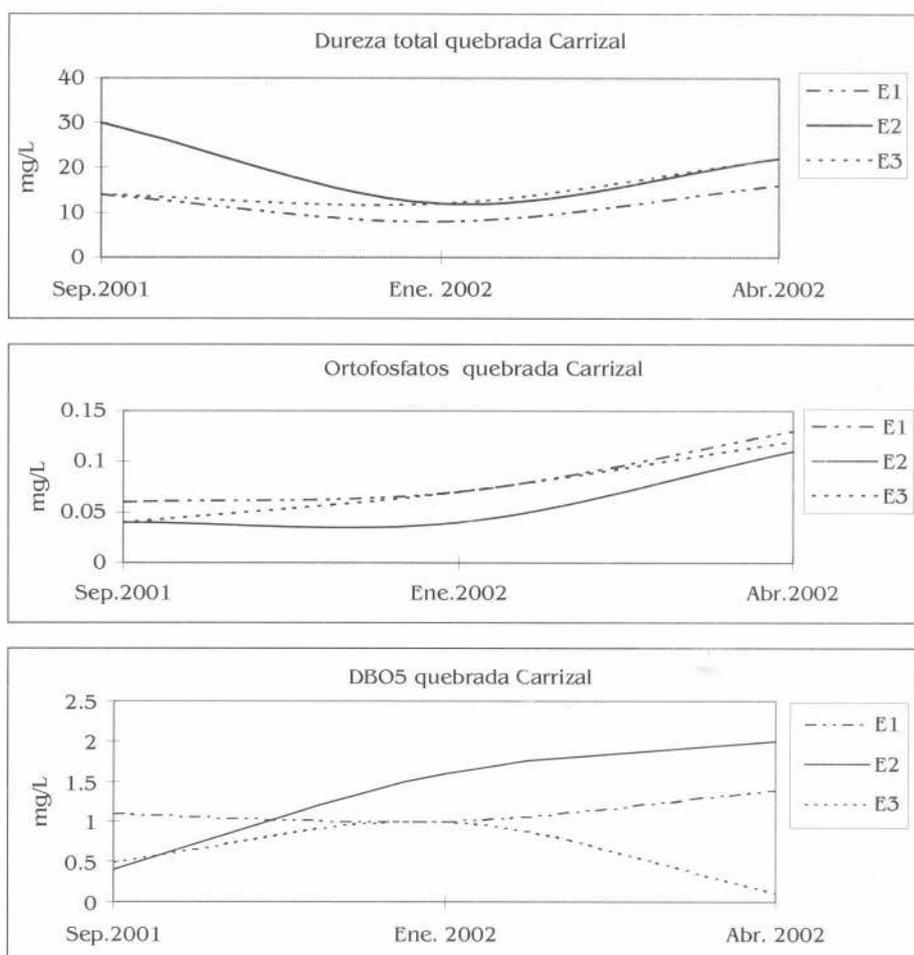


Figura 2. Caracterización físico-química de la quebrada Carrizal.

de una situación aceptable (Ramírez y Viña 1998). El valor mayor de este parámetro se obtuvo en la estación 2 durante el aumento de las lluvias en el mes de abril, lo que ocasiona un rebosamiento del des-

agüe (Tabla 2). En cuanto a la estación 1 se encuentra que el valor de DBO es igual a 1,4 mg/L y se asocia con la descomposición de materia orgánica, producto del aporte de material vegetal proveniente del

Tabla 1. Intervalo de variación de los parámetros físico-químicos de los cuerpos de agua estudiados septiembre de 2001 a abril 2002

Parámetros	Q. Mamarramos		Q. Colorada		Q. Carrizal		Río Cane	
	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx
Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$	4,45	8,83	2,18	2,8	3	6	11,5	14,05
Sólidos totales mg/L	2	4	9	20	1	3	5	6
Turbidez (FTU)	0,6	1,3	0,1	0,7	0	1,31	12,06	13,5

Tabla 2. Caracterización físico-química de la quebrada Carrizal septiembre 2001 a abril de 2002

Parámetro analizado	Septiembre 2001			Enero 2002			Abril 2002		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
PH	7,3	8,3	7,7	6,7	6,7	6,6	6,6	6,4	6,1
Alcalinidad Total mg/L CaCo ₃	12,0	14,0	14,0	8,0	12,0	10,0	6,0	8,0	6,0
Dureza Total mg/L CaCo ₃	14,0	30,0	14,0	8,0	12,0	12,0	16,0	22,0	22,0
Oxígeno Disuelto mg/L	9,7	8,8	8,7	7,8	7,4	8,0	8,5	7,9	8,9
DBO5 mg/L	1,1	0,4	0,5	1,0	1,6	1,0	1,4	2,0	0,1
Ortofosfatos mg/L PO ₄	0,006	0,04	0,04	0,07	0,004	0,07	0,13	0,11	0,12
Nitritos mg/L N	0,002	0,002	0,002	0,001	0,01	0,001	0,001	0,001	0,001
Nitratos mg/L N	0,01	0,01	0,01	0,13	0,1	0,1	0,01	0,01	0,1
Amonio mg/L N	0,2	0,14	0,09	0,06	0,006	0,04	0,15	0,39	0,38

bosque andino aledaño. La temperatura registrada en los puntos de muestreo de este sistema oscila entre 8°C y 10°C, temperatura que contribuye con el retraso de estos procesos oxidativos.

Los valores registrados para nitratos y amonio, no muestran grandes variaciones durante el tiempo en el que se realizó el estudio, los datos obtenidos presentan valores menores que 1 mg/L para nitratos y entre 0,09-0,39 mg/L para amonio, condición propia de los sistemas altoandinos (Roldán 1992). Las variaciones de pH no son amplias, valores que se encuentran en un rango de 6 a 7, permiten identificar el sistema con una tendencia ligeramente ácida, en concordancia con los rangos establecidos para otros sistemas de la zona como la quebrada Mamarramos (Rincón 2002).

El comportamiento del oxígeno disuelto en la quebrada Carrizal es constante con oscilaciones entre los 8 y 9 mg/L (Tabla 2). Teniendo en cuenta la temperatura del sistema, la cual no supera los 12°C, puede decirse que la solubilidad del oxígeno es la esperada de acuerdo con la altitud en la que se ubican las estaciones, según la escala propuesta por Ramírez y Viña (1998) para calcular el valor del oxígeno correlacionando temperatura y altitud.

Los resultados obtenidos a partir del análisis de componentes principales (Fig.3), permiten ver la formación de tres grupos de acuerdo con las variaciones en los parámetros fisicoquímicos analizados en la quebrada Carrizal, confirmando su relación con la precipitación. El grupo I corresponde al muestreo realizado durante septiembre de 2001 (M1), mes de transición sequía lluvia, donde los parámetros alcalinidad, dureza, amonio y SDT aumentan, para cada una de las tres estaciones (E1,E2,E3) en relación con la concentración de iones, resultado de las precipitaciones bajas. En contraste, en el grupo III, abril de 2002 (M3), los parámetros anteriormente enunciados disminuyen su concentración por efecto de la dilución que ocasionan las precipitaciones altas en este mes. Finalmente, en el grupo II correspondiente al periodo de sequía, mes de enero de 2002 (M2), los parámetros que aumentan son turbidez, conductividad y SDT. La relación entre las variaciones en los parámetros fisicoquímicos y las precipitaciones describe el comportamiento típico para sistemas acuáticos neotropicales (Ramírez y Viña 1998).

Aspectos biológicos

Se encontraron 3.281 individuos del orden Trichoptera distribuidos en 10 familias y 19 géneros, donde las familias más representativas fueron: Anomalopsychidae con la especie *Contulma spinosa* Holzenthal y Flint, 1991, con una abundancia relativa de 45,68% y la familia Hydroptilidae con el género *Ochrotrichia* con 16,36%. Con abundancias menores se señalan los géneros *Helycopsyche* (Helicopsychidae) con

6,67%, *Phylloicus* (Calamoceratidae) con 5,36%, *Mortoniella* (Glossosomatidae) con 6,21% y *Nectopsyche* (Leptoceridae) con 4,38%. Géneros como *Smicridea*, *Marilia*, *Atanotolica*, *Leucotrichia* y *Triplectides* se hallan por debajo del 1% (Tabla 3).

Con relación a los adultos colectados, se registraron, para la totalidad de sistemas, 14 especies como *Atopsyche yupanqui* y *Atopsyche tampurimac* (Hydrobiosidae), *Contulma bacula* (Anomalopsychidae) y *Leptonema stigmatosum* (Hydropsychidae), a su vez se encontraron 3 nuevas especies de los géneros *Helicopsyche*, *Marilia* y *Oecetis* (Tabla 4).

Quebrada Carrizal

Los géneros *Contulma* y *Ochrotrichia* fueron los más abundantes y disminuyen de septiembre de 2001 a abril de 2002 de acuerdo con las variaciones de precipitación que ocurren en estos meses que ocasionan aumento en la descarga, la cual incide directamente en algunos coriotopos, lavándolos y originando que los organismos sean arrastrados. A su vez, los coriotopos más abundantes, para esta quebrada fueron los musgos y las piedras de corriente rápida y lenta (MCR, MCL, PCR,

PCL), presentando valores de abundancia entre 200 y 500 individuos, sustratos que representan estabilidad (Fig. 4). Holzenthal y Flint (1995) destacan la preferencia de las larvas del género *Contulma* para lugares rocosos y cubiertos de musgo en donde se refugian y alimentan de perifiton. Se destacan los géneros *Culoptila* y *Metrichia* como nuevos registros para la zona, en comparación con los estudios de La Rotta (1989), Rincón (1996) y Pérez et al. (1996).

Respecto a la diversidad del orden Trichoptera para este sistema, la estación que presentó el mayor valor del índice de diversidad de Shannon-Weaver, es la estación 2 con 2,21 bits/Ind durante el muestreo correspondiente a abril de 2002 y una riqueza de 15 géneros. Así mismo, la menor diversidad 1,44 bits/ind, se encuentra en esta misma estación en el primer muestreo realizado en septiembre de 2001. La uniformidad en este punto para estos dos muestreos fue 0,86 y 0,54, respectivamente, la diferencia entre estos valores de uniformidad está dada por la dominancia que presenta la especie *Contulma spinosa* durante el primer muestreo.

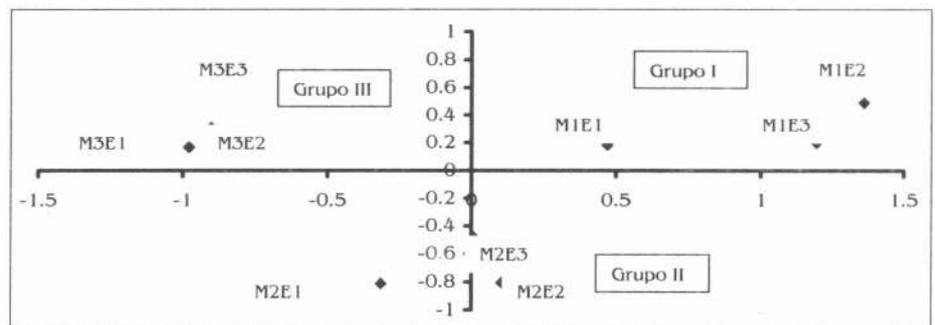


Figura 3. Análisis de componentes principales para los físico-químico de las estaciones de muestreo en la quebrada Carrizal.

Tabla 3. Abundancia relativa de los géneros de Trichoptera para los cuatro cuerpos de agua muestreados

Géneros	Q. Carrizal %	Q. Mamarramos %	Q. Colorada %	Río Cane %
<i>Contulma spinosa</i>	27,4	59,82	1,20	0
<i>Smicridea</i>	2,09	0,36	3,61	1,48
<i>Leptonema</i>	2,24	0	6,02	9,40
<i>Phylloicus</i>	11,05	1,97	4,81	1,48
<i>Atopsyche</i>	2,31	1,17	6,02	4,45
<i>Marilia</i>	5,15	0,14	12,04	0
<i>Helicopsyche</i>	7,99	7,25	15,6	0
<i>Ochrotrichia</i>	23,0	18,25	28,91	6,43
<i>Metrichia</i>	1,12	0,95	0	0,99
<i>Leucotrichia</i>	2,68	3,95	3,61	1,98
<i>Neotrichia</i>	0,44	0,14	0	0
<i>Mortoniella</i>	5,82	0,43	0	58,9
<i>Culoptila</i>	0,29	0	0	0
<i>Atanotolica</i>	0,07	0	0	0
<i>Nectopsyche</i>	1,86	3,59	9,63	13,36
<i>Grumichella</i>	5,52	1,46	6,02	0,99
<i>Xiphocentron</i>	0,37	0,43	0	0
<i>Triplectides</i>	0,44	0	2,40	0
<i>Oxyethira</i>	0	0	0	0,01

Tabla 4. Listado de especies del orden Trichoptera encontradas en los sistemas muestreados

Puntos de muestreo	Familia	Especie
Q. Carrizal	Hydrobiosidae	<i>Atopsyche yupanqui</i> Schmid o <i>Dolochorema</i>
	Calamoceratidae	<i>Phylloicus</i> sp.1 Flint, 1991
	Helicopsychidae	<i>Helicopsyche</i> n. sp.
	Anomalopsychidae	<i>Contulma bacula</i> Holzenthal & Flint
	Leptoceridae	<i>Grumichella flaveola</i> (Ulmer), 1991
	Odontoceridae	<i>Marilia</i> sp. ♀
Q. Mamarramos	Hydropsychidae	<i>Leptonema stigmatosum</i> Ulmer, 1905
	Calamoceratidae	<i>Phylloicus</i> sp.1 Flint, 1991
Q. Colorada	Leptoceridae	<i>Oecetis</i> n.sp. <i>Oecetis knutsoni</i> Flint, 1981
	Hydropsychidae	<i>Tripletides flintorum</i> Holzenthal, 1988 <i>Leptonema stigmatosum</i> Ulmer, 1905
	Odontoceridae	<i>Marilia</i> n. sp.
Río Cane	Hydrobiosidae	<i>Atopsyche tampurimac</i> Schmid, 1989
	Hydroptilidae (LARVA)	<i>Oxyethira</i>

La Rotta (1989) informa valores similares en esta misma altitud (2.820 msnm). Rincón (1996) señala que esta zona es la que presenta los mayores valores de diversidad de Shannon-Weaver 2,03 bits/ind en un gradiente altitudinal entre 2.600 y 3.400 msnm. De otro lado, se pudo evidenciar correspondencia en los valores de diversidad de la quebrada Carrizal con anteriores estudios (Rincón 1996), donde en general se describe al sistema como un cuerpo de agua con alta diversidad presentando un valor de 2,04 bits.

El índice de diversidad de Shannon para los coriotos muestreados osciló entre 1,6 y 2,04 bits/ind, los sustratos más diversos son piedras en corriente rápida y lenta (PCR, PCL) y musgo corriente lenta (MCL). A su vez, la equitatividad de Pielou osciló entre los 0,62 y 0,86. La diversidad de estos sustratos es mucho más alta en comparación con los registros realizados por Rincón (1996), valores que no superan los 1,74 bits. Los géneros más predominantes fueron *Helicopsyche*, *Mortoniella* y *Contulma*. La dominancia de Simpson es de 0,15, este valor es menor en comparación con otros sistemas del Santuario debido a la distribución equitativa de los géneros en esta quebrada.

Quebrada Mamarramos

Los coriotos que presentaron mayor abundancia de organismos durante todo el estudio, fueron musgo corriente rápida (47,3%), musgo corriente lenta (11,07%) y cascada (14%) y los de menor porcentaje piedra corriente rápida (8,28%) y piedra corriente lenta (7,62%). Los individuos que se ubican dentro de estos sustratos son: la especie *Contulma spinosa* con 59,8%, *Ochrotrichia* con 18,2% y *Helicopsyche* con 7,2% (Fig. 5). Estos resultados coinciden con los informados por Rincón (2002), donde estos mismos géneros son los dominantes para este tipo de coriotos. Flint (1991) describe la preferencia de estos géneros por los sustratos rocosos, teniendo en cuenta la solidez de los mismos y la disponibilidad de materia orgánica y algas filamentosas que estos raspan del sustrato. Los valores de diversidad de Shannon para este sistema fueron de 1,42 bits/ind en el mes de septiembre de 2001, 0,76 bits/ind en enero de 2002 y 1,76 bits/ind en el mes de abril de 2002, estos valores están relacionados directamente con el caudal de la zona, de acuerdo con las precipitaciones que inciden sobre la descarga. Por otra parte, la dominancia de Simpson igual a 0,41, es mayor en comparación con los demás cuerpos de agua muestreados, estos valores se relacionan con la abundancia alta de los géneros mencionados anteriormente como *Contulma* y *Ochrotrichia*.

Quebrada Colorada

Los coriotos con las mayores abundancias de organismos fueron: musgo corriente rápida (22,6%) y piedra corriente rápida (45,2%), durante el mes de enero de 2002,

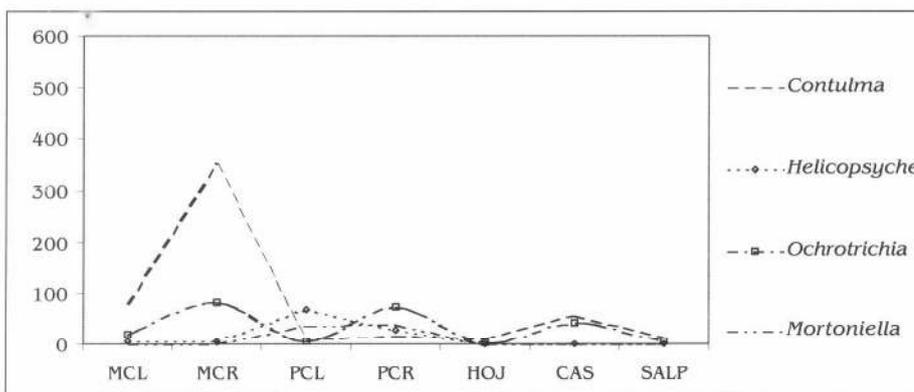


Figura 4. Distribución espacial de la comunidad de Trichoptera en la quebrada Carrizal septiembre 2001 a abril de 2002.

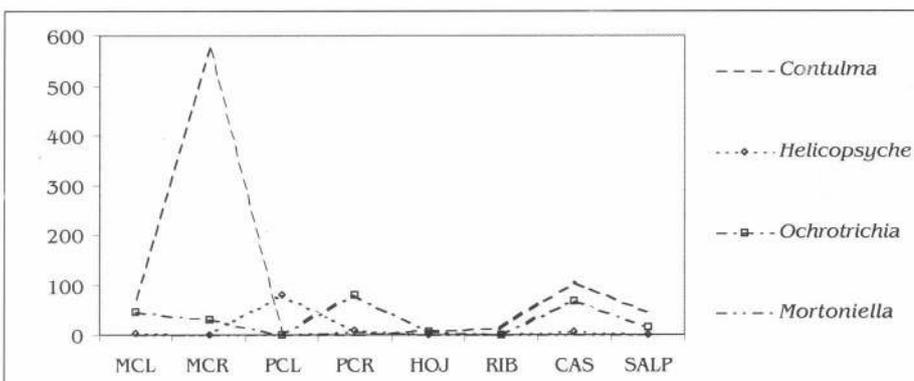


Figura 5. Distribución espacial de la comunidad de Trichoptera en la quebrada Mamarramos septiembre 2001 a abril 2002.

pedra corriente lenta (5,6%) y hojarasca (20,7%) durante abril de 2002. Los géneros más representativos fueron: *Ochrotrichia* en el coriotopo musgo corriente rápida y *Helicopsyche* en piedra corriente rápida, en menor abundancia están los géneros *Smicridea*, *Phylloicus* y *Triplectides*. Frecuentemente estos géneros se ubican en sustratos arenosos y rocosos de donde toman material para la construcción de sus refugios y su alimento constituido por algas filamentosas (Flint 1991). Este sistema presenta los mayores valores de diversidad de Shannon con 2,18 bits/ind. Esta situación ejemplifica una de las dificultades de aplicación del índice de Shannon-Weaver teniendo en cuenta que el índice de diversidad se modifica rápidamente con pocos géneros, y en forma cada vez más lenta cuando se incrementa la riqueza (Ramírez 1999). Esto indica que en comunidades pobres, como es el caso de la quebrada Colorada, la diversidad fluctúa más que en comunidades con número alto de géneros como es el caso de la quebrada Carrizal. De otro lado, la equitatividad y la dominancia de Simpson presentaron valores de 0,95 y 0,13, respectivamente, debido a la poca dominancia de los géneros encontrados en el sistema.

Río Cane

Los coriotosos con las mayores abundancias fueron: las piedras en corriente rápida y lenta (PCR y PCL) y hojarasca (HOJ); durante los dos muestreos realizados, se destacan por su abundancia los géneros *Leptonema*, *Phylloicus* y *Mortoniella*, donde este último presenta heterogeneidad espacial alta y se encuentra en la mayoría de sustratos.

El río, en la estación ubicada en cercanías a la carretera, aunque presenta la totalidad de los coriotosos trabajados durante este estudio, evidencia ausencia de organismos en los sustratos ribera, cascada, salpicadura y musgo corriente rápida, probablemente como resultado del uso del suelo por actividades ganaderas y agrícolas. Se resalta la presencia del género *Oxyethira*, encontrado en el sustrato piedra corriente rápida (PCR); a nivel local este género fue informado por La Rotta en 1989 para el Santuario de Iguaque. Las larvas de *Oxyethira* tienen preferencia por sustratos que acumulan algas y materia orgánica (Flint 1991).

La diversidad de este sistema fue de 1,4 bits/ind, valor bajo en relación con los otros sistemas estudiados. La dominancia de Simpson fue de 0,37, valor relacionado con la dominancia del género *Mortoniella* en la mayoría de sustratos muestreados.

Bioindicación

Los resultados de la aplicación del Índice BMWP/Col obtenidos fueron: 178 BMWP/Col para la quebrada Carrizal, 176 BMWP/Col para la quebrada Mamarramos, 151 BMWP/Col para la quebrada Colorada, lo cual categoriza estos sistemas como aguas muy limpias, no contaminadas. De otro

lado el río Cane, presentó en sus dos puntos de muestreo valores entre 67 y 69 BMWP/Col, con un significado de aguas ligeramente contaminadas.

De acuerdo con las características de un buen indicador biológico, tales como ciclos de vida largos que permitan la detección de cualquier alteración en el cuerpo de agua, distribución espacial, distribución altitudinal, abundancia y dominancia a través de todo el estudio, características también encontradas en anteriores estudios como los de Páez *et al.* (1996) y Rincón (1996, 2002), se considera que algunas especies de los géneros *Contulma*, *Ochrotrichia*, *Helicopsyche* y *Mortoniella* podrían incluirse como posibles bioindicadores a nivel regional, teniendo en cuenta a su vez que los valores de tolerancia media (Tm), asignados por Riss y Ospina (2002), para las familias de los géneros citados anteriormente son: Anomalopsychidae 8,6, Hydroptilidae 6,1, Helicopsychidae y Glossosomatidae 6,9.

Conclusiones

- Los parámetros fisicoquímicos analizados y las variaciones en la abundancia y distribución de la comunidad de Trichoptera para los cuerpos de agua estudiados presentan relación con estudios anteriores de la zona y con el régimen pluviométrico, donde este último ocasiona disminución en la comunidad durante los meses de altas precipitaciones y un respectivo aumento cuando disminuyen las lluvias.

- La comunidad de Trichoptera en las quebradas Carrizal, Mamarramos, Colorada y río Cane está compuesta por 10 familias y 19 géneros, la mayor abundancia las presentan los géneros *Ochrotrichia*, *Helicopsyche*, *Phylloicus*, *Mortoniella* y la especie *Contulma spinosa*, asociados a los sustratos musgos y piedras, los cuales presentan estabilidad para ser colonizados por estos géneros.

- La abundancia de organismos en la quebrada Colorada y el río Cane difiere de las quebradas Carrizal y Mamarramos, estas abundancias disminuyen como resultado de la escasa disponibilidad de sustratos colonizables en dichos cuerpos de agua. Esta condición revela la incidencia del uso del suelo de los terrenos aledaños, sobre la composición de la fauna acuática.

- Se consideran como posibles bioindicadores para la zona, algunas especies de los géneros *Contulma*, *Ochrotrichia*, *Helicopsyche* y *Mortoniella* teniendo en cuenta aspectos como su dominancia a través de todo el estudio, su distribución altitudinal y los valores de tolerancia media (Tm), superiores a 6.

Recomendaciones

Teniendo en cuenta los estudios realizados en la zona, los cuales caracterizan algunos de los sistemas en sus aspectos

físico-químicos, composición y distribución de la tricoptero fauna, se precisa el estudio detallado, a nivel de especie, de organismos de los géneros *Contulma*, *Ochrotrichia*, *Helicopsyche* y *Mortoniella*, los cuales son considerados como posibles grupos indicadores, para consolidar un sistema regional de bioindicación de calidad de aguas.

Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento a la profesora Dionelly Muñoz, por el acompañamiento a través de todo el proceso y revisión del escrito, al Doctor Oliver Flint, por las corroboraciones taxonómicas y a la Sociedad Colombiana de Entomología por la financiación de la Investigación.

Literatura citada

- ANGRISANO, E.; KROB, P. 2001. Trichoptera. p. 55-93. En: Ed. Fernández, H y Domínguez, E. (eds.). Guía para la determinación de los artrópodos bentónicos sudamericanos. Editorial Universitaria de Tucumán. Tucumán. Argentina. 282 p.
- APHA-AWWA-WPCF. 1989. Standard methods for the examination of water, and the wastewater. Clesceri, L.; A. Greenberg; R. Trussell. (eds.). Washington D. C.: American Public Herat Association. Ed. 17. p. 18-24.
- BARRERA, E.; ACOSTA, N. 1995. Distribución altitudinal y diversidad de hemiparásitos y parásitos del orden Setales en el Santuario de Fauna y Flora de Iguaque, Boyacá (Colombia). Acta Biológica Colombiana 9: 119-146.
- CORREA, M.; MACHADO, T.; ROLDÁN, G. 1981. Taxonomía y ecología del orden Tricóptera en el departamento de Antioquia en diferentes pisos altitudinales. Actualidades biológicas 10 (36): 35-49.
- ESCOBAR, A. 1989. Estudio de las comunidades de macroinvertebrados en el río Manzanares y sus principales afluentes y su relación con la calidad del agua. Actualidades Biológicas 18 (65): 45-60.
- FLINT, O. 1991. Studies of Neotropical Caddisflies. XIV. The Taxonomy, Phenology and faunistic of the Trichoptera of Antioquia, Colombia. Smithsonian Institution press. Washington. 113 p.
- FLINT, O.; HOLZENTHAL, W.; HARRIS, C. 1999. Catalog of the Neotropical Caddisflies (Insect: Trichoptera) Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio. U.S.A. A special publication of the Ohio Biological Survey. 239 p.
- GARAVITO, D. 2002. Distribución espacial de los tricópteros de la quebrada la Playa (San Antonio de Tequendama). Trabajo de Grado de Licenciado en Biología. Universidad Pedagógica Nacional. Facultad de Ciencia y Tecnología. Bogotá. 217 p.
- GARCÉS, M. D.; DE LA ZERDA, S. 1994. Gran libro de los parques nacionales de Colombia. Círculo de lectores S. A. Bogotá. 230 p.
- GONZÁLEZ, M.; MALPICA, M.; LÓPEZ, G. 2001. Composición y distribución de los Trichoptera y Ephemeroptera en los ríos Blanco y

- Tunjuelito. (Cundinamarca) y su relación con la calidad del agua. Trabajo de Grado de Licenciado en Biología. Universidad Pedagógica Nacional. Facultad de Ciencia y Tecnología. Bogotá. 207 p.
- HOLZENTHAL, R.; FLINT, O. 1995. Studies of neotropical Caddisflies systematic of Neotropical Caddisfly genus *Contulma* (Trichoptera: Anomalopsychidae). Smithsonian Contribution to Zoology 575. 59 p.
- LA ROTTA, L. 1989. Faunistisch-Autokolosch Untersuchung der Trichopteren Des Santuario de Fauna y Flora de Iguaque (Boyaca, Koulmbien). Institut fur Allgemeine und Speziale Zoologie Justus- liegig, Gieben. (Tesis de Doctorado). 96 p.
- MERRIT, R.; CUMMINS, K. 1996. An introduction to the aquatic insects of North America. Third edition. Dubuque: Kendall-Hunt Publishing Co. 862 p.
- MORALES, Z. 1984. Índices de calidad de agua y el río Medellín. Revista AINSA 4 (2): 9-22.
- MUÑOZ, F. 2000. Especies del orden Trichoptera (Insecta) en Colombia. Biota Colombiana 1 (3): 267-288. Instituto Alexander Von Humboldt.
- PÁEZ, T.; PINEDA, N.; URIBE, L. 1996. Aspectos ecológicos de los macroinvertebrados acuáticos y su relación con la calidad del agua de la quebrada Carrizal (Boyacá). Trabajo de grado de Licenciado en Biología. Universidad Pedagógica Nacional. Facultad de Ciencia y Tecnología. Bogotá. 138 p.
- PINILLA, G. 1998. Indicadores biológicos en ecosistemas acuáticos continentales de Colombia. Compilación bibliográfica. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Centro de Investigaciones Científicas. Bogotá. 67 p.
- QUINTERO, A.; ROJAS, M. 1987. Aspectos bioecológicos del orden Trichoptera y su relación con la calidad del agua. Revista Colombiana de Entomología 13 (1): 26-28.
- RAMÍREZ, A. 1999. Ecología aplicada. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. p. 129-159.
- RAMÍREZ, A.; VIÑA, G. 1998. Limnología Colombiana apuntes a su conocimiento y estadísticas de análisis. BP Exploration company. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. p. 3-75.
- RINCÓN, M. E. 1996. Aspectos bioecológicos de los tricópteros de la quebrada Carrizal (Boyacá), Colombia. Revista Colombiana de Entomología 22 (1): 53-60.
- RINCÓN, M. 2002. Comunidad de insectos acuáticos de la quebrada Mamarramos Boyacá Colombia. Revista Colombia de Entomología 28 (1): 101-108.
- RISS, W.; OSPINA, R. 2002. Establecimiento de valores de bioindicación para macroinvertebrados acuáticos de la Sabana de Bogotá. Caldasia 24 (1): 135-156.
- ROLDÁN, G. 1988. Guía para el estudio de macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. Bogota-Colombia. FEN Colombia, COLCIENCIAS, Universidad de Antioquia. 216 p.
- ROLDÁN, G. 1992. Fundamentos de Limnología Neotropical. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 529 p.
- ROLDÁN, G. 1999. Biodiversidad de los macroinvertebrados y su uso como indicadores de la calidad de agua. Taller Medidas de la biodiversidad en Biología y Paleobiología Medellín. 1-2 Marzo de 2001. Universidad EAFIT, p. 34.
- ROJAS, CH. 1991. Índices de calidad de agua en fuentes de captación. Memorias seminario internacional control de calidad de agua para consumo humano. Cali, Colombia. p. 22-38.
- RUIZ, M. V. 2001. Los tricópteros como bioindicadores de calidad de agua del río Villeta. Trabajo de grado de Licenciado en Biología. Universidad Pedagógica Nacional. Bogota. Facultad de Ciencia y Tecnología. Bogotá. 164 p.
- WIGGINS, G. 1996. Larvae of the North American Caddisfly genera (*Trichoptera*). Segunda edición. University of Toronto Press, Toronto, Canada 457 p.
- ZÚÑIGA, M.; ROJAS, H. 1994. Interrelaciones de indicadores ambientales de la calidad de cuerpos de agua superficial de Valle del Cauca. Revista Colombiana de Entomología 20 (2):124-130.

Recibido: May.06/2003

Aceptado: Oct. 28/2003

Estudios biológicos de *Copitarsia* sp. (Lepidoptera: Noctuidae) bajo condiciones de insectario

Biologic studies of *Copitarsia* sp. (Lepidoptera: Noctuidae) under insectarium conditions

DIEGO A. CARDONA C.¹, MARTHA E. LONDOÑO Z.², JORGE E. JARAMILLO N.³

Revista Colombiana de Entomología 30(2): 205-209 (2004)

Resumen. Las crucíferas son una fuente importante de fibra y vitaminas en la dieta del pueblo colombiano. Su producción se ve afectada por plagas como *Copitarsia* sp. que deterioran la cabeza o florete. En este trabajo se estudiaron parámetros como fecundidad, fertilidad, mortalidad, proporción de sexos y ciclo de vida de *Copitarsia* sp., cuyo conocimiento ayuda al manejo de la plaga. Los estudios se realizaron bajo condiciones naturales de temperatura y humedad relativa en el ICA C.A. "Tulio Ospina", ubicado en el municipio de Bello, Antioquia. Los adultos utilizados para estudiar la fecundidad se introdujeron en porrones confiteros que contenían acordeones de papel para la oviposición. Para el ciclo de vida se partió de una cohorte de 407 huevos, los cuales se mantuvieron individualmente en recipientes plásticos. Cada hembra en promedio puso 550,5 huevos, los cuales tuvieron una fertilidad del 92,87%. La proporción de sexos fue de 1:1. La mortalidad acumulada en todos los estados de desarrollo fue del 38,82%. El ciclo de vida desde huevo hasta emergencia del adulto duró $45,94 \pm 2,5$ días. La incubación de huevos fue $5,037 \pm 0,21$ días. El período larval constó de 5 o 6 instares, con duraciones parciales de: L1: $3,80 \pm 0,73$ días, L2: $2,80 \pm 0,55$ días, L3: $2,97 \pm 0,70$ días, L4: $3,12 \pm 0,80$ días, L5: $4,91 \pm 1,60$ y L6: $5,55 \pm 0,35$ días; la prepupa y pupa tuvieron duraciones de $2,40 \pm 0,62$ y $19,26 \pm 1,16$ días, respectivamente y el adulto de $15,26 \pm 5,37$ días.

Palabras clave: Crucíferas. Plagas. *Copitarsia* sp. Ciclo de vida. Fecundidad. Fertilidad.

Summary. The crucifers are an important source of fiber and vitamins in the Colombian diet. Their production is affected by pests like *Copitarsia* sp., which causes damage to the head or florets of the plant. In this study, parameters like fecundity, fertility, mortality, sex ratio and life cycle of *Copitarsia* sp. were analyzed because they will support pest management. The study was conducted in ICA "Tulio Ospina" located in Bello, Antioquia under natural conditions of temperature and relative humidity. The adults used to study fecundity were introduced into glass flasks that contained accordion paper used for oviposition. The life cycle began with a cohort of 407 eggs, which were kept in individual plastic containers. Each female lay an average of 550,5 eggs, which had a fertility of 92,87%. The sex ratio was 1:1. The accumulated mortality in all the developmental stages was 38,82%. The life cycle from egg to adult was $45,94 \pm 2,5$ days. Egg incubation was $5,037 \pm 0,21$ days. The larval period had 5 or 6 instars, with partial durations of: L1 $3,80 \pm 0,73$ days, L2 $2,80 \pm 0,55$ days, L3 $2,97 \pm 0,70$ days, L4 $3,12 \pm 0,80$ days, L5 $4,91 \pm 1,60$ days and L6 $5,55 \pm 0,35$ days; the prepupa and pupa had durations of $2,40 \pm 0,62$ days and $19,26 \pm 1,16$ days, respectively, and the adult $15,26 \pm 5,37$ days.

Key words: Crucifers. Pests. *Copitarsia* sp. Life cycle. Fecundity: Fertility.

Introducción

Las hortalizas de clima frío constituyen una serie de productos de importancia en la canasta familiar de todos los colombianos; su consumo se hace prácticamente en fresco, por lo cual una producción limpia de éstos es de suma importancia para una adecuada nutrición.

Dentro del amplio grupo que abarcan las hortalizas, está la familia Cruciferae la cual comprende un gran número de especies cultivadas de importancia económica como el repollo (*Brassica oleraceae* L. var *capitata* L.), la coliflor (*Brassica oleraceae* L. var *botrytis* L.), el brócoli (*Brassica oleraceae* L. var *italica* L.), la col china o repollo chino (*Brassica pekinensis* L.), el rábano (*Raphanus sativus* L.) y la col de bruselas (*Brassica oleraceae* L. var *gemmifera*), las

cuales adquieren cada vez más importancia en la región del oriente antioqueño debido al aumento paulatino del área sembrada. Entre otras, estas plantas se caracterizan por la formación de una cabeza, pella o florete, que constituye la parte comestible de la planta.

En el departamento de Antioquia las crucíferas abarcan un área de 1.900 hectáreas aproximadamente, de las cuales se tiene un estimado de producción de 85.600 toneladas al año.

Haciendo un recuento en el tiempo, desde los primeros registros de lepidópteros en crucíferas en Antioquia hasta el presente, se encuentran nueve especies registradas o agrupadas en las familias: Noctuidae, con cinco especies, *Copitarsia* sp., *Peridroma* sp., *Spodoptera frugiperda*, *Autoplusia*

egena y *Trichoplusia ni*. Pieridae: *Leptophobia aripa* y *Ascia monuste*. Yponomeutidae: *Plutella xylostella*. Pyralidae: *Hellula phidilealis* (Gómez 1979; Gallego y Vélez 1992; Fernández 2001). Sin embargo, sólo tres de estas especies, *P. xylostella*, *Copitarsia* sp. y *Peridroma* sp., podrían considerarse limitantes por afectar la etapa de formación de cabeza o pella (Londoño *et al.* 2001).

En un muestreo realizado en lotes comerciales de crucíferas en el centro de investigación "La Selva", en Rionegro, Antioquia, se cuantificó la incidencia de lepidópteros asociados a la formación de cabeza en estos cultivos. De 40 unidades productivas a punto de cosecha, se detectó la presencia en promedio de 1,7 larvas / cabeza de repollo verde, 1,6 larvas / cabeza de repollo morado, 1,6 larvas / florete en coliflor y 1,3

1 Universidad Nacional sede Medellín, Estudiante Ingeniería Agronómica. E-mail: diegocardona@epm.net.co

2 Autor para correspondencia: Investigador Adjunto. CORPOICA "La Selva". A. A. 100. Rionegro, Antioquia. E-mail: melzu@epm.net.co.

3 CORPOICA. "La Selva", Investigador Cooperante, Hortalizas. E-mail: invagricola04@epm.net.co

larvas / florete en brócoli. A pesar de que la mayoría de los repollos presentaron perforaciones a causa de la alimentación de las larvas de lepidópteros, una gran proporción de ellos pasó los parámetros de calidad exigidos por los mercados. De igual manera, se notó como la coliflor con presencia de estas plagas presentó una gran cantidad de sitios o puntos con manchas debidas al daño de insectos comedores, lo que demeritó su calidad y la hizo susceptible al rechazo en los mercados (Londoño *et al.* 2001).

Las cuatro especies de lepidópteros de mayor incidencia en cultivos de crucíferas en el oriente antioqueño fueron *P. xylostella*, *Leptophobia aripa*, *Copitarsia* sp. y *Peridroma* sp. Estas especies causaron daños que afectaron la calidad y suscitaron rechazos en el mercado del repollo, la coliflor y el brócoli principalmente. El porcentaje de incidencia en el campo de los Noctuidos *Copitarsia* sp. y *Peridroma* sp. fue respectivamente de 28 y 25% en coliflor, 13 y 33% en repollo verde y 33 y 10% en repollo morado (Fernández 2001). De estas dos últimas especies aun no se tiene un manejo integrado por parte de los agricultores, precisamente por el desconocimiento de la biología y hábitos de los insectos, lo que dificulta tomar cualquier medida de control al respecto.

Copitarsia spp. (Lepidoptera: Noctuidae) es un género que se encuentra ampliamente distribuido desde el norte de México hasta Chile (Angulo y Weigert 1975). Los hospedantes conocidos en México de este género son acelga, betabel, espinaca, romerito (Gevara y Cervantes 1975, citados por Castrejón 1997), alfalfa, chícharo y girasol (Cortés *et al.* 1976, citado por Castrejón 1997; Domínguez y Carrillo 1976; Mac Gregor y Gutiérrez 1983). Además de estos hospedantes, en Colombia se le ha visto afectando cultivos de alcaparro enano, alcachofa, papa, arveja, caléndula, cebolla, crucíferas en general, curuba, gladiolo, haba, maíz, narciso, novio, cereales y espárragos (ICA 1989).

El primer registro de *Copitarsia* sp. en Colombia fue hecho por Zenner (1970), quien indicó que esta plaga atacaba papa en las etapas de germinación, floración y formación de los primeros mamones.

El Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) ha realizado revisiones sistemáticas de flor colombiana en donde han encontrado porcentajes altos de larvas de lepidópteros de la familia Noctuidae y se presume que la mayoría pertenece al género *Copitarsia*, lo que ha conllevado a la devolución de algunos embarques. Las flores con mayor número de intercepciones en Colombia son *Alstromeria* sp., *Limonium* sp. y *Dianthus* sp., que en conjunto representan un poco más de 59% del total de las intercepciones. Los géneros *Aster* y *Chrysanthemum*, las siguen en importancia (Guerra y Forero 2002).

Copitarsia sp. ha venido cobrando mucha importancia en las plantaciones de

crucíferas en Colombia ya que ataca principalmente en la etapa del cabeceo, perforando las dos o tres primeras hojas del repollo. En coliflor, consume el florete en parches, daño que después es seguido por una oxidación y la consecuente mancha del producto alimenticio. En algunas ocasiones el daño es seguido por una descomposición bacteriana, ocasionando pérdidas superiores. Su ubicación en condiciones de campo se dificulta, ya que siempre está protegida dentro de la crucifera, oculta dentro de las hojas del repollo o entre los tallos interiores del florete (Londoño *et al.* 2001).

Los trabajos realizados en Colombia relacionados con la biología de este insecto datan de las décadas del 70 y el 80, época en la cual se consideró que existía una sola especie de *Copitarsia* que atacaba papa y coliflor. Los estudios recientes sobre este género indican que es posible que en Colombia haya varias especies de *Copitarsia* y por ello es necesario identificarlas y conocer la biología y el comportamiento para cada una de ellas (Angulo y Olivares 2002), con base en dicho conocimiento se podrían establecer estrategias de manejo integrado de esta especie insectil.

Con el fin de actualizar los conocimientos acerca de este insecto, CORPOICA planteó establecer una cría del insecto, para poder realizar así los estudios de su ciclo de vida, fecundidad, fertilidad, proporción de sexos y mortalidad acumulada. Este estudio fue realizado bajo condiciones naturales de temperatura y humedad relativa en las instalaciones que CORPOICA usa en el Centro Administrativo "Tulio Ospina", propiedad del ICA, ubicado en el municipio de Bello, Antioquia, a una altitud de 1.438 msnm, temperatura promedio de 22°C, humedad relativa de 76% y precipitación anual de 1.400 mm.

Materiales y Métodos

Para llevar a cabo los estudios de ciclo de vida, fecundidad, fertilidad, proporción de sexos y mortalidad acumulada de *Copitarsia* sp. se estableció una cría del insecto en las mismas instalaciones en donde se realizaron todos los ensayos.

Cría. Para el montaje de la cría de *Copitarsia* sp. fue necesario conseguir larvas del insecto. Para ello se recibieron semanalmente cabezas de coliflor de descarte, procedentes de los lotes comerciales ubicados en el Centro de Investigación (C. I.) "La Selva" de CORPOICA en Rionegro, Antioquia. Los floretes se abrieron para buscar larvas de lepidópteros. Las larvas de *Copitarsia* sp. encontradas se individualizaron en cajas de Petri plásticas para evitar problemas de canibalismo y tener un buen aseo; cada caja fue rotulada con la fecha de recolección. Como alimento se suministraron hojas de repollo. Estos cultivos se tuvieron sin aplicaciones de insecticidas químicos, ni biológicos, con el fin de evitar daños en la cría.

Del pie de cría se obtuvieron adultos, los cuales se introdujeron en porrones de vidrio donde se dispusieron acordeones de papel para la oviposición, así como algodones humedecidos con solución azucarada compuesta de miel, sustagen, benzoato de sodio al 0,7% y agua, para su alimentación.

Fecundidad. Se tomaron pupas sexadas de la cría y se separaron en vasos de icopor de 8 onzas con un diámetro de 8 cm y una altura de 5,5 cm. En el interior de estos vasos se puso un poco de aserrín esterilizado con un máximo de 15 pupas en cada uno de ellos. Para preservar la humedad de las pupas, se introdujo una mota de algodón humedecida con benzoato de sodio al 0,7%. Las pupas se revisaron diariamente con el objeto de obtener los adultos recién emergidos. Cuando coincidió la emergencia de un macho y una hembra el mismo día, se introdujo la pareja en un porrón o frasco confitero, el cual estuvo dispuesto de la siguiente manera: se forró completamente el frasco con papel, su boca se tapó con tul negro, asegurado con una banda de caucho para simular un ambiente oscuro en el interior. En cada frasco se introdujo una pareja de adultos, tres acordeones de papel y un algodón impregnado de solución azucarada para alimentar las pollitas.

Teniendo en cuenta el comportamiento reproductivo de *C. consueta* descrito por Rojas (1992), se revisaron diariamente los frascos y se contó el número de huevos de parejas que duraron más de ocho días; por lo tanto se asumió que cuando un individuo moría en un período menor a siete días no alcanzaba a expresar todo su potencial reproductivo y por lo tanto se descartó. La fecundidad se expresó en promedio de huevos / pareja. También se calculó la máxima postura.

Fertilidad. Se tomaron 407 huevos del mismo día, los cuales fueron puestos de manera individual en cajas de Petri plásticas acompañados de un algodón humedecido con benzoato de sodio al 0,7% con el fin de proporcionar un ambiente apto para la emergencia de las larvas. Los huevos se revisaron diariamente y se registró la emergencia o no de larvas, expresando esta variable en porcentaje.

Relación de sexos. Se individualizaron 275 pupas en vasos de icopor sobre sustrato de aserrín esterilizado. Adicionalmente, se colocó una mota de algodón humedecido con benzoato de sodio al 0,7%. Con ayuda del estereomicroscopio se sexaron las pupas por las características que presentaron en sus últimos segmentos abdominales, obteniéndose así la relación de machos y hembras.

Mortalidad acumulada. Durante el desarrollo del ciclo de vida se observó diariamente cada uno de los individuos y se registró el momento de su muerte. Con la sumatoria de las muertes por estado y

estadio de desarrollo se calculó la mortalidad acumulada, expresada en porcentaje.

Ciclo de vida. Se comenzó con una cohorte de 407 huevos, los cuales fueron obtenidos del estudio de fecundidad; estos fueron puestos en cajas de Petri plásticas de 1,5 cm de profundidad y 9 cm de diámetro. En su interior cada caja llevaba un fondo de papel esterilizado, un huevo y una mota de algodón humedecida con benzoato de sodio al 0,7%. La caja estaba rotulada con la fecha de postura y con un número con el cual fue reconocido el individuo durante el estudio. Todas las cajas se sellaron con plástico adhesivo para evitar una eventual fuga de larvas en el momento de la emergencia de las mismas.

Diariamente se llevaba un registro del estado y estadio de desarrollo del insecto; también del momento de la muerte. De los individuos que morían se hacían montajes para observar en el microscopio si su muerte era causada por algún tipo de patógeno.

Las larvas individualizadas se alimentaron con hojas de repollo; a partir del cuarto instar se adicionaron porciones pequeñas de floretes de coliflor. Cuando los individuos se encontraban en estado de larva se recolectaron las cápsulas cefálicas después de cada muda, con el fin de tener certeza del cambio de instar del insecto.

En el momento en que las larvas pasaban al estado de pupa se cambiaban a vasos de icopor con un sustrato de aserrín esterilizado. En este estado se procedió a sexar cada uno de los individuos.

Cuando el adulto emergía de la pupa se colocaba un algodón humedecido con solución azucarada (de igual composición que la utilizada en la cría) en la tapa del

vaso; con esto se proveía de alimento a los adultos. En estos recipientes permanecieron los adultos hasta el momento de su muerte.

Para la duración de cada uno de los estadios de desarrollo del insecto se sistematizaron los datos diarios con la ayuda del programa Microsoft Excel, calculando la duración promedio en días, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Resultados y Discusión

Fecundidad. El estudio de esta variable contó inicialmente con 35 parejas nacidas el mismo día. A causa de la muerte de uno o de ambos individuos en un tiempo menor de 7 días, se descartó la postura de algunas parejas y sólo se tuvo en cuenta la de 14 de ellas para el análisis. El número de huevos obtenido por cada pareja se presenta en la tabla 1.

Con el fin de calcular un valor más real de la postura por pareja, se midió la frecuencia con que las 14 parejas ovipositaban en los rangos de: 0 - 10, 11 - 100, 101 - 1.000 y más de 1.000 huevos. Lo más común fue que las parejas ovipositaran en rangos entre 101 y 1.053 huevos ($M_o = 8$). Con las ocho parejas que se encontraban en el rango modal, se estableció el parámetro de fecundidad el cual fue de 550,5 huevos por hembra. El período de preoviposición fue de dos días en el 62,5% de las parejas, tres días en el 25% de las mismas y de un sólo día en el 12,5% restante. Lo anterior coincide con lo registrado por Rojas (1992), quien afirmó que *C. consueta* empezó a copular a partir del segundo día de emergencia como adulto; esto es probable ya que es a partir de este momento que las hembras de esta especie comienzan a liberar la feromona sexual.

El tiempo promedio de oviposición fue de 8,75 días. Rojas (1992) señaló un período de oviposición de 12,4 días y observó posturas de 1.638 huevos de parejas que estuvieron juntas desde el primer día de emergencia, resultado éste muy distante del obtenido en el presente estudio, en el cual sólo tres parejas lograron oviposiciones superiores a los 800 huevos y una sólo de ellas superó los 1.000 huevos. Quizás la especie de *Copitarsia* utilizada en este estudio sea diferente a la utilizada por Rojas ó existan otros factores ambientales o alimenticios involucrados que no hayan sido detectados

Fertilidad. De una cohorte de 407 huevos, pasaron al estado de larva 378 individuos, lo cual representó una fertilidad del 92,87%. La infertilidad de los huevos aportó un 7,12% a la mortalidad acumulada.

Rojas (1992) encontró una fertilidad para *C. consueta* del 70,22% en hembras que tuvieron machos disponibles desde el momento de su emergencia, dato que es mucho menor al obtenido con la especie de *Copitarsia* sp. con la cual se realizó la presente investigación. También contrasta con el trabajo realizado por Zenner (1986) en la Sabana de Bogotá, donde apenas se obtuvo una fertilidad del 13,54%.

Relación de sexos. De las 256 pupas sobre las cuales se determinó el sexo, 137 fueron machos y 119 hembras, lo que correspondió a una relación de sexos de 1:1 aproximadamente. Este resultado es igual al obtenido por Zenner en 1970.

Mortalidad acumulada. La mortalidad acumulada en todos los estados de desarrollo del insecto fue de 38,82%, siendo el primer instar el estadio que más aportó a dicha mortalidad con un 14,49%, segui-

Tabla 1. Número de huevos puestos diariamente por hembra de *Copitarsia* sp. confinada con un macho en porrones de vidrio

		Postura por pareja													
Parejas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Fecha	05/02/02	09/02/02	09/02/02	11/02/02	11/02/02	12/02/02	12/02/02	13/02/02	14/02/02	15/02/02	17/02/02	19/02/02	19/02/02	20/03/02	
		Días													
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	
3	0	4	0	62	0	0	79	23	44	0	0	0	0	63	
4	0	7	8	124	0	0	155	20	72	6	6	0	226	297	
5	9	32	0	186	0	0	167	13	0	0	0	3	73	180	
6	47	96	14	151	16	5	315	12	0	0	29	6	4	167	
7	0	60	39	38	2	3	105	31	0	0	49	1	0	243	
8	0	172	98	12	23	10	15	0	0	0	0	0	0	103	
9	0	263	95	19	0	80	10	0	0	0	0	0	0	0	
10	0	130	133	49	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	
11	0	49	8	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	23	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total	56	836	395	695	41	98	848	102	116	6	84	10	303	1.053	

Columnas 2-4, 7-9 y 13-14. utilizadas para el cálculo de la fecundidad

posibilidad de reinfestación durante el mismo. Si esa segunda generación coincide con la fase de cierre del cogollo o formación de cabeza, los daños podrían ser catastróficos, conduciendo a una pérdida muy alta de la cosecha.

Recomendación

Se recomienda realizar estudios de taxonomía que conduzcan a la identificación correcta de la especie involucrada en este estudio. Teniendo en cuenta la proporción de sexos del insecto y su alta fecundidad y fertilidad así como su capacidad de daño, se hace de suma importancia la realización de más estudios concernientes a establecer estrategias de manejo, ya que se considera una especie de gran importancia económica en la producción de crucíferas en el oriente Antioqueño.

Agradecimientos

Los autores agradecen al auxiliar de laboratorio Ovidio Montoya y a todo el personal de Corpoica e Ica, que de una u otra manera tuvieron que ver con el éxito de este trabajo.

Literatura citada

- ANGULO, A. O.; WEIGERT, G. Th. 1975. Estados inmaduros de lepidópteros noctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae). Sociedad de biología de Concepción. Publicación especial. Np. 2. Chile. 153 p.
- ANGULO, A. O.; OLIVARES, T. S. 2002. Lista actualizada de las especies de *Copitarsia* Hampson, 1906 (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae). Comunicación personal. 2 p.
- CASTREJÓN G., V. R. 1997. Aislamiento e identificación de tres componentes de la feromona sexual de *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) y morfología de los sensilios antenales. Tesis de Maestría en Ciencias del Colegio de Postgraduados, Chapingo. México. 83 p.
- DOMÍNGUEZ, R.; CARILLO, J. L.; 1976. Lepidoptera. Lista de insectos en la colección de entomología del instituto nacional de investigaciones agrícolas. Segundo suplemento. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S. A. G. Folleto Misceláneo No. 29. México. 159 p.
- FERNÁNDEZ, H., C. 2001. Susceptibilidad de *Plutella xylostella* a diferentes aislamientos nativos del hongo *Beauveria bassiana* y su efecto adicional sobre otros lepidópteros asociados a la producción de coliflor. Tesis de Maestría en Entomología. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias, Medellín. 92 p.
- GALLEGO, F. L.; VÉLEZ, R. 1992. Lista de insectos que afectan los principales cultivos, plantas forestales, animales domésticos y al hombre en Colombia. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. p. 62-64. Medellín.
- GÓMEZ, L. C. 1979. Hortalizas. Secretaría de Agricultura y Fomento. Medellín. 75 p.
- GUERRA, J. J.; FORERO, D. 2002. Principales interceptaciones de plagas en flores provenientes de la Sabana de Bogotá en el puerto de Miami, y su implicación fitosanitaria. Revista Asocolflore (Colombia) 62 (1): 50-58.
- GUEVARA, A. R.; CERVANTES, J. F. 1991. Insectos plaga en la zona chinampera de Xochimilco, D. F. Memorias XXVI Congreso Nacional de Entomología, Sociedad Mexicana de Entomología. Veracruz, México. p. 529.
- ICA. 1989. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Boletín Técnico (43) Instituto Colombiano Agropecuario. 4 Ed.
- LONDOÑO, M. E.; FERNÁNDEZ, C. R.; JARAMILLO, J. E. 2001. Lepidópteros asociados a la formación de cabeza o florete en crucíferas. En: Hortalizas. Plagas y enfermedades. CORPOICA, SOCOLEN. Rionegro, septiembre 2001. p. 63-71.
- MAC GREGOR, R.; GUTIÉRREZ, O. 1983. Guía de insectos nocivos para la agricultura en México. Editorial Alambra Mexicana, S. A. México D. F.
- ROJAS L., J. C. 1992. Conducta reproductiva de *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría en Ciencias del Colegio de Postgraduados, Chapingo. México. 89 p.
- ZENNER de POLANÍA, I. 1970. Apuntes descriptivos y ciclo de vida de los "Muques de la papa" *Peridroma pos saucia* (Hubner) y *Copitarsia consueta* (Walker). Agricultura tropical (26): 687-693.
- ZENNER de POLANÍA, I. 1986. Guía de manejo de plagas en el cultivo de la papa. ICA Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá. Colombia. p. 20-22.

Recibido: Abr. 22/2003

Aceptado: Oct. 27/2003

Estudios de hábitos y comportamiento de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en papa almacenada

Studies of the habits and behavior of the Guatemalan potato tuber moth *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored potato

BLANCA IRENE VARGAS A.¹, SILVIA ALEJANDRA RUBIO C.², ARISTÓBULO LÓPEZ-ÁVILA³

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 211-217 (2004)

Resumen. Esta investigación permitió conocer aspectos generales de los hábitos de oviposición y comportamiento de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) en papa almacenada. Dichos aspectos comprendieron la determinación de la capacidad de daño de la plaga, los sitios preferidos para ovipositar tanto en una pila como en el tubérculo y la influencia del estado de limpieza de los tubérculos almacenados en los hábitos de oviposición. El estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigación Tibaitatá, en el programa MIP de Corpoica y se desarrolló bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y luminosidad. La unidad experimental consistió en una jaula de madera con paredes de muselina, dentro de la cual se introdujo una bandeja con 100 tubérculos con un peso promedio de 100 g cada uno. En la determinación de la capacidad de daño de la plaga se encontró que 10 parejas de la polilla guatemalteca liberadas sobre una masa de 100 tubérculos, producen un daño superior al 35%. En la determinación de los sitios de oviposición se encontró que las hembras de *T. solanivora* prefieren colocar sus posturas principalmente debajo de la tierra adherida a los tubérculos, alrededor de la zona de las yemas de éstos y en los tubérculos ubicados en los lugares más protegidos de un montón de papa. En cuanto al estado de limpieza de los tubérculos se determinó que la hembra prefiere ovipositar en la papa sucia comparada con la papa limpia.

Palabras clave: Capacidad de daño. Sitios de oviposición. Tubérculo almacenado.

Summary. This research elucidated general aspects of the habits of oviposition and behavior of the Guatemalan potato tuber moth *Tecia solanivora* (Povolny) in stored potato. These aspects included determination of the pest's damage capacity, preferred oviposition sites in stows as well as the tuber, and influence of the state of cleanliness of the stored tubers on oviposition habits. The study was conducted at the Tibaitatá Research Center, in the IPM program of Corpoica and was carried out under controlled conditions of temperature, humidity and light. The experimental unit consisted of a wooden cage with muslin walls, in which a tray was introduced with 100 tubers, of 100 g average weight each. In the determination of the damage capacity of the pest it was found that 10 pairs of the Guatemalan potato tuber moth released on 100 tubers, produce over 35% of damage. Females *T. solanivora* prefer to oviposit mainly under the soil adhered to the tubers, around the area of the buds of the tuber and in the tubers located in the most protected places of the potato stow. As for the state of cleanliness of the tubers, it was found that the female prefers to oviposit in dirty tubers compared to clean tubers, therefore the total number of eggs placed on the same resource is higher in dirty potatoes.

Key words: Damage capacity. Oviposition sites. Stored tubers.

Introducción

El cultivo de la papa es la actividad agrícola más sobresaliente en la zona fría en Colombia por diferentes razones: En lo económico se muestra que en 1996 el cultivo participó con cerca del 5,9% del total del valor de la producción agrícola, con 173.702 hectáreas sembradas, y para el año 2000 fueron sembradas unas 170.719 hectáreas (Fedepapa 2001). Es el cultivo de mayor demanda de plaguicidas químicos y el segundo después del café, en uso de fertilizantes, también es el producto agrícola que genera más transporte terrestre en Colombia. En lo social se encuentra que alrededor de 95.000 familias dependen di-

rectamente del cultivo, equivalente a unas 500.000 personas; al mismo tiempo, transportadores, comerciantes, lavadores, seleccionadores, procesadores, productores y otros agentes que intervienen en la cadena de la papa, dependen de manera indirecta de este cultivo (Porras 1999).

Una de las plagas de mayor importancia económica en el cultivo de la papa y que afecta de forma directa la calidad del tubérculo es "la polilla guatemalteca de la papa", *Tecia solanivora* (Povolny). Esta plaga es originaria de Centro América y fue introducida a Sur América en una importación de semilla hecha por Venezuela desde Costa Rica en 1983. Dicha semilla fue

distribuida a los agricultores de la zona papera del Táchira, de donde fue introducida a Colombia (Araque y García 1999). La polilla se estableció en la zona papera de Norte de Santander registrándose por primera vez en 1985 en el municipio de Chitagá (Soriano 1999). De allí inició su dispersión a todas las zonas productoras, conociéndose por primera vez en Boyacá y Cundinamarca en 1991, a Antioquia se propagó durante el año 1994 y en 1996 llegó a Nariño y a Ecuador (Espitia 1999).

La polilla guatemalteca ha cobrado gran importancia debido a la severidad de su ataque, debido a que ocasiona grandes pérdidas económicas en las áreas que inva-

1 Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Parte del trabajo de Grado. E-mail: srubio_castro@hotmail.com

2 Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Parte del trabajo de Grado. E-mail: bivargas@yahoo.com.mx

3 Autor para correspondencia: I. A. Ph. D. Investigador Programa Nacional MIP Corpoica, C. I. Tibaitatá. A. A. 240142 Bogotá. E-mail: alopez@corpoica.org.co

de. Así por ejemplo, en Norte de Santander las pérdidas en campo y almacenamiento superaron el 50% en 1986. En Boyacá y Cundinamarca las pérdidas iniciales alcanzaron hasta un 80% en campo en el año 1994. En el municipio de Ventaquemada en la vereda el Hato, la plaga arrasó con lotes en los cuales hasta el 90% de la papa de la cosecha de mitaca fue atacada. En 1996, se calculó que 540 toneladas de papa fueron consumidas por la plaga en sitios de almacenamiento y más de 2.000 toneladas en los lotes del cultivo para el altiplano cundiboyacense (Espitia 1999).

La producción de papa en Colombia reúne una serie de prácticas de cultivo que difieren de una región a otra en el país, siendo la poscosecha, o almacenamiento, una de las prácticas en donde existe probablemente la mayor variación a nivel nacional. La forma tradicional de almacenamiento en el altiplano cundiboyacense es en bultos, a granel o en cajas de madera guardadas en cuartos oscuros, pequeñas bodegas o en ramadas protegidas de la lluvia (Porras 1999).

Estos lugares generalmente son inapropiados para el almacenamiento porque las condiciones de humedad, temperatura y luminosidad favorecen la llegada y permanencia de la plaga en el sitio de almacenamiento. Esto, a su vez, genera una amplia gama de problemas que se deben abordar teniendo en cuenta el factor humano de cada región (Porras 1999).

Ante la importancia adquirida por la polilla guatemalteca como plaga del cultivo de la papa y el desconocimiento de sus hábitos y comportamiento en condiciones de almacenamiento, se realizó este trabajo en el Centro de Investigación "Tibaitatá" de Corpoica, el objetivo general fue conocer los hábitos y comportamiento de la polilla guatemalteca en condiciones de almacenamiento. Y los objetivos específicos consistieron en determinar la capacidad de daño de *T. solanivora* en papa almacenada y conocer los hábitos de oviposición de la plaga en esas condiciones.

Materiales y Métodos

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de entomología del Programa Nacional de Manejo Integrado de plagas - MIP, en el Centro de Investigación "Tibaitatá" de Corpoica, localizado en el municipio de Mosquera (Cundinamarca), con una altitud de 2.550 msnm. Los experimentos se realizaron en condiciones ambientales controladas, con temperatura promedio de $18^{\circ}\text{C} \pm 3$, humedad relativa del $60\% \pm 5$. El material biológico de la plaga se obtuvo de las unidades de cría establecidas en el laboratorio de entomología, en donde se producen las cantidades que se requieren del insecto mediante la siguiente metodología general.

La cría de *T. solanivora* se inicia colocando posturas de esta especie sobre tubérculos de papa sanos dentro de cámaras de

pupamiento y desarrollo larval (Fig. 1a) que son cubetas plásticas semitransparentes de 33 cm de largo x 26 cm de ancho x 10 cm de alto, cubiertas con su tapa a la cual se le realiza un orificio de 20 cm x 12 cm que se cubre con muselina, para facilitar el intercambio de aire. Dentro de estas cámaras transcurren los instares larvales de la plaga y el estado de pupa. Aproximadamente 20 días después de colocadas las posturas, comienza la formación de pupas dentro de las cámaras y pasados 48 días desde la colocación de los huevos hasta la emergencia de los primeros adultos.

Estos adultos son colectados y colocados en cámaras de oviposición (Fig. 1b), que son frascos de vidrio de 250 ml de capacidad tapados con muselina, donde son alimentados con una solución de miel al 10%, impregnada en un algodón. Las hembras ovipositan toda su carga de huevos en el transcurso de su vida sobre trozos de papel toalla que se colocan debajo de las cámaras. Las posturas se recogen diariamente y son utilizadas para experimentación o para continuar el ciclo de la cría.

Determinación de la capacidad de daño de una población conocida de *Tecia solanivora* en papa almacenada

Con el propósito de determinar la capacidad de daño de una población inicial conocida de adultos de *T. solanivora* sobre tubérculos almacenados, se llevaron a cabo

dos experimentos bajo un diseño de bloques completos al azar con cinco tratamientos y tres repeticiones. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de entomología bajo las condiciones de luz, temperatura y humedad descritas.

La unidad experimental utilizada consistió en una jaula de madera de 50 cm x 50 cm x 63 cm de alto, con tres paredes de muselina, la puerta y la parte superior en vidrio. Dentro de la jaula se introdujo una bandeja plástica de 40 x 30 cm, a la cual se le colocó una capa de arena de 5 mm de espesor. Sobre la arena se formó un cúmulo de 100 tubérculos con un peso de 80 a 125 g por tubérculo. La unidad experimental descrita se muestra en la figura 2.

En cada jaula se liberó el número correspondiente de adultos de *T. solanivora* de acuerdo con los tratamientos descritos en las tablas 1 y 2. Los adultos tenían un promedio de dos días de vida después de la emergencia como tales, período en el cual fueron alimentados con una solución de miel al 10%. Una vez liberados permanecieron en las jaulas hasta su muerte, esto ocurrió entre 10 y 12 días después de la liberación. De esta forma se daba la posibilidad a las hembras para que ovipositaran su carga de huevos sobre los tubérculos.

Cada experimento tuvo una duración de 40 días contados desde el día de la liberación de los adultos de la plaga. Tiempo

Tabla 1. Tratamientos para determinar el daño causado por una población de *T. solanivora* en papa almacenada en el experimento con una proporción sexual 1.5♀: 1♂

Tratamiento No.	Descripción de tratamientos
T ₁	Sin adultos de <i>T. solanivora</i> , testigo absoluto
T ₂	10♀ y 7♂ de <i>T. Solanivora</i>
T ₃	20♀ y 13♂ de <i>T. Solanivora</i>
T ₄	40♀ y 27♂ de <i>T. Solanivora</i>
T ₅	80♀ y 53♂ de <i>T. solanivora</i>

Tabla 2. Tratamientos para determinar el daño causado por una población de *T. solanivora* en papa almacenada

Tratamiento No.	Descripción de tratamientos
T ₁	Sin parejas de <i>T. solanivora</i> , testigo absoluto
T ₂	10 Parejas de adultos de <i>T. Solanivora</i>
T ₃	20 Parejas de adultos de <i>T. Solanivora</i>
T ₄	40 Parejas de adultos de <i>T. Solanivora</i>
T ₅	80 Parejas de adultos de <i>T. solanivora</i>

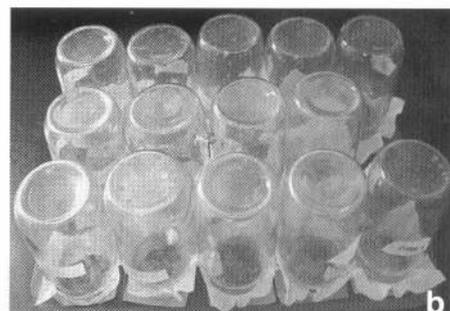
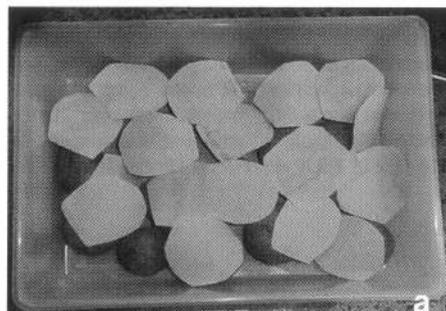


Figura 1. Cría de *T. solanivora*. a. Cámara de desarrollo larval y pupamiento, b. Cámaras de oviposición.

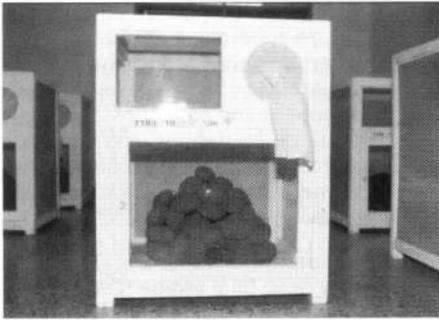


Figura 2. Unidad Experimental. Jaula con bandeja y pila de 100 tubérculos de papa parda pastusa pareja.

necesario para que transcurriera el ciclo de vida del insecto, desde oviposición hasta que las larvas de cuarto instar abandonaran el tubérculo para pupar en la capa de arena colocada para este propósito.

En el primer experimento se usó una proporción sexual de 1,5♀: 1♂, tomando como referencia para el tratamiento las hembras requeridas y el correspondiente número de machos, como se presenta en la tabla 1.

En el segundo experimento no se determinó el sexo de los adultos previamente. Se asumió una proporción sexual 1♀: 1♂, que es la más ampliamente aceptada para la especie (Notz 1995; Herrera 1997; Trillos y Álvarez 1998; Araque y García 1999) y se liberaron parejas. Los tratamientos se describen en la tabla 2.

En cada uno de los experimentos y tratamientos se evaluaron las siguientes variables: peso inicial de los 100 tubérculos, número de tubérculos afectados, peso final de los tubérculos sanos y peso final de los tubérculos afectados.

Determinación de los sitios de oviposición de *Tecia solanivora* en tubérculos almacenados

Para conocer los sitios de oviposición preferidos por la plaga, se realizó un experimento en el cual se utilizó la misma unidad experimental descrita. Se utilizaron dos jaulas y en cada una de ellas se liberaron diez parejas de *T. solanivora* de un día de vida.

La evaluación se realizó a los ocho días después de liberados los adultos de la polilla guatemalteca, tiempo en el cual se ha logrado el máximo de oviposición y las primeras posturas no han eclosionado. La inspección de los tubérculos se inició desde la parte superior hasta la base del montón, tomando cada uno de los tubérculos, revisándolos minuciosamente, incluso debajo de los terrones adheridos a la piel, para ubicar las posturas y los sitios de oviposición.

Determinación de la preferencia de oviposición de *Tecia solanivora* en cuanto al estado de limpieza de los tubérculos

Teniendo en cuenta que la comercialización de papa para consumo se realiza

con papa sucia (como llega del campo) y excepcionalmente con papa lavada principalmente en cadenas de supermercados, y además que la papa semilla también es almacenada sucia, se realizó un experimento para comparar el comportamiento de oviposición de la plaga, sobre tubérculos limpios y tubérculos sucios.

Se utilizó la misma unidad experimental antes descrita. Se emplearon cuatro jaulas, en dos de ellas se pusieron tubérculos limpios, en las otras dos tubérculos sucios, en cada una de las jaulas se colocaron 100 tubérculos y se liberó una población de diez parejas de *T. solanivora* de un día de vida.

La evaluación se realizó dividiendo horizontalmente cada uno de los montones en cuatro estratos, superior, alto, medio y bajo. Se observaron los tubérculos de cada uno de los estratos siguiendo la metodología de evaluación descrita en el experimento de sitios de oviposición. Se hizo un registro del número de tubérculos por estrato sobre los cuales la plaga ovipositó.

Resultados y Discusión

Determinación de la capacidad de daño de una población conocida de *Tecia solanivora* en papa almacenada

Los resultados obtenidos en el primer experimento con una población conocida de

la plaga como lo indican los tratamientos que se listan en la tabla 1, proporción sexual de 1,5♀:1♂, arrojaron los promedios que se presentan en la tabla 3 para cada una de las variables evaluadas.

Para la variable número de tubérculos afectados, los datos se ajustaron a la distribución normal (Shapiro - Wilk = 0,96) y se sometieron a un análisis de varianza donde la prueba de F presentó diferencias altamente significativas entre tratamientos (F = 30,72; g.l.: 4,8; P<0,01) pero no entre bloques.

Se hizo una prueba de comparación entre tratamientos a través de un análisis de regresión, donde el mejor ajuste se presentó en el modelo polinomial (F = 183,4; g.l.: 3,10; P<0,01) con un R2 = 98% (P<0,01). Para este modelo se obtuvo la siguiente ecuación:

$$Y = 6,0 \pm 0,4 X - 0,19 \pm 0,02 X^2 + 0,001 \pm 0,00018 X^3$$

Y = Número de tubérculos afectados

X = Hembras de *Tecia solanivora*

Con esta ecuación se realizó la gráfica que se presenta en la figura 3, en la cual la variable, número de tubérculos afectados frente al aumento en la densidad de la plaga (número de hembras) presenta una curva sigmoidea con dos puntos de inflexión.

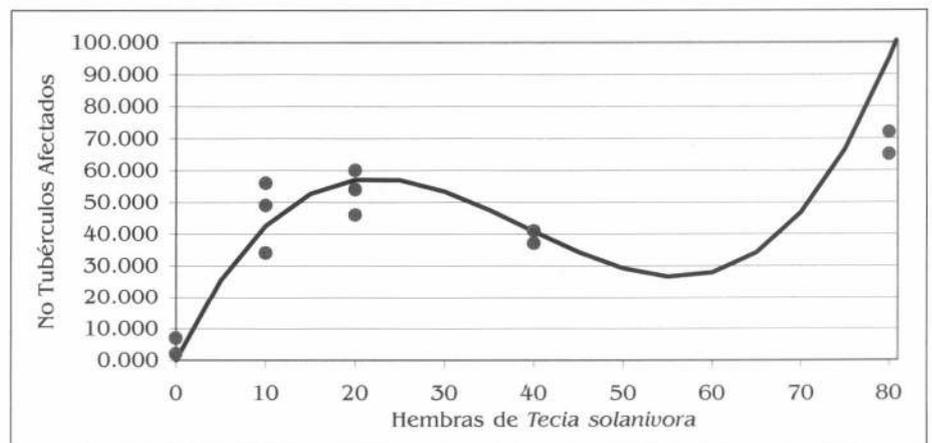


Figura 3. Efecto de diferentes densidades de la plaga en el número de tubérculos afectados. La curva representa la función polinomial y los puntos corresponden a los valores reales de las repeticiones.

Tabla 3. Promedios de las variables peso y número de tubérculos afectados en el experimento con una proporción sexual de 1,5♀: 1♂

Trat. No.	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Perdido (g) *	No Tub. Afectados**
T ₁ - 0♀	7.208,33	6.812,50	395,83 a	7,00 d
T ₂ - 10♀	6.958,33	6.661,42	296,91 a	46,33 bc
T ₃ - 20♀	6.275,00	5.968,75	306,25 ab	53,33 b
T ₄ - 40♀	7.041,67	6.625,00	416,67 ab	38,33 c
T ₅ - 80♀	7.708,33	6.895,83	812,50 b	69,00 a

Promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas, letras diferentes presentan diferencias. * DMT = 3,49, α = 0,05; ** DMT = 11,68, α = 0,01.

Para hallar los puntos de inflexión se derivó la función y posteriormente se determinaron los puntos en los cuales la curva sufre una variación. El primer punto de inflexión se presenta con 22 hembras liberadas, y el segundo punto de inflexión con 56 hembras liberadas.

Se observa que con 22 hembras de la plaga se produce un daño en 57,5 tubérculos. De este punto en adelante, aunque se incrementa el número de hembras liberadas, se presenta una reducción en el número de tubérculos afectados. Sin embargo, en el punto que corresponde a 56 hembras se presenta un daño en 26,5 tubérculos, a partir de allí, se inicia un nuevo incremento en el número de tubérculos afectados de manera creciente, fenómeno que será analizado y discutido más adelante.

Los datos obtenidos para las variables peso inicial y peso final siguen una distribución normal (Shapiro - Wilk = 0,97). Se efectuó la misma prueba de comparación entre tratamientos. El análisis estadístico de covarianza indicó que hubo diferencias significativas entre tratamientos ($F = 4,45$; g.l.: 4,7; $P < 0,05$) más no entre repeticiones.

Se ejecutó la prueba de comparación entre tratamientos a través de un análisis de regresión, la respuesta obtenida fue un modelo lineal con un R^2 del 94% ($P < 0,01$) y la siguiente ecuación:

$$Y = 5,2 \pm 0,4 X$$

$$Y = \text{Peso Perdido (Peso inicial - Peso Final)}$$

$$X = \text{Hembras de } T. \text{ solanivora}$$

Con esta ecuación se conformó la gráfica de la figura 4 sin intercepto, en la cual se observa el comportamiento en pérdida de peso frente al número de hembras liberadas, o cambios en la densidad de la plaga.

Para ajustar la respuesta de la variable peso, se hizo una corrección de todos los datos por el valor promedio de peso perdido del tratamiento testigo, T_1 , para eliminar el efecto de la pérdida de peso debida a la deshidratación natural que sufren los tubérculos durante el almacenamiento.

Para esta variable por cada hembra de *T. solanivora* liberada se reduce la masa inicial de los tubérculos en 5,22 g. Se observa en la figura 4 cómo la respuesta es directamente proporcional; es decir, a mayor número de hembras liberadas mayor peso perdido.

Para el segundo experimento se asumió una proporción sexual de la plaga de 1♀: 1♂ que es la más ampliamente encontrada en los estudios biológicos de la especie. Se liberó el número de parejas que se indica en la tabla 2, sin determinar el sexo previamente. Los promedios de los resultados obtenidos se presentan en la tabla 4.

Los resultados logrados para la variable número de tubérculos afectados con datos que cumplen una distribución normal (Shapiro - Wilk = 0,96) se sometieron a un

análisis de varianza donde la prueba de F presentó diferencias altamente significativas entre tratamientos ($F = 52,30$; g.l.: 4,8; $P < 0,01$) pero no entre bloques.

Se hizo una prueba de comparación entre tratamientos a través de un análisis de regresión en la respuesta de esta variable, donde el mejor ajuste se presentó en el modelo polinomial ($F = 287,9$; g.l.: 3,12; $P < 0,01$) con un $R^2 = 98\%$ ($P < 0,01$). Para este modelo se obtuvo la siguiente ecuación:

$$Y = 5,5 \pm 0,5 X - 0,13 \pm 0,02 X^2 + 0,0009 \pm 0,0002 X^3$$

$$Y = \text{Número de tubérculos afectados}$$

$$X = \text{Parejas de } T. \text{ solanivora}$$

Con esta ecuación se realizó la gráfica que se presenta en la figura 5, en la cual se muestra la respuesta de la variable número de tubérculos afectados frente a un incremento en el número de parejas de la plaga liberadas; al igual que en el primer experimento, se presenta una curva sigmoidea con dos puntos de inflexión.

Los puntos de inflexión se encontraron al derivar la ecuación, el primer punto de inflexión se presentó con la densidad de 33 parejas y el segundo punto con la densidad de 60 parejas.

Con la liberación de 33 parejas de la plaga se obtienen 74 tubérculos afectados y de este punto en adelante al incrementar el número de parejas se reduce levemente el número de tubérculos afectados. Sin embargo, a partir de 60 parejas, con un daño en 63,7 tubérculos, se inicia un incremento en el número de tubérculos afectados de manera creciente.

Los datos obtenidos para las variables peso inicial y peso final también se ajustaron a una distribución normal (Shapiro - Wilk = 0,96) y se sometieron a la misma prueba de comparación entre tratamientos. El análisis estadístico de covarianza indicó que hubo diferencias significativas entre tratamientos ($F = 16,11$; g.l.: 4,7; $P < 0,01$) y no entre bloques.

Se realizó un análisis de regresión para observar el ajuste de los resultados a los diferentes modelos y se obtuvo el mejor resultado con el modelo lineal ($F = 122,21$, g.l.: 1,14; $P < 0,01$) que presentó un $R^2 = 90\%$ ($P < 0,01$), y la siguiente ecuación:

$$Y = 7,6 \pm 0,7 X$$

$$Y = \text{Peso Perdido (Peso Inicial - Peso Final)}$$

$$X = \text{Parejas de } T. \text{ solanivora}$$

La gráfica de la figura 6 sin intercepto, expresa la respuesta lineal de la variable peso

Tabla 4. Promedios de las variables peso y número de tubérculos afectados en el experimento con una proporción sexual 1♀: 1♂

Trat. No.	Peso inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Perdido (g)*	No Tub. afectados**
T_1 - 0 parejas	9.166,67	8.900,00	266,67 a	1,67 d
T_2 - 10 parejas	9.166,67	8.833,33	333,34 a	37,00 c
T_3 - 20 parejas	8.395,83	7.816,67	579,16 b	70,67 b
T_4 - 40 parejas	8.250,00	7.700,00	550,00 b	70,67 b
T_5 - 80 parejas	7.447,92	6.608,33	839,59 c	85,00 a

Promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas, letras diferentes presentan diferencias. * DMT = 2,36, $\alpha = 0,01$; ** DMT = 13,15, $\alpha = 0,01$.

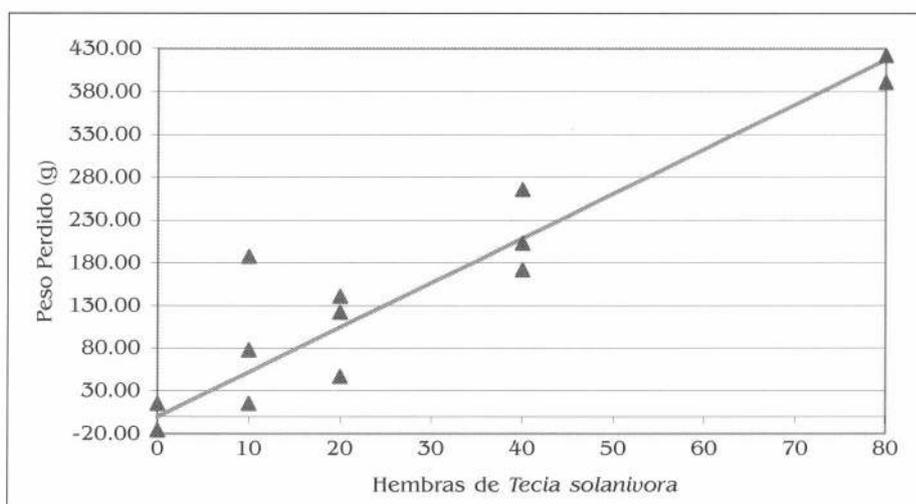


Figura 4. Efecto de diferentes densidades de la plaga en el peso perdido en los tubérculos. La línea continua representa la función lineal y los puntos corresponden a los valores en cada repetición.

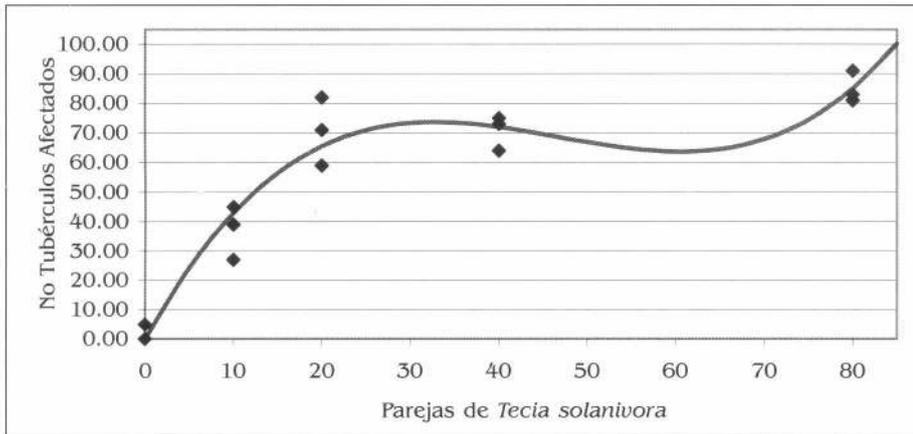


Figura 5. Efecto de diferentes densidades de la plaga en el número de tubérculos afectados. La curva representa la función polinomial y los puntos corresponden a los valores reales de las repeticiones.

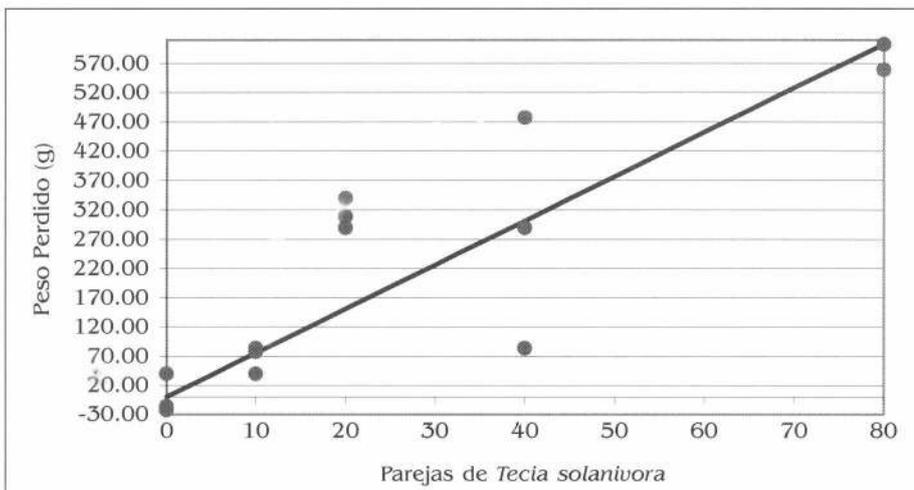


Figura 6. Efecto de diferentes densidades de la plaga en el peso perdido en tubérculos. La línea continua representa la función lineal y los puntos corresponden a los valores en cada repetición.

al aumento en el número de parejas liberadas, en este experimento en el que se asumió una relación de sexos 1♀: 1♂.

Igual que en el primer experimento, para ajustar la repuesta de la variable peso, se realizó una corrección de todos los datos por el valor promedio de peso perdido del tratamiento testigo, T_1 , para eliminar el efecto de la pérdida de peso debida a la deshidratación natural que sufren los tubérculos durante el almacenamiento.

Para esta variable por cada pareja de *T. solanivora* liberada se reduce la masa inicial de los tubérculos en 7,6 g. Se observa como la respuesta es directamente proporcional; es decir, a mayor número de parejas liberadas mayor peso perdido.

Para los dos experimentos se realizó una correlación entre las variables número de tubérculos afectados y peso, se observó que existe una correlación positiva con un valor de $R=0,78$ ($P<0,01$). Esta correlación indica que las variables están asociadas de manera directamente proporcional; es decir,

que al aumentar el número de tubérculos afectados se da una mayor diferencia de peso para el mismo número de parejas o hembras de *T. solanivora* liberadas.

Para ambos experimentos se obtuvo una respuesta polinomial en la variable número de tubérculos afectados. La relación que existe entre las diferentes densidades de hembras o parejas de *T. solanivora* y el sustrato disponible, se puede explicar a partir de los modelos de competencia intraespecífica.

La tendencia creciente que se observa en las curvas de las figuras 3 y 5, se da hasta llegar a las densidades de 22 hembras y 33 parejas, en este lapso es probable que los individuos expresen su potencial reproductivo, como ocurre en una población que está creciendo sin llegar a poner en riesgo la capacidad de carga del medio. Sin embargo, al incrementar las densidades de la plaga a partir de estos puntos, se observa que disminuye el número de tubérculos afectados. Es en este punto donde puede manifestarse un efecto de la competencia

intraespecífica, que puede ser por alimento, espacio o sitios de oviposición. Como mecanismo de regulación de la población la plaga puede ejercer un control de la natalidad, o utilizar mecanismos como la marcación de los sitios de oviposición para evitar que otras hembras ovipositen en tubérculos con posturas, marcación de los tubérculos a través de las heces para evitar que otras larvas penetren en los túneles o la migración de larvas de primer instar; todo esto para evitar la pérdida de la posición de equilibrio dentro del sistema, y no sobre explotar el recurso. Este comportamiento se mantiene hasta una densidad de 56 hembras en el primer experimento y 60 parejas en el segundo.

A partir de allí empieza de nuevo un incremento acelerado en el número de tubérculos afectados. Este aumento se puede explicar por fenómenos de competencia, que puede ser competencia de lucha o competencia de concurso. La competencia de lucha en condiciones ideales involucra la división exacta de los recursos y a partir de allí una división igual de los efectos de la competencia, esto puede ser manifestado por un cambio repentino cuando aumenta la densidad de la población desde una completa supervivencia hasta un 100% de mortalidad. Alternativamente la competencia de lucha puede manifestarse por cambios en la masa corporal o en el número de huevos ovipositados por hembra antes que por mortalidad. La competencia de concurso difiere de la competencia de lucha en que el recurso se reparte de manera desigual; algunos individuos consiguen todo lo que requieren, mientras otros tienen insuficientes recursos para sobrevivir o reproducirse (Hassell 1980).

Por otra parte, el modelo matemático empleado para la variable número de tubérculos presenta un ajuste del 98%; sin embargo, a partir de la densidad de 40 hembras o parejas de la plaga se muestra una amplia variación de la curva hasta la densidad de 80 hembras o parejas, esta variación pudo deberse más al ajuste del modelo polinomial que al comportamiento biológico de la especie, dado que no se probaron más tratamientos dentro del rango de densidades de 40 a 80 hembras o parejas de la plaga, aunque es evidente que la densidad de 80 hembras o parejas presenta el mayor número de tubérculos afectados.

La curva además sugiere, que se da un incremento infinito en el número de tubérculos afectados al aumentar la densidad de hembras o parejas liberadas, este comportamiento puede no tener una lógica dentro de un sistema trófico, lo que indica que es posible que cuando se agote el recurso parte de la población muera, o migre y esto se vería representado en la curva por variaciones, ya que podría estabilizarse, decrecer, ascender u oscilar.

Para ambos experimentos se obtuvo una respuesta lineal directamente proporcio-

nal para la variable peso. Los resultados muestran como a mayor densidad de *T. solanivora* el peso perdido es mayor porque hay un mayor número de larvas capaces de causar daño sobre la masa expuesta.

Los modelos que explican la respuesta de la variable peso perdido con una confiabilidad entre 90% y 94% muestran una línea con un crecimiento constante, que se presentaría en caso que el sustrato estuviera disponible indefinidamente; sin embargo, en el experimento el sustrato fue constante (100 tubérculos) y por lo tanto debe existir una variación en la respuesta lineal que podría estabilizarse y descender cuando el recurso se agote.

Vale la pena resaltar que al momento de realizar las evaluaciones de ambos experimentos se observó que, en el estrato superior de la pila, los tubérculos afectados mostraron un daño leve, en el estrato medio el daño fue moderado y en el estrato inferior el daño fue severo principalmente en los tubérculos del centro del montón. En general, para todos los tratamientos el daño siguió este patrón.

Finalmente, en los dos experimentos realizados el tratamiento donde se llevaron a cabo liberaciones de diez hembras y siete machos y diez parejas de *T. solanivora*, se presentó un alto número de tubérculos afectados, en el primer experimento el promedio fue de 46,33 tubérculos afectados y en el segundo experimento el promedio fue de 37 tubérculos afectados.

Determinación de los sitios de oviposición de *Tecia solanivora* en tubérculos almacenados

Las observaciones permitieron concluir que las hembras de *T. solanivora* colocan sus posturas debajo de la tierra adherida a los tubérculos (Fig. 7a) y alrededor de la zona de las yemas de la papa (Fig. 7b) y en la parte baja y central del montón, donde se presentó el mayor número de tubérculos con posturas. Este experimento permitió concluir que la polilla prefiere ovipositar en los lugares más protegidos tanto en la pila de papa como en el mismo tubérculo.

Determinación de la preferencia de oviposición de *Tecia solanivora* en cuanto al estado de limpieza de los tubérculos

Los resultados mostraron que el comportamiento de oviposición de *T. solanivora* en cuanto a la ubicación de las posturas en el montón fue el mismo tanto en papa sucia como en papa limpia, al analizar el número de posturas se encontró que las polillas prefieren los sitios del estrato medio y bajo para ubicarlas. Los resultados se presentan en la tabla 5.

En promedio el número total de tubérculos con posturas para papa sucia fue similar al encontrado en papa lavada ($P > 0,05$); sin embargo, fue definitivamente mayor el número de huevos por postura en las papas sucias en donde se hallaron

grupos de hasta 13 huevos, mientras que en la papa lavada se localizó un menor número de huevos por postura, entre dos y tres huevos y en menos tubérculos.

Con estas observaciones se puede corroborar no sólo que la polilla prefiere los tubérculos más protegidos en la pila para ubicar sus posturas, sino que en el tubérculo busca los lugares con mayor protección.

Las hembras de *T. solanivora* pueden estar obteniendo estímulos de la tierra adherida a los tubérculos para ubicar sus posturas en mayor número en papa sucia comparado con papa limpia, estos estímulos pueden ser la textura y olores específicos del suelo, y la protección de enemigos naturales que puede tener al ubicar las posturas debajo de los terrones adheridos al tubérculo.

Conclusiones y Recomendaciones

- En los experimentos de capacidad de daño de la plaga se presentó una respuesta polinomial para número de tubérculos afectados debido posiblemente a la competencia intraespecífica cuyo efecto se hizo visible a partir de 22 hembras y 33 parejas de *Tecia solanivora* liberadas en montones de papa. El peso perdido tuvo una relación directamente proporcional entre la densidad de la plaga y el peso perdido, determinándose que por cada hembra de *T. solanivora* liberada se da una pérdida de peso entre 5 y 7 g en el sustrato expuesto.

- Existe un patrón en el daño causado por la plaga dentro del arrume, en el estrato superior el daño en los tubérculos fue leve, en el estrato medio el daño fue moderado y en el estrato inferior el daño fue severo. Lo que sugiere que las medidas tomadas para proteger los tubérculos deben concentrarse en este lugar.

- La capacidad de daño de las larvas producidas por diez hembras o parejas de *Tecia solanivora* supera el 30% de tubérculos afectados, considerándose un porcentaje de daño alto en los experimentos realizados.

- Se determinó que la hembra prefiere ubicar sus posturas en el sitio más protegido, es decir, en la parte baja y central del montón y en el tubérculo alrededor de la zona de las yemas y debajo de la tierra adherida a la piel. En cuanto al estado de limpieza de los tubérculos, la hembra coloca posturas en un número similar de tubérculos en la papa sucia comparada con la papa limpia; sin embargo, el número de huevos por postura en papa sucia es superior al encontrado en papa limpia, por lo tanto se considera conveniente lavar los tubérculos antes de almacenarlos. Analizando este comportamiento se concluye que es probable que la hembra de la polilla guatemalteca busca los sitios más escondidos y protegidos dentro de la pila de tubérculos para ovipositar.

Tabla 5. Resultados de oviposición de *T. solanivora* en papa sucia y en papa limpia

Estrato	Número de tubérculos con posturas de <i>Tecia solanivora</i>			
	Papa sucia		Papa limpia	
	R1	R2	R1	R2
Superior	6	0	0	4
Alto	9	5	6	8
Medio	10	14	12	7
Bajo	16	13	12	9
Total	41	32	30	28
Promedio		36		29
No huevos / postura		13		3

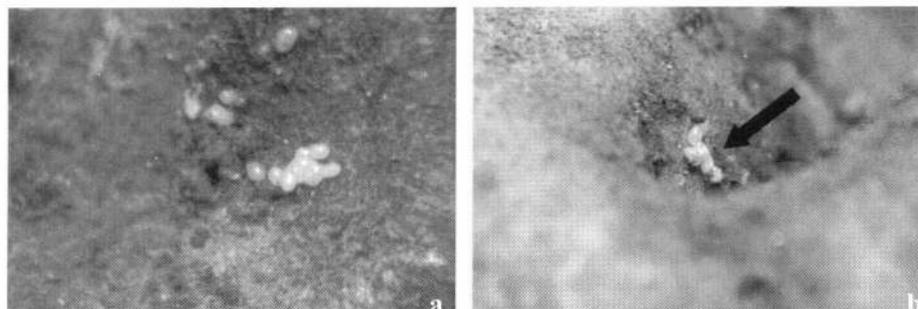


Figura 7. Sitios de oviposición de la polilla guatemalteca de la papa. a. Posturas observadas al retirar el terrón, b. Posturas alrededor de las yemas del tubérculo.

Literatura citada

- ARAQUE, C. T.; GARCÍA, J. 1999. Manual integrado de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny). Creced Provincia de Pamplona, Corpoica Regional siete, Pronatta. 44 p.
- ESPITIA, E. 1999. Hacia un manejo integrado de la polilla guatemalteca en Colombia. Memorias. XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. p. 228-238. Bogotá.
- FEDEPAPA. 2001. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Departamento Técnico. Web site. <http://www.fedepapa.com.estadisticas>. Fecha última revisión: 19 abril 2001.
- HASSELL, M. P. 1980. The dynamics of competition and predation. The Institute of Biology's. Studies in Biology no. 72. Edward Arnold Publishers Ltd. London. 68 p.
- HERRERA, F. 1997. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, comportamiento y prácticas de manejo integrado. Cartilla divulgativa. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Regional Uno. 14 p.
- NOTZ, A. 1995. Influencia de la temperatura sobre la biología de *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) criadas en tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Instituto de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Bol. Entomol. Venez. N.S. 11 (1): 49-54.
- PORRAS, P. 1999. La papa en Colombia. Desarrollo de una cadena agroalimentaria estratégica. Revista Papas Colombianas 3 (1-2): 14-17.
- SORIANO, J. 1999. Algunos aspectos para una mejor comprensión de *Tecia solanivora* (Polilla guatemalteca). Memorias XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. p. 239-247. Bogotá.
- TRILLOS, O.; ALVAREZ, G. 1998. Estudios sobre la biología y cría de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora*. Memorias Taller "Planeación estratégica para el manejo de *Tecia solanivora* en Colombia". Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. p. 1.

Recibido: Abr. 22 / 2003

Aceptado: Feb. 14 / 2004

Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores, a través de investigación participativa

Introduction and evaluation of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) in smallholder coffee farms, through participatory research

LUIS FERNANDO ARISTIZÁBAL A.¹, HUGO MAURICIO SALAZAR E.²,
CARLOS GONZALO MEJÍA M.³, ALEX E. BUSTILLO P.⁴

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 219-224 (2004)

Resumen. Cenicafé en convenio con el ICO-CFC-CABI Bioscience adelantó un proyecto de investigación participativa con pequeños caficultores de Caldas, Quindío y Risaralda relacionado con el manejo de la broca del café. Durante este proyecto se realizaron las primeras liberaciones de *Phymastichus coffea* (La Salle) en Colombia, con el propósito de darlo a conocer a los caficultores, iniciar su introducción y evaluar su establecimiento. En el estudio se consideraron 41 fincas localizadas entre 1.200 y 1.800 m de altitud. Durante 20 meses el manejo de la broca se basó en recolecciones frecuentes de café maduro y en liberaciones de *P. coffea*. Los caficultores realizaron evaluaciones de infestación de broca, posiciones de penetración en los frutos y colectaron frutos infestados para evaluar el establecimiento del parasitoide. En total se colectaron 455 muestras de frutos infestados. En el 49,2% (N = 224) de las muestras se observó la presencia de *P. coffea*. Se detectó la presencia de *P. coffea* hasta 14 meses después de la última liberación. En las fincas de los municipios de Balboa, Montenegro y Belalcázar se observaron los parasitismos mayores 5,6, 5,6 y 4,7% en promedio, respectivamente. En contraste, las fincas de los municipios de Riosucio, Buenavista y Santa Rosa de Cabal presentaron parasitismos menores 0,7, 1,3 y 1,9% en promedio, respectivamente. El parasitismo máximo fue 42%. Es importante resaltar la presencia de *P. coffea* en el 87,5% de los predios en donde fue liberado, ya que se demuestra que se puede establecer en los agroecosistemas cafeteros del país.

Palabras clave: Establecimiento. Caficultores. *Hypothenemus hampei*. Control biológico. Parasitoides.

Summary. In collaboration with ICO-CFC-CABI Bioscience, Cenicafé conducted a farmer participatory research project with smallholder coffee growers in Caldas, Quindío and Risaralda, related to the management of the coffee berry borer. During this study the first release of *Phymastichus coffea* (La Salle) was made in Colombia with the main purpose of allowing farmers to learn about this parasitoid, initiate its introduction, and evaluate its establishment. Forty-one coffee farms participated in the study, which were located between 1.200 and 1.800 meters elevation. For 20 months coffee berry borer management was based on frequent harvests of mature coffee and releases of *P. coffea*. Farmers made evaluations of insect infestation, positions of borer penetration in the berry and collected infested berries to evaluate the parasitoid establishment. Altogether 455 samples of infested berries were collected. In 49,2% (N = 224) of the samples the presence of *P. coffea* was observed. The presence of *P. coffea* was detected up to 14 months after the last release. In farms of Balboa, Montenegro and Belalcázar, the highest parasitism was observed: mean of 5,6, 5,6 and 4,7%, respectively. In contrast, farms of Riosucio, Buenavista and Santa Rosa de Cabal, had lower parasitism: mean of 0,7, 1,3 and 1,9%, respectively. Maximum parasitism observed was 42%. It is important to emphasize that *P. coffea* was present in 87,5 % of the farms where it was released, demonstrating that it can be established in the coffee agroecosystems of the country.

Key words: Establishment. Coffee growers. *Hypothenemus hampei*. Biological control. Parasitoids.

Introducción

Tres parasitoides de origen africano considerados enemigos naturales de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), (Coleoptera: Scolytidae) han sido introducidos exitosamente a Colombia entre 1989 y 1995, por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, a tra-

vés de Cenicafé y el Instituto Internacional de Control Biológico IICB⁵, con el propósito de criarlos y liberarlos en cafetales afectados por la broca, buscar su establecimiento en el campo para convertirlos en reguladores de poblaciones de la broca del café (Orozco y Aristizábal 1996; Bustillo *et al.* 1996; Bustillo *et al.* 1998).

Dos de los parasitoides introducidos son Hymenópteros de la familia Bethyilidae, *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Avispita de Costa de Marfil) y *Prorops nasuta* (Waterston) (Avispita de Uganda), ambos actúan como ectoparásitos de estadios inmaduros de broca, es decir, colonan sus posturas sobre la superficie de las larvas, prepupas y pupas; también actúan

1 Autor para correspondencia: Ing. Agr. Disciplina de Entomología, Cenicafé A. A. 2427, Manizales. E-mail: luis.aristizabal@cafedecolombia.com. Convenio ICO-CFC- CABI Bioscience – FEDERACAFÉ.

2 Ing. Agr. Disciplina de Entomología, Cenicafé. E-mail: hmauricio.salazar@cafedecolombia.com

3 Administrador de Empresas Agropecuarias. Auxiliar III de Investigación. Disciplina de Entomología Cenicafé. E-mail: carlosgonzalo.mejia@cafedeccolombia.com

4 Ph. D. Investigador Principal I. Disciplina de Entomología Cenicafé. E-mail: alex.bustillo@cafedecolombia.com

5 Actualmente CABI Bioscience, con sede en Londres.

como depredadores, alimentándose de todos los estados biológicos de la broca (Orozco y Aristizábal 1996; Aristizábal et al. 1998; Bustillo et al. 1998; Bacca 1999).

El tercero es un Hymenóptero de la familia Eulophidae, *Phymastichus coffea* (La Salle) (Avispita de Togo), actúa como endoparásito de adultos, colocando posturas dentro de la broca (Borbón 1989; Feldhege 1992; Orozco y Aristizábal 1996; Baker 1999; Orozco 2001). Desde 1996 Cenicafé realizó la segunda introducción de este parasitoide procedente de Kenia (África), con previa cuarentena llevada a cabo en los laboratorios del CABI Bioscience en Ascot Inglaterra, con el propósito de establecer una colonia para poder desarrollar una metodología de cría masiva (Orozco 2002) y posteriormente introducirlos en los agroecosistemas cafeteros del país con presencia de la plaga. En Colombia, la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafé cuenta con la mayor colonia de producción de *P. coffea* del mundo. Hasta finales del 2002, se produjeron 31'857.182 adultos los cuales se han utilizado en investigación, liberaciones de campo y envío a otros países cafeteros (Orozco 2002^b). Frente a este nuevo parasitoide se desconoce su capacidad de adaptación y de establecimiento en los agroecosistemas cafeteros del país. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la adaptabilidad y establecimiento del parasitoide *P. coffea* en fincas pequeñas de caficultores del eje cafetero, a través de investigación participativa.

Una nueva forma de generar, evaluar, validar, adaptar y transferir tecnologías es mediante la investigación participativa, en la cual se involucran agricultores, extensionistas e investigadores para evaluar las tecnologías bajo las condiciones socioeconómicas y agroecológicas de los agricultores (Ashby 1992; Stroud 1993; Bentley 1995).

Cenicafé en convenio con la Organización Internacional del café (ICO), el Fondo Común de Productos Básicos (CFC) y CABI Bioscience adelantó un proyecto de investigación participativa con pequeños caficultores colombianos de los departamentos de Caldas, Quindío y Risaralda, relacionado con el manejo de la broca del café entre los años 1998 y 2002 (Bentley et al. 2002; Aristizábal et al. 2002a; Aristizábal et al. 2002b). Uno de los temas de interés por parte de caficultores y técnicos fue adelantar estudios con los parasitoides en el campo. En este estudio se presentan resultados sobre la introducción y establecimiento de *P. coffea*, los cuales fueron evaluados en la zona central cafetera de Colombia. Durante la planeación, ejecución y discusión de resultados, se contó con la participación de caficultores y extensionistas de cada región.

Materiales y Métodos

A partir de diciembre de 1999, se realizaron las primeras liberaciones del parasitoide

P. coffea, en Colombia, con el propósito de darlo a conocer a los caficultores del proyecto de investigación participativa de Cenicafé, iniciar su introducción en cafetales afectados por la broca y evaluar su establecimiento en el campo. En el estudio participaron 41 propietarios de pequeñas fincas (Tabla 1), en cada una el caficultor seleccionó un lote comercial de café, para realizar las liberaciones del parasitoide. Los lotes fueron completamente heterogéneos con el propósito de evaluar el establecimiento de *P. coffea*, bajo diferentes condiciones agroecológicas.

Los lotes se ubicaron entre 1.200 y 1.800 msnm. El número de árboles por lote varió entre 600 y 5.000. El área ocupada en los 41 lotes fue aproximadamente de 16 hectáreas. Las variedades de café sembradas se distribuyeron así: 10% Arábigo, 39% Caturra y 51% Colombia. Los árboles presentaron diferentes edades de cosecha: entre 1 y 15 años de edad; la densidad por hectárea varió entre 2.500 y 7.500 árboles. La topografía se distribuyó así: 8% plana, 17% ondulada y 75% pendiente. El 78% presentó sombrero especialmente de plátano, guamos y frutales, el 22% restantes estuvieron a libre exposición solar.

Durante 20 meses, el manejo de la broca del café en los lotes seleccionados se basó en las recolecciones frecuentes de café maduro, cada 15 a 20 días y en las liberaciones de *P. coffea*. Los caficultores se comprometieron a no realizar aplicaciones de insecticidas en los lotes durante el tiempo del estudio. La disponibilidad de los parasitoides para las liberaciones en campo y las evaluaciones del parasitismo fue coordinada con la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafé. En compañía de los caficultores se realizaron evaluaciones mensuales de los niveles de infestación de broca mediante el método de las 30 ramas por hectárea recomendado por Cenicafé (Bustillo et al. 1998), las evaluaciones de las posiciones de la broca en los frutos (100 frutos infestados por lote) y se colectaron frutos (50) infestados los cuales se llevaron a la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafé para evaluar la presencia del parasitoide a través del estereoscopio.

En el laboratorio, de cada fruto infestado se extrajo la broca adulta y se depositó so-

bre una gota de agua colocada previamente en un porta objetos. Posteriormente, mediante el uso del estereoscopio (20 x de aumento) se disecó la broca adulta a través de pequeñas micro agujas, separando la cabeza y el abdomen, para observar, al interior del cuerpo de la broca, la presencia o ausencia de los estados inmaduros del parasitoide (huevos, larvas y pupas). El porcentaje de parasitismo de *P. coffea* fue estimado a través de la siguiente expresión:

$$\% P = BP / TBE * 100$$

De donde:

P = Parasitismo de *P. coffea*, dado en porcentaje (%)

BP = Brocas parasitadas (Con estados inmaduros del parasitoide en su interior)

TBE = Total de brocas evaluadas

Adicionalmente, se determinó la mortalidad de los adultos de *P. coffea* ocasionada por la manipulación durante el transporte desde la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafé hasta las fincas en las cuales se liberaron los parasitoides. El transporte de los parasitoides se realizó a través de tarros fotográficos y con muselina, para facilitar la aireación; los tarros se empacaron en una nevera de icopor con hielo en el fondo, para reducir la temperatura y disminuir la actividad de los parasitoides. Después de las liberación, se cuantificó el número de adultos de *P. coffea* que quedaron muertos dentro de los tarros fotográficos, posteriormente se estimó la mortalidad de los parasitoides.

La información registrada sobre los niveles de infestación de broca, las posiciones de la broca en los frutos y el parasitismo de *P. coffea*, se analizó para cada finca en particular (41 fincas) y para cada municipio (9 municipios), teniendo en cuenta el número de evaluaciones realizadas durante los 20 meses del estudio (535 evaluaciones en total). El análisis de la información se realizó a través de estadística descriptiva.

Resultados y Discusión

Para evaluar el establecimiento de *P. coffea*, se analizaron los datos obtenidos durante

Tabla 1. Localización de las fincas participantes en el estudio sobre el establecimiento de *P. coffea*

Departamento	Municipio	Vereda	Fincas	Altitud (m)
Caldas	Belalcázar	El Crucero	3	1.200 - 1.300
Caldas	Viterbo	El Porvenir	2	1.250
Caldas	Riosucio	El Pasmí	6	1.350 - 1.500
Quindío	Buenavista	La Granja	5	1.450 - 1.800
Quindío	Montenegro	Cantores	4	1.300 - 1.400
Quindío	Quimbaya	Morelia Alta	5	1.350 - 1.450
Risaralda	Balboa	La Cancha	5	1.250 - 1.530
Risaralda	Santuario	Limonos	7	1.200 - 1.350
Risaralda	Santa Rosa de Cabal	La Estrella	4	1.350 - 1.660

20 meses en el proyecto de investigación participativa de Cenicafé. En total se liberaron 2'213.600 adultos de *P. coffea*, distribuidos entre 2 y 5 liberaciones por lote. Los niveles de infestación de broca al momento de las liberaciones oscilaron en promedio entre 1,2 y 6,2 %; las brocas adultas vivas en la posición AB, es decir, iniciando el ataque a los frutos de café, oscilaron en promedio entre 16,8 y 33,5% (Tabla 2).

El número de liberaciones realizadas y la cantidad de *P. coffea* liberados por lote de café, fue diferente para cada finca. Esta situación se presentó debido a los siguientes aspectos: 1-Al número promedio de frutos infestados por árbol, determinado al cuantificar el total de frutos infestados en 20 árboles por lote; 2-A los niveles de infestación de broca; 3-A la cantidad de brocas vivas dentro de los frutos en la posición AB; 4-A la disponibilidad de parasitoides en la Unidad de Cría de Cenicafé y 5-Al interés de los caficultores en trabajar con este parasitoide.

El seguimiento del parasitismo de *P. coffea* se realizó durante 20 meses. Sin embargo, en relación con el establecimiento de *P. coffea*, se detectó la presencia del parasitoide hasta 14 meses después de la última liberación (Tabla 3). Se encontró este tiempo como máximo, ya que se realizaron varias liberaciones por predio durante los primeros meses del estudio.

En total se colectaron 455 muestras de frutos infestados, para evaluar el parasitismo en laboratorio. En el 49,2% (224) de las muestras se observó *P. coffea*. En las fincas de los municipios de Balboa, Montenegro y Belalcázar se observaron los parasitismos mayores 5,6; 5,6 y 4,7% en promedio, respectivamente. En contraste, las fincas de los municipios de Riosucio, Buenavista y Santa Rosa de Cabal presentaron los parasitismos menores 0,7, 1,3 y 1,9% en promedio, respectivamente. En estos municipios los niveles de infestación de broca fueron bajos al momento de hacer las liberaciones de *P. coffea*, además, las fincas de los dos últimos municipios se localizaron a mayor altitud entre 1.550 y 1.800 m. Sin embargo, a pesar de observarse parasitismos menores a mayor altitud, *P. coffea* logró adaptarse y establecerse en esas localidades. El parasitismo encon-

trado para cada una de las fincas osciló en promedio entre 0,4 y 9,4%. El máximo parasitismo de *P. coffea* fue 42%, correspondiente a la finca "El Porvenir" localizada en Balboa y el promedio general para todas las fincas (41) fue de 3,1%.

Al analizar el establecimiento de *P. coffea* según el número de fincas en donde fue liberado, se encontró su presencia en 36 (87,8%) del total de las fincas consideradas en el estudio. El establecimiento por municipio, según el número de fincas en donde se observó la presencia de *P. coffea*, osciló entre 50 y 100% (Fig. 1). En otros estudios realizados por Quintero *et al.* (1998) se encontró el establecimiento de los parasitoides *C. stephanderis* y *P. nasuta* cuatro años después de

haber sido liberados en cafetales con presencia de broca, en el sur del país en diferentes municipios del departamento de Nariño. Estos resultados indican que de los tres parasitoides introducidos al país se han establecido los dos betilidos y que la tendencia de *P. coffea* es a establecerse en los agroecosistemas cafeteros colombianos.

Poblaciones de broca y de *P. coffea*

En relación con los niveles de infestación de la broca en los lotes en donde se liberó el parasitoide, se observó variación para cada finca. Al consolidar la información procedente de 535 evaluaciones de infestación se encontró por municipio, oscilaciones entre $1,0 \pm 0,8$ y $4,8\% \pm 3,7$ de

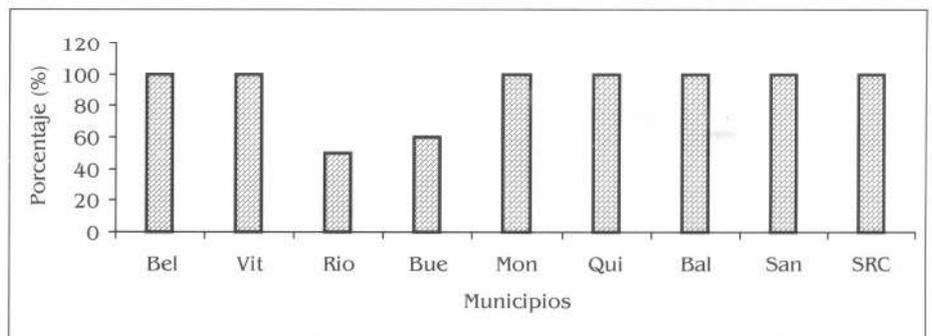


Figura 1. Presencia de *Phymastichus coffea* en los diferentes municipios. Bel = Belalcázar; Vit = Viterbo; Rio = Riosucio; Bue = Buenavista; Mon = Montenegro; Qui = Quimbaya; Bal = Balboa; San = Santuario; SRC = Santa Rosa de Cabal.

Tabla 2. Número de adultos de *Phymastichus coffea* liberados por municipio, infestación y posición de la broca al momento de las liberaciones

Municipio	Fincas	Liberaciones por lote	<i>P. coffea</i>	Infestación de broca (%)	Broca viva en AB (%)
Belalcázar	3	3	261.600	$5,6 \pm 3,7$	$30,7 \pm 14,5$
Viterbo	2	3	166.500	$3,6 \pm 5,5$	$16,8 \pm 07,8$
Riosucio	6	2	54.000	$1,2 \pm 1,8$	$22,5 \pm 14,2$
Buenavista	5	1 - 4	147.100	$1,2 \pm 0,6$	$31,1 \pm 14,7$
Montenegro	4	2 - 6	185.500	$3,6 \pm 2,0$	$33,5 \pm 17,3$
Quimbaya	5	3 - 5	350.300	$4,2 \pm 3,5$	$30,4 \pm 13,6$
Balboa	5	4 - 6	424.200	$4,0 \pm 3,1$	$23,9 \pm 16,5$
Santuario	7	1 - 3	270.000	$6,2 \pm 7,2$	$17,8 \pm 9,2$
Sta. Rosa C.	4	4	353.400	$3,2 \pm 2,1$	$26,7 \pm 12,3$
Total	41		2'213.600		

Tabla 3. Número de evaluaciones y porcentaje promedio de parasitismo de *P. coffea* encontrado por municipio

Municipio	Número de evaluaciones	N <i>P. coffea</i>	Presencia <i>P. coffea</i> (%)	Parasitismo	Máximo	Presencia <i>P. coffea</i> última liberación
Belalcázar	44	25	56,8	4,7	28	8 meses
Viterbo	27	16	22,5	3,5	12,5	8 meses
Riosucio	32	7	21,8	0,7	8	2 meses
Buenavista	31	10	32,2	1,3	10	5 meses
Montenegro	55	41	74,5	5,6	28	9 meses
Quimbaya	66	24	36,3	2,3	24	5 meses
Balboa	89	57	64,0	5,6	42	7 meses
Santuario	54	22	40,7	2,1	16	14 meses
Sta. Rosa C.	57	22	38,5	1,9	16	2 meses
Total	455	224	49,2			

infestación en promedio (Tabla 4). Estas evaluaciones de las poblaciones de broca presentaron un comportamiento normal en relación con niveles de infestación presentados en el eje cafetero.

En las figuras 2, 3 y 4 se observa las poblaciones de broca y el parasitismo de *P. coffea*

presentado en tres fincas representativas del estudio:

1- En la finca "El Laurel", Montenegro, Quindío, los niveles de infestación de broca oscilaron entre 1,9 y 13,4%. El promedio durante 20 meses fue 5,9%. A partir del mes de enero de 2001 se observó un

incremento significativo de la población de broca, debido a una labor de eliminación de cafetales viejos realizada en una finca vecina, sin dejar los árboles trampa. Por lo tanto, se incrementó la población de broca. En esta finca se liberaron 72.500 adultos de *P. coffea*, distribuidos en 5 liberaciones realizadas en los meses de enero, febrero, abril, julio y noviembre de 2000. *P. coffea* se observó a través del tiempo, con niveles de parasitismo entre 0 y 18%, con un promedio de 6,1%. En agosto de 2001, nueve meses después de la última liberación, se observó *P. coffea*, encontrándose 6% de parasitismo.

2- En la finca "La Carmelita", Balboa, Risaralda, los niveles de infestación de broca fluctuaron entre 0,9 y 10,5%. El promedio de infestación durante 19 meses fue 4,7%. A partir de enero de 2001 los niveles de broca se incrementaron en el lote, debido posiblemente a recolecciones deficientes después de finalizada la cosecha principal del año 2000, cambios climáticos presentados en la zona y a la altitud baja de la finca (1.250 m). En esta finca se liberaron 56.950 adultos de *P. coffea* distribuidos en cuatro liberaciones realizadas durante los meses de febrero, abril y agosto de 2000 y febrero de 2001. Los niveles de parasitismo fluctuaron entre 0 y 18%, presentándose 6,2% en promedio (Fig. 3). El parasitoide se observó hasta 5 meses después de la última liberación.

3- En la finca "El Deseo", Belalcázar, Caldas, la infestación de broca varió entre 0,4 y 12%. Durante 12 meses se encontró 4,0% \pm 3,5 de infestación en promedio (Fig. 4). Se liberaron 92.000 adultos de *P. coffea* distribuidos en tres liberaciones realizadas durante los meses de febrero, marzo y julio de 2000. El parasitismo varió entre 0 y 28%, encontrándose 5,1% en promedio. El parasitoide se observó hasta 4 meses después de la última liberación.

Los descensos de los niveles de parasitismo observados en todas las fincas, se debieron muy probablemente a la labor de recolección frecuente de frutos maduros que realizaron los caficultores. Por lo tanto, se hace necesario seguir realizando liberaciones adicionales para reforzar el establecimiento y el efecto del parasitoide en la regulación de las poblaciones de broca.

Estudios realizados en cafetales demuestran el alto potencial que tiene *P. coffea*, como enemigo natural de la broca del café. Vergara *et al.* (2001b) encontraron que *P. coffea* posee buena capacidad de búsqueda de adultos de broca, registrando parasitismos entre 15 y 94,7% al evaluar su dispersión en campo. Vergara (1998) y Echeverry (1999) coinciden en afirmar que la mejor relación de liberación de *P. coffea* es 1:1 (Avispa: Broca) registrando parasitismos entre 49 y 66,5%. Los estudios más recientes realizados en campo, muestran que *P. coffea* puede alcanzar niveles de parasitismo entre 77 y 85% (Jaramillo 2002). A pesar de que los parasitismos encontrados en este estudio sobre esta-

Tabla 4. Porcentaje de infestación por broca e infección por *Beauveria bassiana*, por municipio

Municipio	Fincas	N	Infestación broca (%)	Infección B.b (%)
Belalcázar	3	56	3,0 \pm 2,3	3,7 \pm 7,3
Viterbo	2	48	3,1 \pm 2,3	3,3 \pm 2,6
Riosucio	6	113	1,0 \pm 0,8	2,7 \pm 3,5
Buenavista	5	40	1,4 \pm 0,6	2,6 \pm 5,1
Montenegro	4	76	3,9 \pm 2,5	5,7 \pm 6,1
Quimbaya	5	62	3,1 \pm 3,0	2,9 \pm 6,8
Balboa	5	95	4,8 \pm 3,7	1,4 \pm 3,1
Santuario	7	66	4,5 \pm 4,7	1,5 \pm 2,9
Santa Rosa C.	4	61	2,7 \pm 2,2	0,8 \pm 1,8

(\pm): Error estándar del promedio.

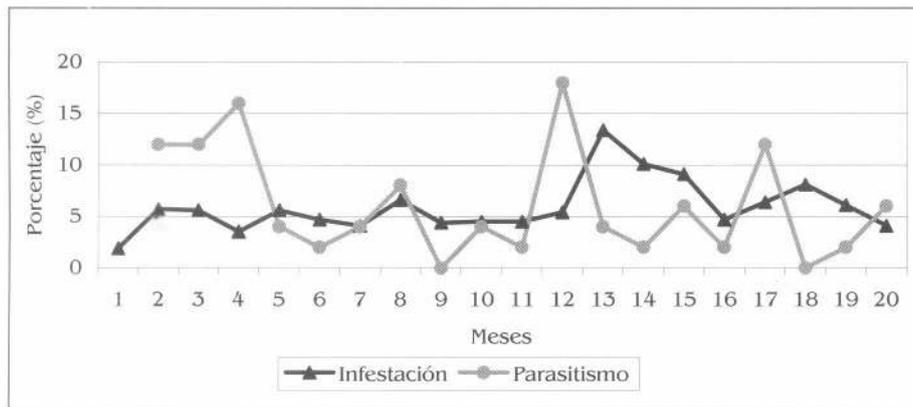


Figura 2. Niveles de infestación por broca y porcentajes de parasitismo de *Phymastichus coffea*, lote de 1.000 árboles de café arábigo de 12 años de edad, finca "El Laurel", vereda Cantores, Montenegro, Quindío, ubicada a 1.350 msnm.

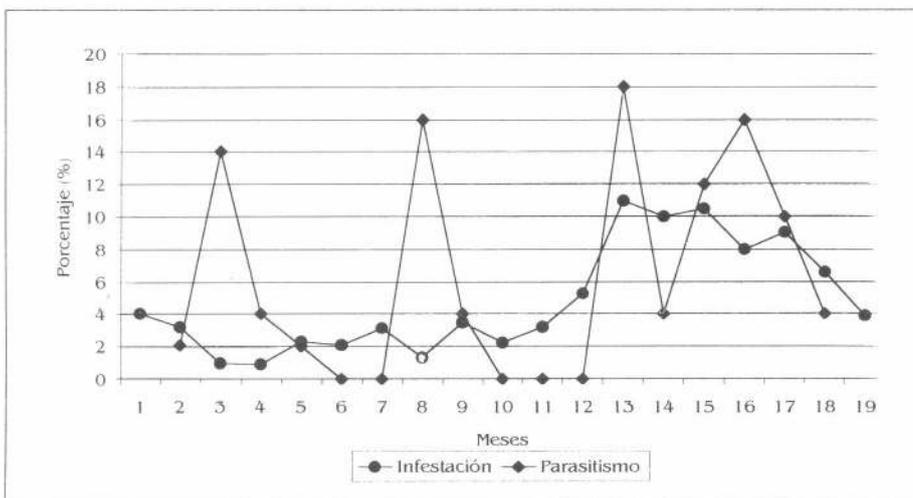


Figura 3. Niveles de infestación por broca y porcentajes de parasitismo de *P. coffea*, lote de 1.200 árboles variedad Colombia de segunda cosecha, finca "La Carmelita", vereda La Cancha, Balboa, Risaralda, ubicada a 1.250 msnm.

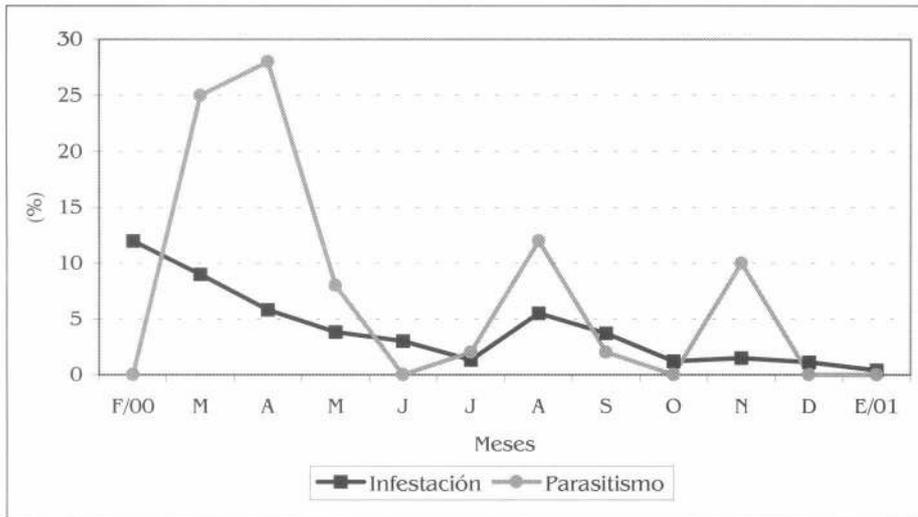


Figura 4. Niveles de infestación por broca y porcentajes de parasitismo de *P. coffea*, lote de 3.000 árboles variedad Caturra de segunda cosecha, finca "El Deseo", vereda El Crucero, Belalcázar, Caldas, ubicada a 1.550 msnm.

blecimiento fueron bajos, es importante resaltar la presencia de *P. coffea* en el 87,5% de los predios en donde fue liberado, ya que se demuestra la buena capacidad de adaptación en los agroecosistemas cafeteros del país.

Mortalidad de adultos de *P. coffea* durante la liberación

Es importante mencionar que durante la manipulación de los adultos de *P. coffea* en el proceso de empaque y transporte desde la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafe hasta las fincas en las cuales se liberaron, se presentó mortalidad de adultos, debido al estrés que ocasiona dicho proceso y a las condiciones ambientales especialmente temperaturas altas (mayores a 24 °C) durante la liberación en los cafetales, a pesar de tomarse medidas especiales para el transporte de los parasitoides (tarros fotográficos con muselina, empacados en nevera de icopor con hilo en el fondo). En 12 liberaciones se estimó la cantidad de parasitoides liberados en 120.000 adultos, después de la liberación se encontraron 11.292 adultos muertos dentro de los recipientes; es decir, $9,5\% \pm 5,5$ de mortalidad. Esta situación sugiere la necesidad de tomar medidas que ayuden a disminuir la mortalidad de los parasitoides durante la liberación, para favorecer su eficacia en el campo.

Comentarios de los caficultores sobre los parasitoides

En reuniones veredales y en los encuentros de caficultores experimentadores que se realizaron durante la vigencia del proyecto IPA -MIB de Cenicafe, se han manifestado comentarios sobre *C. stephanoderis*, *P. nasuta* y *P. coffea* por parte de los caficultores (Aristizábal et al. 1999; Aristizábal et al. 2002a) algunos de ellos se presentan textualmente a continuación:

... "Lo positivo de las avispidas es que no contaminan, son muy buenas obreras, son fáciles de liberar"....

... "Lo negativo de las avispidas es que cuando el programa con Cenicafe termine, no sabemos en donde vamos a conseguir las y a que precio nos las puedan vender, pero estamos dispuestos a comprarlas" ...

"Al principio yo no creía en esos animalitos, pero ahora viendo la broca muerta si creo en la tal avispidita nueva". (*P. coffea*).

Conclusiones

- En el estudio se observó a *P. coffea* en el 87,8% de los lotes de café donde se liberó.
- El endoparasoite *P. coffea* se encontró hasta 14 meses después de haber sido liberado en los cafetales.
- Los parasitismos observados fueron bajos, debido posiblemente a las recolecciones frecuentes de frutos realizadas por los caficultores y a las cantidades liberadas en los cafetales; sin embargo, se evidencian su establecimiento en las zonas donde se liberó.

Agradecimientos

A los pequeños caficultores del proyecto IPA - MIB de Cenicafe por su valiosa colaboración y contribución al conocimiento tecnológico. Al Dr. Jaime Orozco Hoyos y Diana Soraya Rodríguez Arenas funcionarios de Cenicafe y al personal de la Unidad de Cría de Parasitoides de Cenicafe por el suministro de material biológico y las evaluaciones de laboratorio. Al personal auxiliar y profesional de la Disciplina de Entomología de Cenicafe. A los Comités Departamentales de Cafeteros de Caldas, Quindío y Risaralda. Al convenio FEDERACAFÉ - ICO - CFC - CABI Bioscience por la financiación del proyecto.

Literatura citada

- ARISTIZÁBAL A., L. F.; OROZCO H., J.; BAKER, P. S.; BUSTILLO P., A. E.; CHAVES C., B. 1988. 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 - 41.
- ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 1999. Memorias del I Encuentro de Caficultores Experimentadores en el Manejo Integrado de la Broca del café. Investigación Participativa con Agricultores en el Manejo Integrado de la Broca del café IPA - MIB. Centro Nacional de Investigaciones del Café, CENICAFÉ. Convenio ICO - CFC - IIBC - FEDERACAFÉ. Subestación Experimental "La Catalina" Pereira, Risaralda, Colombia, noviembre de 1999. 21 p.
- ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 2002a. Informe Final del Proyecto Manejo Integrado de la Broca del café CFC/ICO/02 1998 - 2002. Un informe de las actividades del proyecto en Colombia, Guatemala, Honduras, México y Jamaica. Parte I. Investigación Participativa con Agricultores en el Manejo Integrado de la Broca del Café en Colombia. Convenio ICO - CFC - CABI Bioscience - FEDERACAFÉ - CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas, Colombia. Enero 2002. p. 11-101.
- ARISTIZÁBAL A., L. F.; SALAZAR E., H. M.; MEJÍA M., C. G. 2002b. 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.
- ASHBY, J. A. 1992. Manual para la evaluación de tecnologías con productores. IPRA / Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali (Colombia). 127 p.
- BACCA I., R. T. 1999. Efecto del parasitoide *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyilidae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Santafé 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-Cenicafe-CABI Bioscience (CNTR 93/1536 A). Chinchiná (Colombia), DFID, 154 p.
- BENTLEY W., J. 1995 Transferencia de tecnología e implementación del MIP en la agricultura artesanal y avanzada de los trópicos. En: Teodoro Stadler (ed.) Seminario Internacional "Manejo integrado del picudo del algodón en Argentina, Brasil y Paraguay." Actas del Seminario. Londrina (Brasil), p. 59-64.
- 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.

- BORBÓN, M., O. 1989. Bioecologie d'un ravageur des baies de cafeier, (*Hypothenemus hampei*) (Ferrari), (Coleoptera: Scolytidae) et de ses parasitoides au Togo. Toulouse (Francia), Université Paul Sabatier de Toulouse. Tesis: Doctorado. 185 p.
- 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 Colombia. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Cenicafé. Chinchiná (Colombia). 134 p.
- ECHEVERRY A., 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. (Trabajo de Grado de Ingeniero Agrónomo). Universidad de Colombia Sede Palmira. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 99 p.
- FELDHEGE M. R. 1992. Rearing techniques and aspects of biology of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) a recently described endoparasitoid of the coffee berry borer: *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Café Cacao Thé 36 (1): 45-54.
- 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. (Trabajo de Grado de Ingeniero Agrónomo). Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Agroonomía, Manizales. 97 p.
- OROZCO H., J. 2001. Producción de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Memorias XXIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología p. 101-109. Pereira.
- OROZCO H., J. 2002. Guía para la producción del parasitoide *Phymastichus coffea* para el control de la broca del café. Convenio ICO – CFC – CABI Bioscience – FEDERACAFÉ – CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas, Colombia. 19 p.
- OROZCO H. J.; ARISTIZABAL A. L. F. 1996. Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café. CENICAFÉ, Chinchiná (Colombia). Avances Técnicos no. 22. 8 p.
- QUINTERO H. C. E.; BUSTILLO O. A. E.; CHAVES C. B. 1998. Evidencias del establecimiento de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae) en cafetales del departamento de Nariño. Revista Colombiana de Entomología 24 (3-4): 141-147.
- STROUD, A. 1993. Conducting on -farm experiments. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali (Colombia). 118 p.
- VERGARA O., J. D.; OROZCO H., J.; BUSTILLO P. A. E.; CHAVES C., B. 2001a. Biología de *Phymastichus coffea* en condiciones de campo. Cenicafé 52 (2): 97-103.
- VERGARA O., J. D.; OROZCO H., J.; BUSTILLO P. A. E.; CHAVES C., B. 2001b. Dispersión de *Phymastichus coffea* en un lote de café infestado de *Hypothenemus hampei*. Revista Cenicafé 52 (2): 104-110.

Recibido: Abr. 22 / 2003

Aceptado: Sep. 15 / 2003

Reconocimiento de enemigos naturales de la hormiga loca, *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae), en el municipio de El Colegio (Cundinamarca) y en el valle del río Cauca¹

Survey of the natural enemies of the crazy ant, *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae), in the municipality of El Colegio (Cundinamarca) and in the Cauca River valley

GERMÁN ANDRÉS VARGAS O.², PAULA ANDREA DÍAZ P.³, LUZ ADRIANA LASTRA B.⁴, NORA CRISTINA MESA C.⁵, INGEBORG ZENNER DE POLANÍA⁶, LUIS ANTONIO GÓMEZ L.⁷

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 225-232 (2004)

Resumen. La hormiga loca (HL) representa un problema ambiental, social y económico ante el cual se ha planteado la necesidad de realizar la búsqueda de enemigos naturales que puedan convertirse en reguladores de sus poblaciones. Con este fin, se hizo un reconocimiento de éstos, mediante la observación visual y captura de la HL, y otras hormigas en dos zonas: en El Colegio (C/marca) como representante de una zona otrora invadida por altas poblaciones de la plaga, y el valle geográfico del río Cauca, donde hay sectores actualmente afectados por ésta. En El Colegio, no se capturó a la HL, pero sí a un buen número de especies pertenecientes a otros géneros y subfamilias. Bajo estas condiciones, no hubo forma de detectar a los enemigos naturales, pero sí concluir que hubo un restablecimiento del equilibrio junto con la desaparición de la HL, hasta el momento sin explicación clara. En el valle geográfico del río Cauca no se encontraron entomopatógenos ni parasitoides distintos al ácaro *Macrodinychus sellnicki*, que se halló parasitando desde 0 hasta 82% de las pupas de la HL, en el ingenio Risaralda y en INCAUCA S.A., respectivamente. En observaciones de campo se logró detectar a la hormiga legionaria *Labidus pos. coecus*, depredadora especialmente de hormigas, en nidos de la HL. Además, en el ambiente menos disturbado de los estudiados, la madreveja La Trozada, se encontró la presencia de la HL con otras hormigas nativas, en un estado en donde la competencia por los recursos se constituye en un elemento importante para la regulación de las poblaciones de la plaga. Estas situaciones sugieren que las altas infestaciones de la HL no son permanentes y su duración está influenciada por las características propias de los sitios que invade. La importancia de los enemigos naturales radicaría en debilitar las poblaciones de la HL, permitiendo que sus competidores, especialmente otras hormigas, terminen por minimizarlas en la zona afectada.

Palabras clave: *Macrodinychus sellnicki*. *Labidus pos. coecus*. Hormigas nativas. Competencia interespecífica. Regulación poblacional.

Summary. The crazy ant (CA) has become an environmental, social and economic problem and there is a need to explore for natural enemies that might regulate its populations. With that objective, a survey was conducted by means of visual observation and captures of CA and other ants in two zones: El Colegio (Cundinamarca) representing a zone once highly infested by this pest and the Cauca River Valley where there are areas currently affected by the CA. CA was not caught in El Colegio but a large number of ant species belonging to other genera and subfamilies were collected. Under these conditions it was not possible to detect natural enemies, but equilibrium was reestablished together with the disappearance of CA, with no clear explanation up to now. In the Cauca Valley, no pathogens and parasitoids were found other than the mite *Macrodinychus sellnicki*, which was found parasitizing 0 to 82% of CA pupae in the Risaralda and INCAUCA, S. A. sugar mills, respectively. In field observations the army ant, *Labidus pos. coecus*, which feeds on others ants was detected in CA nests. In the least disturbed sampled, La Trozada, CA was detected in the presence of other native ants, in a situation where competition for resources constitutes an important element in the regulation of pest populations. These situations suggest that high levels of CA infestation are not permanent and their duration is influenced by characteristics of the areas they invade. The importance of natural enemies is that they weaken CA populations, allowing competitors, particularly other ants, to reduce them in infested areas.

Key words: *Macrodinychus sellnicki*. *Labidus pos. coecus*. Native ants. Interespecific competition. Population regulation.

1 Proyecto cofinanciado por Colciencias. Código 2214-531-97.

2 Estudiante de Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. E-mail: gervar7708@yahoo.com

3 Estudiante de pasantía. Agronomía. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA. Bogotá, D. C.

4 Investigador Cenicaña. Bióloga Entomóloga.

5 Profesora Asociada. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. E-mail: ncmcobo@carpa.ciagri.usp.br

6 I. A. Ph. D. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA, Bogotá. E-mail: inagro@udca.edu.co

7 Autor para correspondencia: Investigador de Cenicaña. I. A. Ph. D. Teléfono 6648025 Ext. 140. E-mail: lagomez@cenicana.org

Introducción

La introducción deliberada e ilegal de la hormiga loca, *Paratrechina fulva* Mayr, se constituyó en un problema ecológico, social y económico (Zenner 1992) ante el cual se ha visto la necesidad de implementar una estrategia de manejo integral que explore una combinación adecuada de todos los métodos disponibles, buscando un programa de control a largo plazo con poco o ningún impacto ambiental. En cuanto al manejo de cebos tóxicos se han logrado avances (Gómez 2001), pero su efecto sólo es temporal, y el problema en el Valle podría agravarse teniendo en cuenta la implementación del sistema de cosecha en verde de la caña de azúcar para el año 2005 (Lastra y Gómez 2000).

El control biológico clásico, tan exitoso con muchas plagas, todavía no ha sido utilizado en forma sucesiva y exitosa en contra de ningún insecto social (Porter 2000). En el caso de las hormigas, Hölldobler y Wilson (1990) registran abundantemente casos de organismos que actúan sobre ellas como enemigos naturales en relaciones, en algunas situaciones, muy especializadas, de parasitismo, de depredación y en menor grado de enfermedad. Dado que en las hormigas el uso dirigido de enemigos naturales es escaso, cabe señalar el uso de *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) para el control de la hormiga de fuego, *Solenopsis invicta* en USA.

En cuanto a la HL, el control biológico había sido ignorado por el hecho de no haber información al respecto y, hace unos cinco años, en el Valle del Cauca, se registró la presencia de un ácaro ectoparásito, que fue identificado como *Macrodinychus sellnicki* (Acari: Uropodidae). Aunque la cría masiva de este ácaro no ha sido posible bajo condiciones de laboratorio, en campo ha mostrado niveles tales de agresividad que se puede considerar como un elemento prometedor para la regulación de las poblaciones de la HL, mediante la implementación de liberaciones inoculativas, dentro de un programa de manejo integrado a largo plazo (Gómez y Lastra 1997; Gómez 1999; González 2002). Esto estimuló que se ampliara la búsqueda e identificación de otros enemigos naturales, con el objetivo de encontrar otros agentes potenciales de control biológico.

Materiales y Métodos

Se planeó hacer el reconocimiento de enemigos naturales bajo dos situaciones: en áreas donde ocurrieron brotes exagerados de la HL, pero que en la actualidad no presentan problemas con ella, y en áreas con presencia actual abundante de esta hormiga. Acorde con esto, el trabajo se realizó en El Colegio (C/marca), sitio de invasión original de la plaga, entre los meses de septiembre de 2000 a febrero de 2001, y en el valle geográfico del río Cauca, sitio en donde actualmente hay sectores afectados por la hormiga, entre los meses de abril de 2001 a abril de 2002.

En este último sitio, el trabajo se realizó en dos fases: La primera consistió en la exploración y búsqueda de organismos asociados con la HL, en relaciones de parasitismo, depredación o enfermedad; y la segunda consistió en un estudio de profundización en uno de los sitios evaluados, con el objetivo de analizar la interacción de la HL con otros organismos, especialmente hormigas nativas, y a regulación poblacional de la plaga.

El Colegio (C/marca)

Este sitio se constituyó en una de las zonas de invasión original de la plaga, presentándose luego una explosión poblacional muy marcada. Sin embargo, en la actualidad no se ha registrado que la HL esté causando problemas (Zenner 1992). El trabajo de campo fue realizado en las veredas de El Tigre y Las Palmas, en la inspección de Pradilla y en la vereda La Soledad en la inspección de El Triunfo, y el material colectado se examinó en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA.

Con el objetivo de detectar la presencia de la HL y registrar la presencia de hormigas nativas, se utilizaron trampas de salchicha. El método consiste en una caja plástica cebada con una rodaja de salchicha, que dejada en el campo entre una y tres horas permite la captura de las hormigas presentes (Gómez y López 1995).

Valle geográfico del río Cauca

Fase de exploración. Esta etapa del trabajo consistió en el reconocimiento inicial de aquellos organismos relacionados con la HL como enemigos naturales, y fue realizada entre los meses de abril de 2001 a febrero de 2002. Se trabajó en cuatro sitios con antecedentes de poblaciones altas de la plaga, tres de los cuales correspondieron a campos cultivados con caña de azúcar: Hacienda García Caucana (Ste. 18) de INCAUCA S.A., Hacienda Piedechinche (Ste. 32a) del Ingenio Providencia y Hacienda Cabuyas (Ste. 37) del Ingenio Risaralda; y uno ubicado dentro de una zona de reserva natural, la madreveja La Trozada. En cada sitio se realizaron cuatro muestreos alternados cada dos meses para un total de 16 muestreos.

Para estimar los niveles de infestación, se regaron en los bordes de los campos 25 trampas de tal forma que dos trampas consecutivas estuvieran separadas por seis metros, y se dejaron expuestas durante media hora, para posteriormente ser recogidas y realizar en el laboratorio el conteo de las obreras capturadas. Para los niveles de infestación se trabajó con rangos adaptados de la propuesta de Gómez y López (1995): Alto (>100), Medio-alto (50-100), Medio-bajo (10-50) y Bajo <10 hormigas promedio por trampa. En el campo se hizo también una observación visual de un nido, trasladado a una bandeja (50 x 40 x 15 cm) en donde se detectaban y recolectaban aquellos artrópodos de mayor fre-

cuencia, para ser observados, clasificados en el laboratorio, e investigados a través de la literatura.

Se recolectaron nidos de la HL del suelo mediante una pala y se colocaron en cajas plásticas (11 x 34 x 27 cm), a las que se espolvoreaba talco a las paredes para evitar el escape de las hormigas. Se llenaron así cuatro bandejas que se llevaron al laboratorio dentro de neveras de icopor, para hacer las siguientes observaciones:

Observación de cría de la HL. Para esto se obligó a una migración del material colectado en una de las cajas plásticas hacia un nido artificial mediante el método de inundación (Arcila *et al.* 2000). De la colonia artificial se extraía una muestra representativa de la cría para detectar la presencia de microorganismos, esto se realizó utilizando muestras separadas de obreras y cría, que se maceraron en 2-4 ml de agua esterilizada durante 30 segundos, luego una gota del extracto se utilizó para buscar bajo el microscopio micelio fungoso, esporas fungosas, esporas de protozoos y bacterias (Briano *et al.* 1995). Además, en la colonia artificial se realizaron observaciones de posibles parásitos, parasitoides y depredadores. En el caso del ácaro *M. sellnicki*, la observación de parasitismo se efectuó contando un grupo de 100 pupas, para estimar el porcentaje de infestación de la cría.

Extracción por calor. Teniendo en cuenta que en el suelo donde anida la HL existen organismos que por su tamaño y comportamiento son difíciles de detectar mediante la observación visual de las cajas plásticas con material colectado de campo, se tomaron muestras para el montaje de dos embudos de Berlese, en donde se depositaban muestras de aproximadamente 400 g de suelo, que se exponían al calor generado por una bombilla de 60 W ubicada a 15 cm de la muestra durante un período de 72 h.

Cámaras de emergencia. Con el objetivo de recuperar aquellos enemigos naturales que en el momento de la captura estaban en estado inmaduro y que eventualmente saldrían volando en el estado adulto, se diseñó una cámara (50 x 40 x 30 cm) adaptada para la observación de las muestras con suelo, que estaba provista de una superficie de acetato para permitir la visibilidad, ventanas de tul para permitir ventilación y una manga para la manipulación. La mitad del material colectado era utilizado para este fin.

Profundización en La Trozada

Esta etapa se realizó con el objetivo de profundizar en el estudio, en uno de los sitios explorados inicialmente, y analizar los factores que intervienen en la regulación poblacional de la HL. Esto fue llevado a cabo entre los meses de marzo y abril de 2002 en la madreveja La Trozada, que es un ecosistema de humedal ubicado al oriente de la ciudad de Buga, y a unos 5

km de la reserva natural laguna de Sonso (Aragón y Libreros 2002). En la madreveja se establecieron estaciones distribuidas en una cuadrícula cada 35 m, generando un total de 50 estaciones (Fig. 1).

Caracterización de hábitats. Dado que las condiciones encontradas en La Trozada no fueron uniformes, a partir de un análisis cualitativo de las diferentes estaciones se hizo una caracterización de los hábitats predominantes, que se agruparon básicamente de acuerdo con el tipo de vegetación predominante, luego en cada hábitat se realizó la medición del porcentaje de cobertura vegetal, utilizando un densiómetro, herramienta basada en un espejo cóncavo cuadrículado que refleja el dosel vegetal, y además, se realizó la medición de la diversidad vegetal, adaptando la metodología propuesta por Mas (1999), en donde se contabilizó la cantidad de especies vegetales presentes con un diámetro de tallo mayor a 2 cm y con una altura superior a 1,5 m. Estas dos variables, representativas de la complejidad vegetal, fueron analizadas con respecto a la presencia de la HL.

Comunidad de hormigas de La Trozada. Con el objetivo de registrar la presencia de hormigas, se propuso un muestreo consistente en ubicar en cada estación una trampa de caída cuyo fondo contenía una solución jabonosa, que impedía el escape de las hormigas que de forma aleatoria caían en la trampa. Además, en cada estación, se ubicaron cuatro trampas de salchicha, que permitieron realizar pruebas de competición directa entre las hormigas presentes (Hölldobler y Wilson 1990). Las trampas de caída permanecieron en el campo durante 24 h y las trampas de salchicha tuvieron un tiempo de exposición de dos h. Esto se realizó durante cuatro muestreos a intervalos de dos semanas.

Entre las hormigas más abundantes obtenidas por ambos métodos de captura, se realizó un análisis estadístico utilizando pruebas de asociación de especies mediante Chi cuadrado con corrección de Yates (Majer et al. 1994).

Observación de enemigos naturales. En todo el territorio de la madreveja, se ubicaron nidos de la HL y de la hormiga nativa más abundante con el objetivo de detectar la presencia de enemigos naturales reconocidos en la fase exploratoria.

Resultados y Discusión

El Colegio (C/marca)

Después de buscar durante cinco meses en las inspecciones de Pradilla y El Triunfo, no fue posible detectar la presencia de la HL mediante el trapeo de salchicha, y por lo tanto, no se pudo cumplir con el objetivo principal de la investigación de obtener información acerca de enemigos naturales asociados con la HL. Sin embargo, como se puede observar en la tabla 1, se logró registrar la presencia de 13 géne-

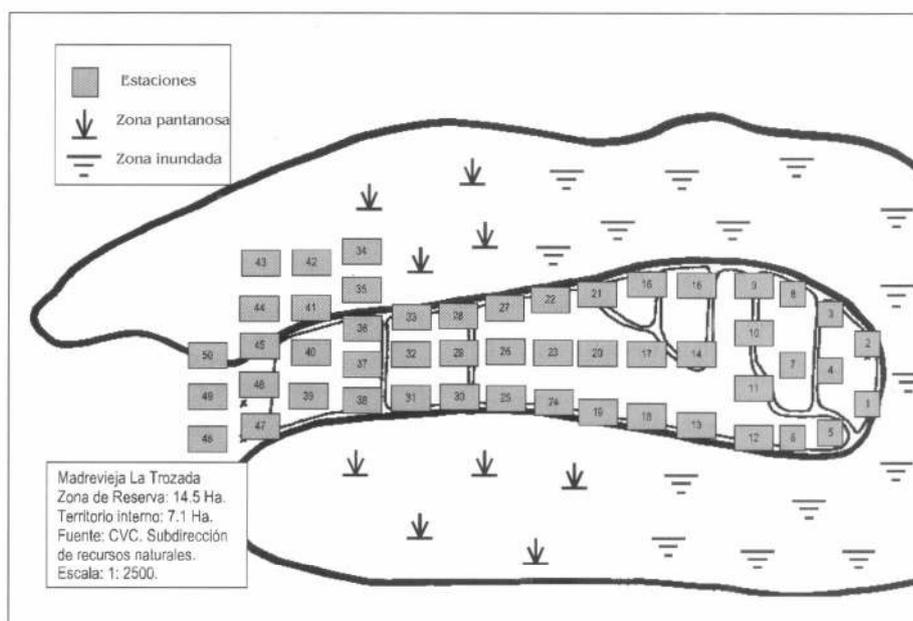


Figura 1. Plano de la madreveja La Trozada (Valle del Cauca), con la ubicación de las cincuenta estaciones de muestreo.

Tabla 1. Subfamilias y géneros de hormigas capturadas en la inspección de Pradilla y El Triunfo, municipio de El Colegio (Cundinamarca)

Subfamilia	Géneros	
	Pradilla	El Triunfo
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i> <i>Pheidole</i> <i>Crematogaster</i> <i>Monomorium</i> <i>Cephalotes</i> <i>Wasmannia</i>	<i>Solenopsis</i> <i>Pheidole</i> <i>Crematogaster</i> <i>Cephalotes</i>
Formicinae	<i>Camponotus</i> <i>Paratrechina</i> <i>Brachymyrmex</i>	<i>Camponotus</i> <i>Paratrechina</i>
Dolichoderinae	<i>Dolichoderus</i>	<i>Dolichoderus</i> <i>Tapinoma</i>
Ponerinae Pseudomyrmicinae		<i>Ectatomma</i> <i>Pseudomyrmex</i>

ros de hormigas pertenecientes a 5 subfamilias. De las especies encontradas, las más abundantes pertenecían a los géneros *Pheidole*, *Solenopsis* y *Crematogaster*. La abundancia encontrada permite pensar que la mirmecofauna en este sitio se ha restablecido.

Lo anterior planteó el interrogante acerca de lo sucedido con la HL en esta zona, en donde después de haber alcanzado extremos intolerables desplazando a las hormigas nativas, luego de un tiempo, aparentemente desaparece sin dejar rastro alguno. Al respecto, se ha señalado como posible causa la integración de la HL a la fauna nativa de hormigas debido a la pérdida de agresividad inicial, condiciones climáticas y ecológicas adversas, sin poder aclarar algo más al respecto (Zenner 1992).

Valle geográfico del río Cauca

Fase de exploración

Evaluación de la población de la HL. En los sitios correspondientes a caña de azúcar, se encontraron niveles de infestación de la HL, que siempre fueron altos (130 a 230 hormigas por trampa), en tanto que en La Trozada el nivel de infestación fue medio-bajo con 48,9 hormigas por trampa, y representa una disminución notable de la población de HL en este sitio teniendo en cuenta lo señalado por Chacón et al. (1996). Los coeficientes de variación de los datos obtenidos en campos de caña de azúcar fueron relativamente bajos (29,3 a 38,1%) comparados con lo encontrado en La Trozada en donde el coeficiente de variación fue relativamente alto (82,1%), lo que indica una distribución espacial más

pareja de la HL en los campos cultivados con respecto a la que se presenta en La Trozada. Otra característica de este último sitio fue la captura de hormigas distintas a la HL en el trapeo de salchicha (Tabla 2).

Captura manual. La observación directa permitió capturar, en La Trozada particularmente, varios organismos que se hallaban dentro o cerca de los nidos de la HL. Uno de los más frecuentes fue el carábido ubicado dentro del género *Schizogenius*, y aunque existe un buen registro de carábidos como depredadores casuales u oportunistas de hormigas (Hölldobler y Wilson 1990), su distribución en campo no permitió establecer una relación importante como enemigo natural. Además, se encontró en nidos de la HL la presencia de otro tipo de hormiga, que fue recolectada y con la ayuda de claves taxonómicas (Jaffe 1993; Longino 1999) se estableció que se trataba de la hormiga legionaria *Labidus pos. coecus* (Formicidae: Ecitoninae) (Fig. 2). Estas hormigas se caracterizan por ser altamente depredadoras, en especial de otro tipo de hormigas, y su acción puede debilitar las colonias atacadas, a tal punto que se convierten en un factor importante en la regulación poblacional de estas últimas (Hölldobler y Wilson 1990). En los otros sitios de muestreo, la captura de otros organismos fue muy escasa (Tabla 3).

Extracción por calor. Utilizando esta metodología, los individuos más comúnmente extraídos de las muestras de suelo, fueron coleópteros de la familia Staphylinidae, que han sido registrados en algunos casos

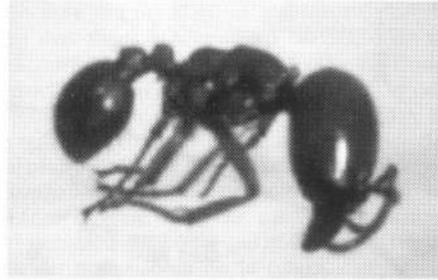


Figura 2. Soldado de *Labidus pos. coecus* (Hymenoptera: Formicidae: Ecitoninae), hormiga depredadora, encontrada en nidos de la hormiga loca en La Trozada. Fotografía de Luz A. Lastra B.

como depredadores de hormigas. Sin embargo, los organismos más frecuentes fueron los ácaros, especialmente *M. sellnicki*. Esto fue particularmente cierto en los lotes de caña donde abunda la HL; excepto en Cabuyas, Risaralda, donde estuvo totalmente ausente; y más bien fue escaso en La Trozada (Tabla 4).

Observación de cría de la HL. Se registró la presencia del ácaro *M. sellnicki* parasitando pupas de la HL, en niveles que oscilaron entre el 33 y el 68% para el ingenio Providencia, entre el 36 y el 82% para INCAUCA S.A., entre 0 y 3% para La Trozada y en el ingenio Risaralda no fue detectado en el lote evaluado. Sin embargo, existe información que en lotes vecinos se encontraba establecido. Esta información demostró la estrecha relación entre *M. sellnicki* y la HL planteada con los datos

obtenidos en la extracción por calor. Por otra parte, la búsqueda de síntomas de afección por microorganismos no reveló que la HL, en los sitios evaluados, estuviera siendo atacada por algún entomopatógeno. Esto es explicable puesto que las hormigas raramente se ven afectadas por estos organismos debido a que poseen glándulas, que secretan continuamente sustancias antibióticas, y poseen el comportamiento del acicalamiento, que les permite mantenerse limpias de esporas de hongos y bacterias (Hölldobler y Wilson 1990).

Cámaras de emergencia. Se encontró la aparición de algunos individuos de la familia Phoridae (Diptera) dentro de la cual existen varios casos de especies parasitoides de hormigas (Porter 2000), pero un buen número de especies son saprófagas; cuando son parásitas, decapitan a su hospedero lo cual facilita su detección. Los individuos recuperados no parecen estar asociados con la HL, teniendo en cuenta que su aparición fue esporádica y escasa, sin presentarse síntomas de parasitismo.

Al hacer un balance de los sitios muestreados, se concluyó que La Trozada, si bien no contiene las mayores poblaciones de la HL, presenta una condición especial en donde las poblaciones están más reguladas y por lo tanto se decidió observarlas con más detención y ver qué interacciones se presentan con otros organismos, especialmente con los enemigos naturales.

Profundización en La Trozada

Caracterización de hábitats y captura de HL. Con base en una caracterización cualitativa se obtuvieron cuatro tipos de hábitat, siendo éstos: pastizal Pará (*Brachiaria mutica*), caracterizado por la condición de pasto en barbecho; la huerta, caracterizada por ser una zona bajo la explotación de cultivos de pan coger; el cacaotal, caracterizado por la predominancia de árboles de cacao en asociación con otras especies de gran frondosidad, y por último, parte del espejo lagunar de la

Tabla 2. Capturas de HL y otras hormigas en las trampas de salchicha en el valle geográfico del río Cauca

Sitio	HL / trampa (n: 100)	Coefficiente Variación %	Trampas con HL %	Trampas con otras hormigas %
Providencia	154,3	38,1	97	0
Risaralda	230,1	29,3	97	0
INCAUCA	129,9	32,9	100	0
La Trozada	48,9	82,1	84	20

Tabla 3. Artrópodos coleccionados manualmente mediante observación directa, en las cercanías de los nidos de la HL, en los sitios de muestreo del valle geográfico del río Cauca

Sitio	Orden	Familia	Morfotipos (n)	Especie	n.
Providencia	Coleoptera	Scarabeidae	1		5
	Araneae	Lycosidae	1		5
Risaralda	Collembola	Isotomidae	1		7
INCAUCA	0	0	0		0
La Trozada	Coleoptera	Scarabeidae	1		7
		Carabidae	3	<i>Schizogenius</i> sp.	15
	Hymenoptera	Staphylinidae	5	Otros	6
		Formicidae	2	<i>Labidus pos. coecus</i>	12
				<i>Camponotus</i> sp.	100
	Dyctioptera	Blattidae	1		50
	Dermaptera	Labiidae	1		2
				1	

Tabla 4. Artrópodos extraídos mediante embudos de Berlese (2), en muestras de suelo de los nidos de la HL, en los sitios evaluados en el valle geográfico del río Cauca

Sitio	Orden	Familia	Morfotipos (n)	Especie	n.	
Providencia	Acari	Uropodidae	1	<i>Macrodinychus sellnicki</i>	155	
		Coleoptera	Scarabeidae		1	3
	Diptera	Staphylinidae	2		2	
		Nitidulidae	1		1	
		Phoridae	2		6	
	Hymenoptera	Cecidomyiidae	3		6	
		Formicidae	1		<i>Hypoponera</i> sp.	4
Risaralda	Coleoptera	Staphylinidae	1	3		
		Ptiliidae	1	23		
		Anobidae	1	1		
		Pselaphidae	1	1		
	Collembola	Isotomidae	1	13		
	Acari	Uropodidae	1	2		
	Hymenoptera	Formicidae	2	<i>Brachymyrmex</i> sp. <i>Hypoponera</i> sp.	12 2	
INCAUCA	Acari	Uropodidae	3	<i>Macrodinychus sellnicki</i> Otros	335 40	
		Coleoptera	Scarabeidae		3	3
	Hemiptera	Staphylinidae	6	12		
		Carabidae	1	1		
		Pselaphidae	1	1		
		Scotyilidae	1	1		
		Cucujidae	1	1		
		Mycteridae	1	1		
		Lygaeidae	1	1		
	Diptera	Phoridae	1	1		
	Hymenoptera	Formicidae	1	<i>Pheidole</i> sp.	30	
	La Trozada	Acari	Uropodidae	3	<i>Macrodinychus sellnicki</i> Otros	3 54
			Coleoptera	Scarabeidae		2
Diptera		Staphylinidae	4	5		
		Carabidae	1	2		
		Pselaphidae	1	3		
		Ptiliidae	1	9		
		Isotomidae	1	32		
Hymenoptera		Formicidae	1	<i>Hypoponera</i> sp.	33	

madrevieja, que en época de verano se sedimenta permitiendo la colonización de especies de tipo pastizal.

Observando los registros de la cobertura y diversidad vegetal en cada uno de los hábitats, se encontró que el hábitat correspondiente al cacaotal presentó la mayor cobertura y diversidad vegetal, seguido del hábitat de pastizal, mientras que, los hábitats correspondientes a la huerta y al espejo lagunar mostraron los valores menores. Analizando las variables de cobertura y diversidad vegetal con respecto a las capturas de la HL, en trampa de caída no se detectó correlación entre las capturas de la HL y la cobertura y diversidad vegetal respectivamente ($r = -0,11$; $p = 0,1$; $n = 16$) ($r = -0,20$; $p = 0,1$; $n = 16$). Sin embargo, en el caso de las trampas de salchicha, se evidenció correlación negativa para la cobertura vegetal ($r = -0,65$; $p = 0,1$; $n = 16$) y para la diversidad vegetal ($r = -0,65$; $p = 0,1$; $n = 16$). Estos resultados parecen evidenciar una tendencia a la disminución en la captura de HL, en las trampas de salchicha, a medida que aumenta el grado de

complejidad vegetal en cada uno de los ambientes (Tabla 5).

Con respecto a la abundancia de la HL, hasta el momento se sabe que ambientes disturbados favorecen su proliferación, mientras que en áreas de vegetación poco disturbada la HL muestra un comportamiento fluctuacional variable (Gómez 1999; Hernández *et al.* 2002). Acorde con esto, se puede decir que en La Trozada aquellos hábitats con mayor complejidad vegetal poseen por ende una mayor com-

plejidad ecológica, que afectaría la presencia de la HL, ya que un ambiente poco disturbado concede más estabilidad a los sitios de anidamiento, posibilitando más interacciones entre las hormigas presentes en la estructuración de la comunidad. Al contrario, en un ambiente disturbado la dinámica jerárquica establecida al interior de las comunidades de hormigas se rompe, permitiendo que especies subordinadas como las oportunistas, en este caso la HL, proliferen (Peck *et al.* 1998; Vanderwode *et al.* 2000).

Tabla 5. Captura de HL, registros de cobertura y diversidad vegetal en los hábitats de La Trozada.

Hábitat	Cobertura veg. (%)	Diversidad veg. (Nº)	Captura de HL # Individuos / trampa	
			Caída	Salchicha
Cacaotal	92,5	5,5	6,4	8,3
Pastizal Pará	40,1	2,1	83,1	19,6
Espejo Humedal	0,2	1,0	20,2	20,6
Huerta	0,2	1,0	38,7	31,2

Comunidad de hormigas. Los métodos de captura empleados permitieron la identificación de 28 morfoespecies de hormigas, en un sitio donde hace seis años se hablaba de una ausencia casi total de las hormigas nativas ante la invasión de la HL (Chacón de Ulloa *et al.* 1996). En la tabla 6 se pueden observar las hormigas más frecuentes, en donde la HL y *Solenopsis geminata* (Formicidae: Myrmicinae) fueron las más abundantes.

El análisis estadístico de la asociación de especies (Chi cuadrado con corrección de Yates), se llevó a cabo entre la HL y *S. geminata*. Al hacerlo con los datos de la trampa de caída, no se rechazó la hipótesis nula de la independencia de la captura de una especie con respecto a la otra, e indica que ambas forrajean en los mismos sitios. Por el contrario, al analizar la información obtenida en las trampas de salchicha se encontró una relación excluyente altamente significativa ($P=0,001$). Lo que quiere decir que existe una interacción entre las dos especies de mutua exclusión determinada por competencia, por la fuente de alimento, en este caso la salchicha. La resistencia opuesta por *S. geminata* a la HL, podría por lo tanto constituirse en un elemento regulador importante de las poblaciones de la plaga, y se trataría del primer registro que comprueba la competencia ejercida por parte de una hormiga nativa ante la HL (Fig. 3). Al respecto, Hölldobler y Wilson (1990) señalan que los principales enemigos de las hormigas son otras hormigas.

Observación de enemigos naturales. En el caso de *L. pos. coecus*, el muestreo a través de las trampas de caída, al igual que la inspección visual, permitieron establecer una distribución de esta hormiga depredadora en todo el territorio de la madreveja, e inclusive fue posible encontrar seis nidos de la HL con abundante presencia de *Labidus*, aunque esta hormiga es generalista en cuanto a alimentarse de hormigas se trata, no se halló en ningún nido de *S. geminata*. Existe por lo tanto evidencia para pensar que la hormiga legionaria está causando una presión de regulación sobre los individuos de la HL. En

Tabla 6. Hormigas más abundantes en La Trozada capturadas mediante trampa de caída y trampa de salchicha

Morfoespecie	Ocupación de trampas (%)	
	Caída	Salchicha
<i>Paratrechina fulva</i>	52	49
<i>Solenopsis geminata</i>	49	25
<i>Pheidole</i> sp. 2	31	17
<i>Pheidole</i> sp. 1	26	20
<i>Solenopsis</i> sp. 2	16	10
<i>Monomorium</i> sp. 1	7	19
<i>Solenopsis</i> sp. 3	5	5

cuanto a *M. sellnicki*, las observaciones realizadas, evidenciaron que también puede atacar a *S. geminata*. Sin embargo, el porcentaje de parasitismo fue menor en esta última que en la HL (Fig. 4), lo que significa que el ácaro posiblemente presenta una preferencia por la HL. Este hecho también ha sido corroborado mediante observaciones de campo en zonas afectadas por la HL, diferentes a las consideradas en este ensayo.

Con base en lo anterior, la regulación poblacional de la HL en La Trozada se puede atribuir a un debilitamiento ejercido por el parasitismo de *M. sellnicki* y la depredación de *L. pos. coecus*, que favorece la aparición de otras hormigas en la competencia por los recursos alimenticios. Al respecto, Hölldobler y Wilson (1990) señalan que los enemigos naturales de las hormigas cumplen su rol fundamental en la estructuración ecológica de las comunidades, y en ecología de hormigas la competencia es el fenómeno característico. En el caso de El Colegio (C/ marca), la respuesta al interrogante de la ausencia de la HL, radica posiblemente en la lucha y el reestablecimiento de la comunidad nativa de hormigas, apoyada por un debilitamiento de sus poblaciones ante el efecto directo de enemigos naturales, que no fueron detectados ante la imposibilidad de ubicar a la HL en el

sitio de estudio. Esta zona se encuentra posiblemente en una etapa más evolucionada de lo hallado en La Trozada, y la comunidad de hormigas nativa pudo, de forma paulatina, constituirse en un factor de presión, haciendo que la HL perdiera terreno, para luego desaparecer debido al desplazamiento de sus colonias, como respuesta a la competencia y a la necesidad de buscar nuevas fuentes de alimento, tal como lo señalan Silverman y Nsimba (2000) al afirmar que uno de los factores para la migración de colonias de hormigas es la competencia por recursos o por territorio.

De acuerdo con esto, es posible afirmar que los altos niveles de infestación de la HL en los sitios que invade no es permanente, y su establecimiento y proliferación pasan por una serie de fases, esquemáticas teóricamente en la figura 5, que se pueden describir partiendo primero de una fase que se puede denominar de colonización, en donde inicialmente la llegada de la hormiga pasa desapercibida; luego ante la ausencia de aquellos factores de regulación natural propios de su sitio de origen, la HL experimenta un fuerte incremento poblacional, denominado fase de brote caracterizada principalmente por el desplazamiento total de otras hormigas, esta situación corresponde a la descrita por Aldana *et al.* (1995) para el periodo crítico de invasión en la reserva natural laguna

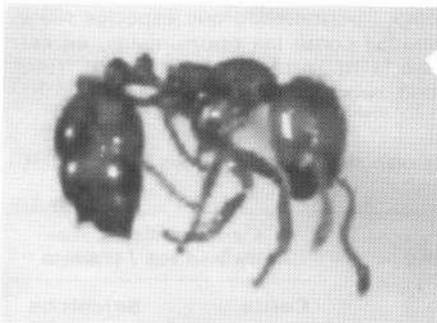


Figura 3. Obrero de *Solenopsis geminata*, hormiga nativa asociada con la hormiga loca en una relación de competencia por los recursos alimenticios en La Trozada. Fotografía de: Luz A. Lastra B.

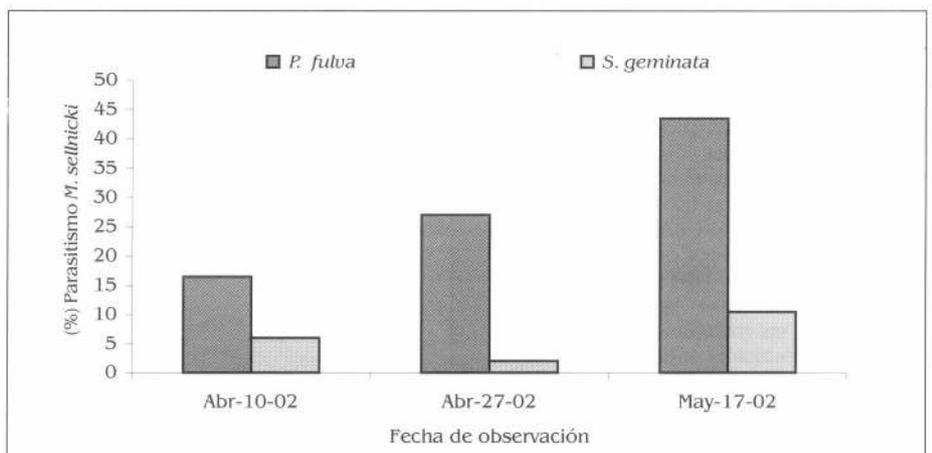


Figura 4. Parasitismo de *M. sellnicki* sobre pupas de hormiga loca y de *S. geminata* en La Trozada.

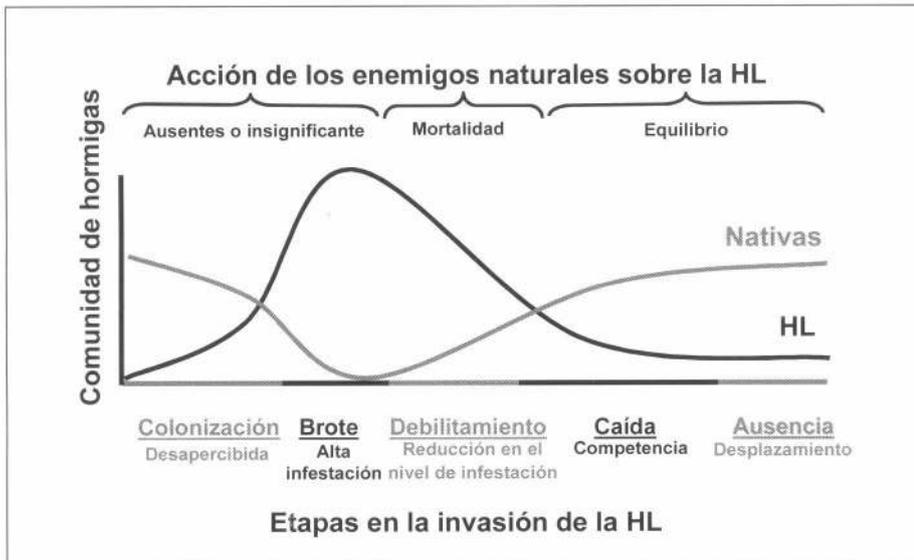


Figura 5. Diagrama teórico de la fluctuación poblacional de la HL en el tiempo

de Sonso; enseguida vendría una fase de debilitamiento por la acción de sus enemigos naturales (*M. sellnicki* principalmente), caracterizada por la disminución gradual de altas poblaciones de la plaga, y además, por la aparición esporádica de otras hormigas, tal como ocurre en algunas áreas del sector azucarero. Siguiendo en esta misma línea, vendría la fase de caída de las poblaciones, en donde la HL se encuentra bajo la presión competitiva de la comunidad nativa de hormigas, que aprovechando la influencia de los enemigos naturales ha terminado por regular las poblaciones de la plaga; este sería el caso de la madreveja La Trozada. Finalmente, una fase que se puede denominar de "desaparición", en donde hay reestablecimiento de la fauna de hormigas y aparentemente la ausencia de la HL, lo cual permite pensar que esta última ha experimentado el desplazamiento de sus colonias ante la presión de las hormigas nativas; el caso que ejemplifica esta fase es el de la zona de El Colegio en Cundinamarca.

La duración del ciclo y de cada una de sus etapas no se ha establecido y dependería de las características propias de cada región invadida por la HL. Zenner (1992) estimó que podía durar alrededor de 10 años. El ambiente disturbado de un cultivo como la caña de azúcar, por ejemplo, crea las condiciones propicias para su desarrollo y proliferación, y bajo estas circunstancias, el ciclo se alargaría en comparación con un ambiente natural poco disturbado.

De acuerdo con información lograda, el uso de los enemigos naturales buscaría reducir la duración de este ciclo. El organismo más adecuado para el control biológico dirigido de la HL, es el ácaro *M. sellnicki*, y radicaría en la recolección de pupas de la HL altamente parasitadas y provenientes de áreas en la fase de debilitamiento, para ser transportados y libera-

dos de manera inoculativa en áreas que se encuentran en la fase de brote. El efecto de estas liberaciones no se daría a corto plazo, pero resultaría en un acortamiento del ciclo poblacional de la HL en un área altamente infestada.

Conclusiones

- En El Colegio (C/marca) y en el valle geográfico del río Cauca no se encontró un organismo cuya frecuencia y asociación hagan pensar en un enemigo natural obligado específico.
- En El Colegio, se registró la ausencia de la hormiga loca y el reestablecimiento de la fauna nativa de hormigas.
- En el valle geográfico del río Cauca, *Macrodynechus sellnicki* (Acari: Uropodidae) es el enemigo más importante y frecuente de la hormiga loca.
- En la madreveja La Trozada (Valle del Cauca), se registró el fenómeno de la depredación de los nidos de la hormiga loca, ejercida por hormigas legionarias del género *Labidus*, posiblemente de la especie *L. coecus* (Hymenoptera: Formicidae) y pudo constituirse en un factor debilitante de las poblaciones de la plaga en este sitio.
- En esta zona, además de encontrarse una disminución notable en los niveles de infestación de la HL, se registraron 28 morfoespecies de hormigas.
- Entre la hormiga loca y *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae) se encontró competición interespecífica, en donde una relación de exclusión determina un importante factor de regulación mutua.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la profesora Inge Armbrrecht de la

Universidad del Valle, por sus valiosos aportes; a Álvaro Urresti, Orlando Rojas y Fernando Rosero, por el apoyo en las actividades de campo y laboratorio; a las familias residentes de La Trozada por su hospitalidad; al Ing. Efrén Salcedo del programa de manejo de humedales de la corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca, por su colaboración y al proyecto de manejo integrado de la hormiga loca de COLCIENCIAS y CENICAÑA por la financiación de la investigación.

Literatura citada

- ALDANA, R. C.; BAENA, M. L.; CHACÓN DE ULLOA, P. 1995. Introducción de la hormiga loca (*Paratrechina fulva*) a la reserva natural laguna de Sonso (Valle del Cauca, Colombia) Boletín Museo Entomológico de la Universidad del Valle 3 (1): 15-28.
- ARAGÓN, C. X.; LIBREROS, S. M. 2002. Estudio ambiental de la madreveja La Trozada. Municipio de Guadalupe de Buga. Universidad Central del Valle del Cauca. Facultad de Ingeniería. Programa de ingeniería ambiental y recursos naturales. Trabajo de Grado. Tuluá. 187 p.
- ARCILA, A.; GÓMEZ, L. A.; CHACÓN DE ULLOA, P. 2000. Ciclo de vida de la hormiga loca *Paratrechina fulva* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) y demografía de colonias en condiciones de laboratorio. Informe final COLCIENCIAS-CENICAÑA. Cali. 11 p.
- BRIANO, J. A.; PATTERSON, R. S.; CORDO, H. A. 1995. Long-term studies of the black imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) infected with a microsporidium. *Environmental Entomologist* 24 (5): 1328-1332.
- CHACÓN DE ULLOA, P.; BUSTOS, J.; ALDANA, R. C. 1996. Informe final resumido: programa de control, monitoreo, capacitación y divulgación de la hormiga loca en la Reserva Natural Laguna de Sonso. Informe a la CVC. Cali. 10 p.
- GÓMEZ, L. A. 1999. Segundo informe anual: manejo integrado de la hormiga loca *Paratrechina fulva*. Informe COLCIENCIAS-CENICAÑA. Cali. 33 p.
- GÓMEZ, L. A. 2001. Cuarto informe anual: manejo integrado de la hormiga loca *Paratrechina fulva*. Informe COLCIENCIAS-CENICAÑA. Cali. p. 7-23.
- GÓMEZ, L. A.; LASTRA, L. A. 1997. Avances en el manejo de la hormiga loca, *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae) en el cultivo de la caña de azúcar. IV Congreso Colombiano de la Asociación de Técnicos de la Caña de Azúcar. TECNICAÑA. Memorias Tomo I. p. 32-41. Cali 24-26 de sept.
- GÓMEZ, L. A.; LÓPEZ DE PULIDO, C. 1995. Determinación de un método de muestreo para la hormiga loca en caña de azúcar. *Revista Colombiana de Entomología* 21 (3): 105-110.
- GONZÁLEZ, V. E. 2002. Observaciones del ciclo biológico del ácaro *Macrodynechus sellnicki*, ectoparásitoide de la hormiga loca *Paratrechina fulva* (Hymenoptera: Formicidae). Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 103 p.

- HERNÁNDEZ, P.; MARTÍNEZ, Y.; INSUASTY, O.; GÓMEZ, L. A.; CAMACHO, J. A.; MANRIQUE, R. 2002. Efecto del control de malezas y la fertilización sobre la población de la hormiga loca, *Paratrechina fulva* en caña panelera en la hoya del río Suárez (Santander). *Revista Colombiana de Entomología* 28 (1): 83-90.
- HÖLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. The ants. The Belknap press of Harvard University press, Cambridge, Mass. 732 p.
- JAFFE, K. 1993. El mundo de las hormigas. Equinoccio, ediciones de la Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela. 187 p.
- LASTRA, L. A.; GÓMEZ, L. A. 2000. Efecto de la cosecha en verde sobre los insectos asociados con la caña de azúcar. Cali, CENICAÑA, 2000. 12 p. (Documento de trabajo No. 467)
- LONGINO, J. T. 1999. Ectoninae of La Selva biological station web site. <http://www.evergreen.edu/ants/genera/ecitoninae> Fecha de última revisión: 10 de noviembre de 2001. Fecha de último acceso: 5 de marzo de 2002.
- MAJER, J. D.; DELABIE, J. H. C.; SMITH, M. 1994. Arboreal ant community patterns in Brazilian cocoa farms. *Biotropica* 26 (1): 73-83.
- MAS, A. H. 1999. Butterflies as biodiversity indicators and shade coffee certification in Chiapas, México. Thesis for degree of master of Science (Natural Resources and Environment) in the University of Michigan.
- PECK, S. L.; MACQUAID, B.; CAMPBELL, C. L. 1998. using ant species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicator of agroecosystem condition. *Environmental Entomology* 27 (5): 1102-1110.
- PORTER, S. D. 2000. Host specificity and risk assessment of releasing the decapitating fly *Pseudacteon curvatus* as a classical biocontrol agent for imported fire ants. *Biological Control* 19: 35-47.
- SILVERMAN, J.; NSIMBA, B. 2000. Soil free collection of argentine ants (Hymenoptera: Formicidae) based on food-directed brood and queen movement. *Florida Entomologist* 83 (1): 10-16.
- VANDERWODE, C.; LOBRY DE BRUIN, L. A.; HOUSE, P. N. 2000. response of an open-forest ant community to invasion by the introduced ant, *Pheidole megacephala*. *Austral Ecology* 25: 253-259.
- ZENNER, I. 1992. Aspectos biológicos y de manejo de la hormiga loca. *Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología: en Seminario: Hormigas: características, daños y manejo*. Bogotá. p 32-41.

Recibido: Abr. 22 / 2003
Aceptado: Nov. 04 / 2003

Los himenópteros asociados a una parcela agroforestal de *Borojoa patinoi*, *Cedrela odorata*, *Apeiba aspera* e *Inga spectabilis* en la granja de la Universidad del Chocó, municipio de Lloró, Chocó

The hymenopterans associated with an agroforestry plot of *Borojoa patinoi*, *Cedrela odorata*, *Apeiba aspera* and *Inga spectabilis* at the farm of the University of Chocó, municipality of Lloró, Chocó

JHON CÉSAR NEITA M.¹, HERNÁN CORTÉS V.², ALEJANDRO MADRIGAL C.³

Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 233-239 (2004)

Resumen. La investigación se efectuó en la granja de la Universidad Tecnológica del Chocó, municipio de Lloró, a 90 msnm y 24°C. Se realizaron muestreos durante 12 meses, mediante recorridos periódicos en cada una de las especies vegetales; se capturaron en forma directa los insectos presentes en las estructuras de las plantas. Se comparó la diversidad de himenópteros en el componente agrícola y forestal; además, se realizó la caracterización trófica de himenópteros en la parcela. Se identificaron 40 especies, distribuidas en 8 familias, con 57,5% perteneciente a la familia Formicidae, seguida de Apidae con 17,5%, Ichneumonidae con 10% y Vespidae con 5%; el 10% restante compartido por Argidae, Braconidae, Mymaridae y Pompilidae. *Borojoa patinoi* registró la mayor diversidad y *Apeiba aspera* la menor. El 44,4% de las especies son comunes en los cuatro componentes vegetales. En el grupo de los fitófagos, los lamedores de néctar y los polinófagos fueron los más representativos con 17,5% cada uno. En los entomófagos predominaron los depredadores con 32,5%. La abundancia de los insectos estuvo relacionada con la fenología de las especies vegetales presentes en la parcela; es así como *B. patinoi*, *Cedrela odorata* e *Inga spectabilis* comparten los períodos de rebrote y floración entre abril y mayo cuando la abundancia de himenópteros, así como la de sus enemigos naturales, es la más alta. Las especies más abundantes fueron *Eulaema meriana*, *Lestrimelitta limao* (primeros registros para el Chocó) y *Sericomyrmex* sp. (primer registro del género para el Chocó). Igualmente, se identificó una especie de interés económico, *Atta cephalotes*, debido al daño que causa en frutos de *B. patinoi*.

Palabras clave: Diversidad. Entomófagos. Fitófagos. Componentes vegetales. Frecuencia.

Summary. This research was conducted on the farm of the "Universidad Technological del Chocó", municipality of Lloró, 90 elev. and 24°C. Surveys were conducted over twelve months by periodically sampling each of the plant species selected; insects were directly captured from plant structures. The diversity of hymenopterans between forest and agricultural components was compared; in addition, the trophic groups for hymenopterans from each parcel were established. Forty species were identified, distributed in 8 families, with 57,5% of the species belonging to the family Formicidae; followed by Apidae with 17,5%, Ichneumonidae with 10% and Vespidae with 5%; the remaining 10% belonged to Argidae, Braconidae, Mymaridae and Pompilidae. *Borojoa patinoi* had the highest diversity of Hymenoptera and *Apeiba aspera* the lowest. About 44,4% of the insect species were common to all four plant components. Among the phytophagous insects, nectar and pollen feeders were the most representative with 17,5% each. Among the entomophagous insects, predators predominated with 32,5%. Abundance of the insects was associated with the phenology of the plant species in the parcel. *B. patinoi*, *Cedrela odorata* and *Inga spectabilis* shared the same periods of regrowth and flowering between April and May, when the abundance of Hymenoptera and their natural enemies was highest. The most abundant species were *Eulaema meriana*, *Lestrimelitta limao* (first reports for Chocó) and *Sericomyrmex* sp. (first report of the genus for Chocó). One economically important species, *Atta cephalotes*, was identified because of its damage to *B. patinoi* fruits.

Key words: Diversity. Entomophages. Phytophages. Vegetative components. Frequency.

Introducción

El hombre del trópico, en su búsqueda por aumentar la producción agropecuaria, ha modificado su entorno, originando con ello ciertos cambios tales como, disminución en la biodiversidad por la deforestación, eliminación de la fauna autóctona, extinción de

corrientes de agua, disminución de la productividad agrícola, erosión de los suelos y migraciones indeseadas. Estas actividades antrópicas afectan la dinámica de los bosques naturales tropicales; razón por la cual hoy en día, para mitigar todo el daño que se ha venido haciendo a los ecosistemas naturales, los científicos han desarrollado y

enriquecido un conjunto de prácticas y manejo de sistemas mixtos, donde de manera programada se mezclan especies leñosas de uso múltiple y se asocian en un mismo terreno de forma secuencial o simultánea, cultivos agrícolas y animales, conocido este tipo de prácticas como sistemas agroforestales (Montanini 1992).

1 Autor para correspondencia: I. A. F. Universidad Tecnológica del Chocó. Grupo de Zoología. Quibdó, Laboratorio de Zoología, área de Entomología. Teléfono: 6711478 Ciudadela Universitaria. Barrio Nicolás Medrano. E-mail: jneita@starmedia.com

2 I. A. Universidad Tecnológica del Chocó. Facultad de Ingeniería – Programa de Ingeniería Agroforestal. Quibdó.

3 I. A. Entomólogo. Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. E-mail: amadriga@perseus.unalmed.edu.co

Los sistemas agroforestales surgen como una alternativa para las regiones tropicales de América Latina, que presentan limitaciones para el uso intensivo de la tierra con sistemas avanzados mecanizados, puesto que gran parte de la población está ubicada en zonas de ladera, las cuales presentan susceptibilidad a la erosión y degradación de los recursos si se emplean masivamente en sistemas de monocultivo o de ganadería. Situación similar ocurre en las tierras bajas tropicales, en donde domina una densa y exuberante capa boscosa, la cual es muy vulnerable y también presenta severas limitaciones para el establecimiento intensivo de sistemas tradicionales de producción agropecuaria. Los sistemas agroforestales tienen su origen en épocas muy remotas, pues antes de la llegada de los españoles a América, los indígenas desarrollaron este tipo de prácticas basadas en la tumba y quema del bosque y en el posterior establecimiento en una misma parcela de amplia variedad de cultivos anuales y árboles permanentes. Varias de estas asociaciones agroforestales prehispánicas han llegado hasta nuestros días siendo heredados por las comunidades indígenas actuales, que las conservan como su modo de producción (Vélez 1995).

En Colombia, estos sistemas productivos o agroforestales, son comunes en las selvas de la Amazonia, en áreas de bosque de la Orinoquia, en la región Pacífica, en algunas áreas boscosas interandinas y la Sierra Nevada de Santa Marta; actualmente, se vienen desarrollando en la costa Atlántica como alternativa para mitigar el impacto sobre los ecosistemas naturales de bosque seco tropical.

Entre los insectos, los himenópteros constituyen un grupo importante en la dinámica de estos agroecosistemas, pues con una historia evolutiva muy larga y la capacidad de adaptación a diferentes hábitats, se ubican como uno de los órdenes hiperdiversos en la clase hexápoda. En la actualidad se conocen entre 120.000 y 200.000 especies de himenópteros, pero recientes estimaciones apuntan a que su diversidad real es probablemente mucho mayor (del orden de 250.000 a 500.000 especies) rivalizando con la de coleópteros el puesto de grupo más diverso de insectos (Gastón 1991; La Salle y Gauld 1993; Gauld y Hanson 1995a; Gastón *et al.* 1996; Fernández 2000). Esta suposición se apoya en el hecho de que alguna de las superfamilias con mayor número de especies, integrada por los parasitoides de tamaño muy pequeño, están aún muy deficientemente estudiadas, especialmente en las zonas tropicales donde se cree que su diversidad potencial es muy alta (Fernández 2000).

Los himenópteros no sólo se destacan por su gran riqueza de especies, sino también por su extraordinaria diversidad de modos de vida que van desde la fitofagia a la depredación y el parasitismo o la inducción de agallas y desde el comportamien-

to solitario hasta el mutualismo o la formación de sociedades complejas. En cuanto al aspecto económico su importancia para el hombre supera la de cualquier otro grupo de insectos. Algunas facetas de interés en este sentido, son la polinización de plantas cultivadas, el control biológico por parte de los himenópteros parasitoides de plagas agrícolas y forestales y la producción de bienes comerciales como la miel y la cera (LaSalle y Gauld 1993), por lo cual, este grupo es fundamental en la dinámica de estos sistemas productivos del pacífico colombiano. Los objetivos del estudio consistieron en identificar la fauna de himenópteros asociada a la parcela agroforestal, conocer las relaciones entre ellos y el componente vegetal y establecer la variación mensual de los himenópteros en la parcela.

Materiales y Métodos

La granja de la Universidad Tecnológica del Chocó se encuentra ubicada en el municipio de Lloró-Chocó (5°30,52'57"N, 76°33.33'15"O); sobre los 90 msnm, con una humedad relativa del 86%, una precipitación anual de 10.851 mm y una temperatura de 24°C; se ubica en la zona de vida de bosque pluvial tropical "bp-T" (Espinal 1977); es considerada como la región más lluviosa de la porción central de la llanura del Pacífico (Hans 1988).

La parcela está compuesta por 4 especies vegetales con un total de 202 individuos, distribuidos de la siguiente manera: 77,77% de *Borojoa patinoi* Cuatrecasas, 6,90% de *Cedrela odorata* L., 6,13% de *Apeiba aspera* Aubl y 9,20% de *Inga spectabilis* Willd, con dos estratos bien diferenciados, uno inferior dominado por *B. patinoi* y uno superior ocupado por las 3 especies de estructura arbórea. Por tales características, esta asociación corresponde a un sistema simultáneo, de tecnología agro-silvícola y el tipo de arreglo presente es de árboles permanentes sobre cultivos permanentes, con una extensión de 7.946,35 m².

Una vez realizado el inventario de las especies vegetales en la asociación, se seleccionaron al azar 14 individuos y se marcaron. Estos árboles se muestrearon cada 15 días durante los meses de noviembre de 1988 a octubre de 1999. Las capturas de los himenópteros se llevaron a cabo en cada una de las estructuras, tanto vegetativas como reproductivas de las plantas, a través de recorridos y colección, mediante método manual con el fin de establecer la relación planta-insecto, predador-presa, parasitoide-hospedero. El muestreo se complementó con anotaciones sobre el comportamiento de algunos himenópteros.

Las especies de himenópteros se separaron de acuerdo con la especie vegetal, el individuo y el muestreo realizado, así como con los datos de captura, con el fin de estandarizar los datos para su análisis estadístico posterior. Los individuos adultos se conservaron en alcohol al 70% y los

estados inmaduros se colocaron en cajas de Petri sobre el sustrato en el cual fueron capturados, con el fin de obtener los adultos para su identificación. Éstos se transportaron al laboratorio de zoología de la Universidad Tecnológica del Chocó, donde se les realizó el seguimiento.

El montaje y rotulación del material se realizó de acuerdo con Borror *et al.* (1981) y el método usado en el Museo Entomológico "Francisco Luis Gallego" de la Universidad Nacional de Colombia- sede Medellín y el Museo de Historia Natural - Colección de Entomología de la Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luis Córdoba".

Para la identificación taxonómica de los himenópteros se utilizaron claves desarrolladas por los diferentes especialistas de cada grupo como Fernández (1991, 1993, 2002), Gauld y Hanson (1995a, 1995b, 1995c, 1995d), Goulet y Huber (1993), Hölldobler y Wilson (1990), Hanson y Gauld (1995), Mackay (1993a), Mackay y Mackay (1986, 1989), Masner y Dessart (1967), Palacio (1999), Richards (1977), Sharkey y Wahl (1992), Serna (1999). Así mismo, se contó con la colaboración de especialistas nacionales e internacionales como Francisco Javier Serna, Alan Henry Smith, Paul Hanson y Carolina Godoy.

Para el análisis estadístico se consideró la frecuencia de captura de los himenópteros y no el número absoluto de individuos colectados, debido a que este número varía según la especie (Hölldobler y Wilson 1990).

Con el fin de comparar la diversidad de himenópteros en cada una de las especies vegetales en la parcela y entre los individuos de una misma especie se utilizó el índice de diversidad de Shanon-Weaver (Ludwing y Reynolds 1988).

El tratamiento de la medida de diversidad se realizó mediante un análisis de varianza, donde la variable de respuesta está en los diferentes componentes vegetales presentes en la parcela objeto de estudio. Se utilizó una prueba de comparación múltiple Tukey ($\alpha=0,05$), para observar si hay diferencias significativas entre las especies de plantas asociadas (Steel y Torrie 1980).

Para conocer la similitud de los himenópteros asociados a los componentes, se utilizó el índice de Jaccard, el cual está basado en la presencia de especies, representando éste el valor porcentual de las ocurrencias simultáneas respecto al total de especies y su oscilación respecto a un límite superior (1) e inferior (0), a partir del cual se obtuvo una matriz y posteriormente un dendrograma de afinidad (Ramírez 1999).

En cada mes se tomó la frecuencia de ocurrencia, es decir, la presencia de las especies de himenópteros por muestreo en cada una de las especies e individuos de las plantas asociadas, obteniendo un registro de

12 muestras correspondientes al 100% de la frecuencia. Para determinar si existían diferencias entre los meses se realizó una prueba de Chi Cuadrado.

Resultados

Análisis de la fauna de himenópteros en la parcela agroforestal

Se identificaron 40 especies, distribuidas en 8 familias, así: familia Formicidae representada por el 57,5%, seguida de Apidae con 17,5%, Ichneumonidae con 10%, Vespidae con 5% y el 10% restante compartido por las familias Argidae, Braconidae, Mymaridae y Pompilidae con una especie cada uno (Tabla 1).

En la familia Formicidae, se identificaron 23 especies, agrupadas en 6 subfamilias y 15 géneros. El 30,43% de los géneros pertenece a Myrmicinae, seguida de Ponerinae con 26,08% y el 43,49% restante compartido por Ectitoninae, Dolichoderinae, Formicinae y Pseudomyrmecinae (Fig. 1).

La subfamilia Myrmicinae presentó el número mayor de géneros con un total de 6, *Acromyrmex*, *Atta*, *Cephalotes*, *Crematogaster*, *Solenopsis* y *Sericomyrmex*, siendo *Atta* el género con la mayor cantidad de especies (28,57%), mientras que los demás estuvieron representados por una sola especie. De la subfamilia Ponerinae, la segunda mejor representada en la parcela, se encontraron 4 géneros: *Ectatomma*, *Pachycondyla*, *Odontomachus* y *Paraponera*, siendo *Ectatomma* y *Pachycondyla* los de la mayor riqueza con 33,33% de especies cada uno.

En la familia Apidae se identificaron 7 especies de 2 subfamilias, ubicándose como la familia con el segundo porcentaje de representación en la parcela. El 57,14% de las especies pertenecen a la tribu Meliponini y el 42,86% a Euglossini; en los meliponinos el género *Trigona* presentó tres especies y *Lestrimelitta* una especie, mientras en los euglosinos, *Eulaema* dos especies y *Euglossa* una.

En la familia Ichneumonidae, la subfamilia Orthocentrinae con 50% de las especies fue la más representativa, mientras Cryptinae e Ichneumoninae fueron las menos abundantes y poco diversas.

La familia Vespidae estuvo representada sólo por la subfamilia Polistinae con 2 géneros, *Polybia* y *Polistes* con una especie cada uno; las demás familias Argidae, Braconidae, Mymaridae y Pompilidae con una especie cada una.

El género *Sericomyrmex* Mayr, y las especies *Eulaema meriana* Oliver y *Lestrimelitta limao* Smith son nuevos registros para el departamento del Chocó. Las especies *Camponotus* sp., *Dolichoderus* sp., *Euglossa* sp., *Eulaema cingulata* F. y *Eciton hamatum* F. son nuevos registros para la cuenca fluvial del Atrato (Fernández 1995).

Comparación de los himenópteros asociados a las especies vegetales en la parcela agroforestal

Borojoa patinoi presentó la mayor diversidad y riqueza de insectos en la parcela, se-

guida por *Inga spectabilis* y la menor la tuvo *Apeiba aspera*. Habiéndose calculado el índice de diversidad de Shannon-Weaver y una vez confirmado la distribución normal de la diversidad y la homogeneidad de las variables, se realizó una ANOVA de doble

Tabla 1. Himenópteros asociados a la parcela agroforestal

Familia	Especies	Borojó	Guamo	Cedro	Peine Mono
BRACONIDAE	sp. 1				
APIDAE	<i>Euglossa</i> sp.	X			
	<i>Eulaema meriana</i> Olivier	X			
	<i>Eulaema cingulata</i> Fabricius	X			
	<i>Lestrimelitta limao</i> Smith			X	
	<i>Trigona</i> sp.	X			
ARGIDAE	<i>Trigona</i> sp.	X			
	<i>Trigona</i> sp.	X			
	sp.	X			
FORMICIDAE	<i>Atta cephalotes</i> L.	X			X
	<i>Atta colombica</i> Guérin		X	X	X
	<i>Acromyrmex octospinosus</i> Reich		X		
	<i>Azteca</i> sp.	X			X
	<i>Camponotus</i> sp.	X			
	<i>Camponotus</i> sp.	X	X		
	<i>Camponotus</i> sp.	X			
	<i>Cephalotes atratus</i> L.		X		
	<i>Dolichoderus</i> sp.	X			
	<i>Dolichoderus</i> sp.	X			
	<i>Dolichoderus bispinosus</i> Olivier	X	X	X	
	<i>Odontomachus</i> sp.		X	X	X
	<i>Pachycondyla</i> sp.		X	X	
	<i>Pachycondyla</i> sp.		X	X	X
	<i>Pseudomyrmex</i> sp.			X	X
	<i>Paraponera clavata</i> Fabricius	X			
	<i>Sericomyrmex</i> sp.	X			
	<i>Eciton burchelli</i> Westwood	X	X	X	X
	<i>Eciton hamatum</i> Fabricius	X	X	X	
	<i>Ectatoma ruidum</i> Roger		X		
	<i>Ectatoma tuberculatum</i> Roger		X	X	
	<i>Solenopsis</i> sp.	X	X	X	X
	<i>Crematogaster</i> sp.		X	X	
ICHNEUMONIDAE	sp.	X			
	sp.	X			
	sp.	X			
	sp.	X			
MYMARIDAE	sp.	X			
POMPILIDAE	<i>Pepsis</i> sp.			X	
VESPIDAE	<i>Polybia rejecta</i> Fabricius	X			
	<i>Polistes carnifex carnifex</i> Fabricius	X			

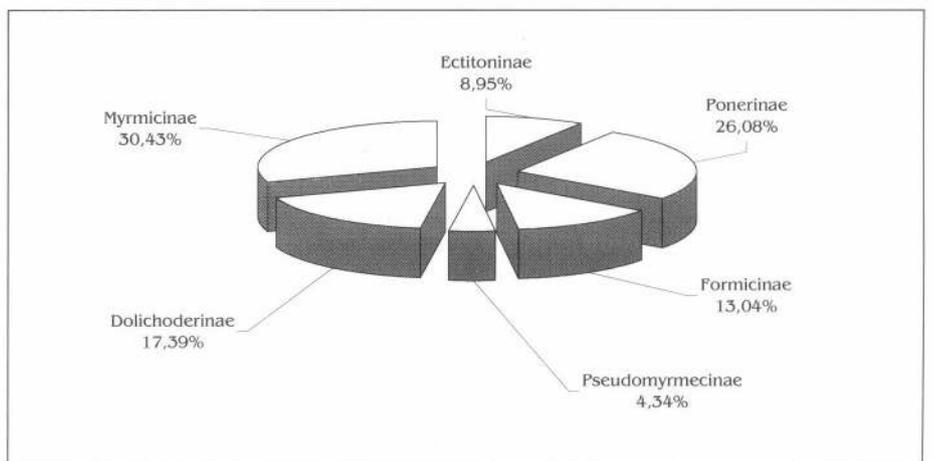


Figura 1. Composición de la familia Formicidae en la parcela agroforestal.

vía (Aldana y Chacón 1999), donde se encontró diferencia significativa en las especies vegetales de la parcela ($F = 0,05$, $p = 0,95$). El análisis de comparación múltiple (Prueba de Tukey), indicó que sólo las especies *Inga spectabilis* y *Cedrela odorata* no muestran entre sí diferencia significativa (Tabla 2).

En cuanto a la afinidad de los himenópteros asociados a las especies vegetales, se encontró que *C. odorata* e *I. spectabilis* comparten el 77% de los himenópteros, seguida por *A. aspera* y *B. patinoi* con 65,8%. La afinidad más baja se presentó entre las especies *A. aspera* y *C. odorata* con 33,33% e *I. spectabilis* y *A. aspera* con 34,3%; tan sólo el 44,46% de los himenópteros se encuentran asociados a los cuatro componentes vegetales asociados en la parcela (Fig. 2).

En relación con la composición trófica de la fauna de himenópteros, los entomófagos y fitófagos tuvieron igual representividad, ambos con 45%. En los entomófagos, los depredadores fue el grupo mejor representado, seguido por los parasitoides; mientras que en los fitófagos, los lamedores de néctar y palinófagos fueron los más abundantes, seguidos por los cortadores de hojas. Otros grupos de importancia en la parcela fueron los saprófagos, micófagos, necrófagos y parásitos (Fig. 3).

Variación de la fauna de himenópteros en los meses de muestreo en la parcela agroforestal

La frecuencia de himenópteros en la parcela agroforestal varió en cada una de las especies vegetales asociadas. Se presentaron algunas variaciones en la ocurrencia de los himenópteros, con diferencia significativa en la especie *C. odorata* $X^2 = 30,38$ ($DF = 11$; $X^2 0,99 > P(X^2 = 30,38) > X^2 = 0,90$); y la no existencia de tal diferencia en los otros componentes; es decir, *I. spectabilis* $X^2 = 15,07$ ($DF = 11$; $X^2 0,99 < P(X^2 = 15,07) < X^2 = 0,90$), *A. aspera* $X^2 = 4,17$ ($DF = 11$; $X^2 0,99 < P(X^2 = 4,17) < X^2 = 0,90$ y *B.*

Tabla 2. Diversidad de Shannon-Weaver para los himenópteros asociados al componente vegetal en la asociación agroforestal

	Borojó	Guamo	Cedro	Peine mono
H' (t-prueba T)	3,05	2,18	2,12	1,92
Borojó		0,867*	0,926*	1,12*
Guamo			-0,058	0,257*
Cedro				0,199*

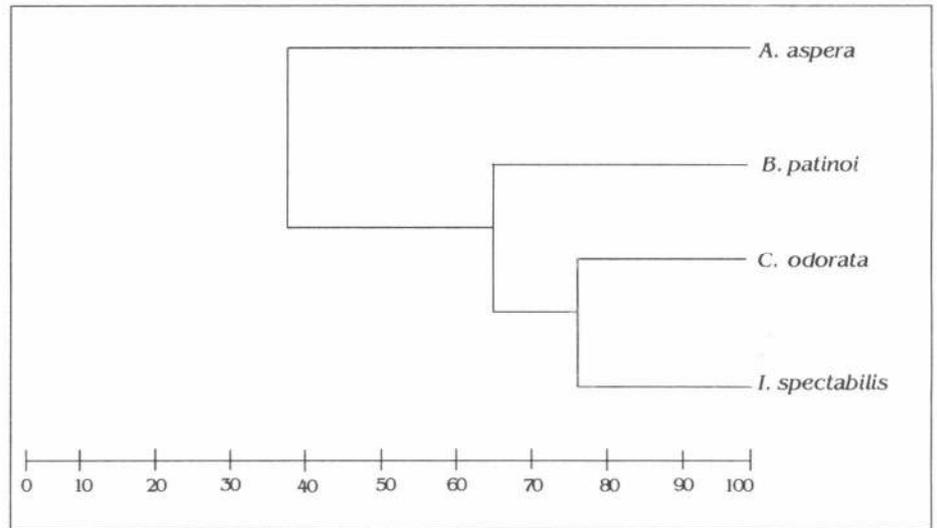


Figura 2. Dendrograma de afinidad de los himenópteros en las especies vegetales presentes en la asociación.

patinoi $X^2 = 21,64$ ($DF = 11$; $X^2 0,99 < P(X^2 = 21,64) < X^2 = 0,975$).

La mayor frecuencia de himenópteros corresponde a los meses de marzo a junio, época en la cual las especies vegetales muestran rebrotes de hojas, producción de frutos y flores, en especial *C. odorata*, *A. aspera* y *B. patinoi*, mientras que *I. spectabilis* aunque no presenta floración ni fructificación coincide con el rebrote foliar; siendo estos meses los de mayor precipitación. En este período la mayor

frecuencia de los himenópteros está representada por las especies de hormigas como *Atta colombica*, *Dolichoderus* complejo *bispinosus*, *Odontomachus* sp., *Pachycondyla* sp., *Pachycondyla* sp., *Paraponera clavata*, *Solenopsis* sp., *Sericomyrmex* sp., *Azteca* sp., de igual forma las abejas *Eulaema cingulata*, *Eulaema meriana*, *Euglossa* sp., *Trigona* sp., *Trigona* sp., *Trigona* sp. y las avispas *Polybia rejeta* y *Polistes carnifex carnifex* y parasitoides de las familias Ichneumonidae, Mymaridae y Braconidae (Fig. 4a).

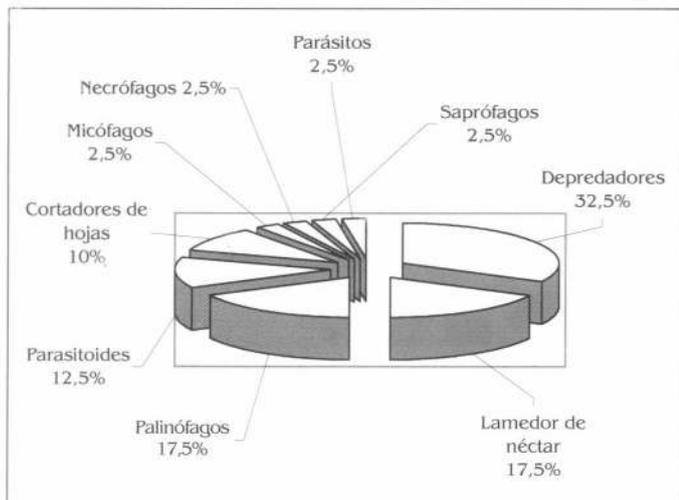


Figura 3. Diversidad trófica de los himenópteros asociados a la parcela agroforestal.

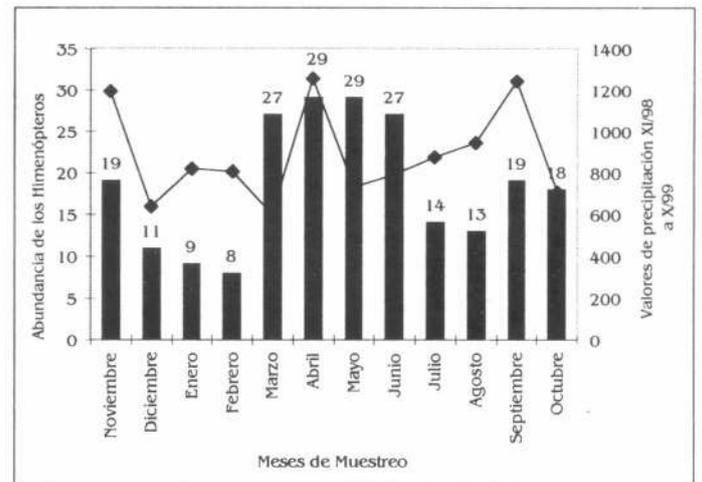


Figura 4a. Frecuencia de los himenópteros en la parcela agroforestal de *Borojoa patinoi* C., *Cedrela odorata* L., *Apeiba aspera* A. e *Inga spectabilis* W.

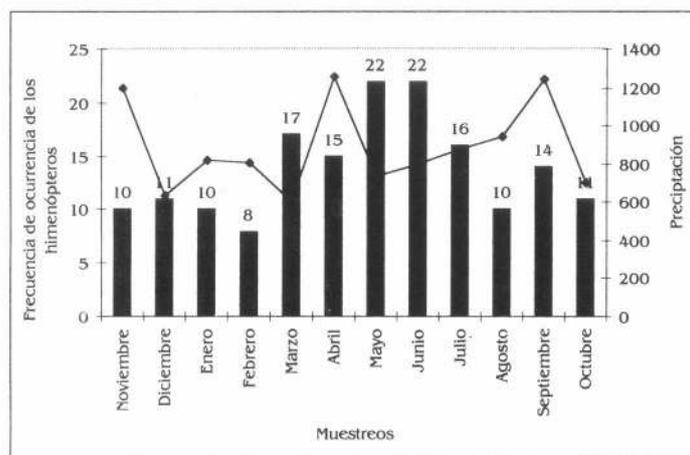


Figura 4b. Frecuencia de los himenópteros en *Borojoa patinoi*.

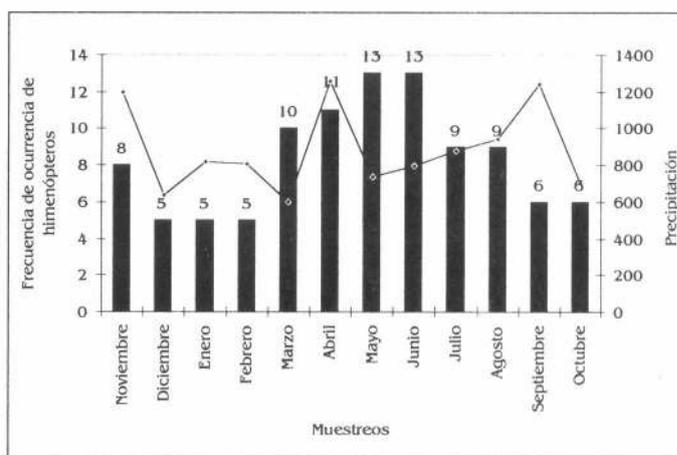


Figura 4c. Frecuencia de los himenópteros en *Inga spectabilis*.

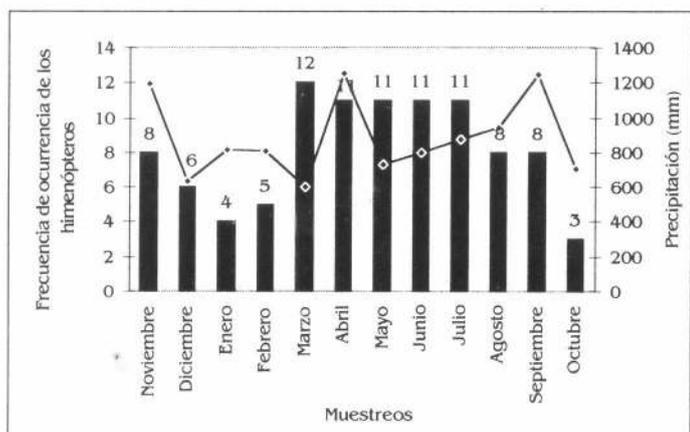


Figura 4d. Frecuencia de himenópteros en *Cedrela odorata*.

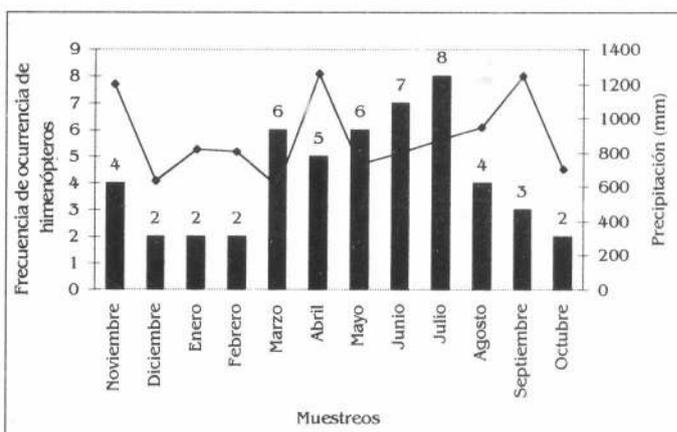


Figura 4e. Frecuencia de himenópteros en *Apeiba aspera*.

En *B. patinoi*, las especies más frecuentes fueron *Dolichoderus* complejo *bispinosus*, *Paraponera clavata*, comunes en todos los meses de muestreo; existen especies exclusivas de éste como *Eulaema cingulata*, *Eulaema meriana*, *Euglossa* sp.1, *Trigona* sp., *Trigona* sp., *Trigona* sp., y *Atta cephalotes*, *Camponotus* sp., *Dolichoderus* sp., *Dolichoderus* sp., *Sericomyrmex* sp. y otros como *Polybia rejeata* y *Polistes carnifex* y una especie de icneumonídeos y braconídeos, respectivamente (Fig. 4b).

En *I. spectabilis*, las especies más frecuentes fueron *Cephalotes atratus*, *Dolichoderus* complejo *bispinosus*, colectándose en todos los muestreos, poseyendo a su vez especies muy exclusivas como *Cephalotes atratus* y *Pepsis* sp. (Fig. 4c).

En *C. odorata*, las especies más frecuentes fueron *Ectatomma tuberculatum*, *Paraponera clavata*, *Dolichoderus* complejo *bispinosus*, las cuales se estuvieron durante todo el periodo de estudio (Fig. 4d).

En *A. aspera*, de las 8 especies de himenópteros asociadas, la mayor frecuencia la presentó *Azteca* sp., la cual fue común durante todo el muestreo (Fig. 4e).

De las especies de himenópteros asociados a la parcela agroforestal, la especie más dañina fue *Atta cephalotes*, por cortar el epicarpio y el mesocarpio de *B. patinoi*.

Discusión

De los himenópteros asociados a la parcela agroforestal, las hormigas (Formicidae) fueron las más abundantes y con mayor número de especies. Se ha estimado que en los trópicos estos organismos representan la mitad o una tercera parte de la biomasa de insectos (Way y Khoo 1992). Debido a esta abundancia, estabilidad en el espacio y en el tiempo, sumado a sus hábitos alimentarios, generalmente omnívoros, las hormigas tienen una importante influencia en muchos hábitats (Hölldobler y Wilson 1990); es por ello la importancia en la dinámica de los agroecosistemas tropicales del pacífico Colombiano.

Se colectaron 6 de las 8 subfamilias de hormigas registradas para el trópico, esto se debe a la presencia de una gran diversidad de nichos, originados por la estratificación en los policultivos de estructura arbórea presente en esta asociación, sien-

do similar en muchos aspectos ecológicos a los ecosistemas naturales.

Otra familia de importancia en la parcela fue Apidae, la cual estuvo representada por 7 especies, siendo algunas de ellas muy exclusivas de algunos componentes vegetales en la parcela.

La abundancia de Ichneumonidae en la parcela obedeció principalmente a la abundante presencia de hospederos para sus estados inmaduros, los cuales se encontraban asociados a partes reproductivas y vegetativas de los componentes vegetales de la parcela.

B. patinoi, a pesar de ser el único componente agrícola en la parcela, presentó la mayor diversidad y riqueza de himenópteros, debido a la presencia de estas especies en los estratos medio e inferior de la parcela, los cuales presentan variaciones microclimáticas que favorecen una mayor presencia de nichos y por ende la mayor abundancia de insectos.

Otro aspecto fundamental fue la presencia en el tiempo y el espacio de los órganos tanto reproductivos como vegetativos de

esta planta, lo que contribuye a mejorar las actividades antes mencionadas, así la exclusividad de algunos himenópteros como: *Euglossa* sp., *Eulaema cingulata* y *Eulaema mariana*, los cuales se encuentran asociados a la flor macho y hembra de *Borojoa patinoi*, como también las especies pertenecientes al género *Trigona* asociadas a receptáculos y cáliz de la flor macho de esta misma planta.

Por otro lado, la baja diversidad de *A. aspera* obedece a la poca apetencia de los fitófagos por esta especie, salvo *Atta colombica* que consume sus hojas durante el rebrote, no encontrándose otro tipo de relación fitófagica con otros himenópteros, pero, sin embargo, sirve como hospedero de otros insectos que son depredados y parasitados por algunas especies de la himenóptero-fauna, aunque poco abundante y diversa.

La estratificación vertical de la parcela permitió identificar la presencia de 3 estratos, los que a su vez, dejaron que los himenópteros se distribuyeran en ellos, dada la variabilidad de microclimas, aproximación física y mayor cantidad de nichos. Por estas razones, la similitud en la parcela es baja, siendo más alta en las especies de porte arbóreo que comparten el estrato superior de la parcela como *C. odorata* e *I. spectabilis*, que no presentan diferencia significativa en cuanto a su diversidad. De otro lado, la menor afinidad de *A. aspera* con otros componentes vegetales asociados se debe posiblemente a que ella se encontró ubicada en la parte noreste de la parcela actuando como cortina rompeviento, sitio en el que tuvo una mayor aproximación física con el componente agrícola *B. patinoi*, situación que puede explicar su afinidad alta con esta especie y su afinidad baja por la poca dispersión de manera fortuita en el área con relación a las otras especies forestales, a pesar de ser ella de porte arbóreo.

En la diversidad trófica de la himenópteros en la parcela, los entomófagos fueron los más representativos sobresaliendo los depredadores conformados especialmente por hormigas pertenecientes a los géneros *Pseudomyrmex*, *Pachycondyla*, *Odontomachus*, *Ectatomma*, *Eciton* y *Paraponera* y las avispas *Polybia*, *Polistes* y *Pepsis*; en el caso de los primeros, es decir, las hormigas su depredación se dio sobre larvas de Pyralidae (Lepidoptera) y Curculionidae (Coleoptera), que se encontraban barrenado el fuste del *I. spectabilis*. Otra presa la constituyó *Nasituterms* sp. (Isoptera: Termitidae), la cual construye su nido en la corteza de *A. aspera*; el segundo caso corresponde a las avispas, pues su actividad entomofágica se dio sobre larvas de Pyralidae, comedoras de hojas de *B. patinoi* y estados inmaduros de Cicadellidae (Heteroptera) en fuste de *A. aspera* y arañas en bifurcaciones del componente arbóreo.

En los parasitoides se encontraron especies de braconídeos, icneumonídeos y

mimáridos parasitando las larvas de Noctuidae encontradas en galerías de *Nasituterms* sp., así como de algunos Pyralidae barrenadores de frutos de *A. aspera*.

En el caso de los fitófagos, el grupo de los lamedores de néctar y palinófagos fueron los más representativos siendo abundantes para el primer caso, hormigas del género *Camponotus*, *Dolichoderus*, *Solenopsis* debido a la constante presencia en diferentes estados de desarrollo del fruto de *B. patinoi*, el cual concentra gran cantidad de néctar en su parte inferior (el receptáculo), por espacio de 7 meses aproximadamente; el segundo grupo estuvo conformado por los géneros *Eulaema*, *Euglossa* y *Trigona* los cuales se observaron alimentándose en flores masculinas y femeninas de *B. patinoi*.

Las especies cortadoras de hojas tuvieron su mayor representación en el género *Atta* con dos especies, mientras que *Acromyrmex* y *Sericomyrmex* tuvieron una especie cada una. Se encontraron preferencias por las estructuras vegetativas y reproductivas de *C. odorata*, *A. aspera* e *I. spectabilis*, así *Atta colombica* y *A. cephalotes* forrajearon los frutos de *B. patinoi* y hojas en diferentes estados de desarrollo en algunas plantas aisladas, las cuales coincidieron con poco sombrero por parte del componente arbóreo. En el caso de *Sericomyrmex* su forrajeo fue exclusivo en pétalos y cáliz de *B. patinoi*.

Otro grupo importante lo constituyen los Arguidos, *Azteca* sp. y *Dolichoderus* complejo *bispinosus*, debido a sus hábitos saprófagos, micófagos y necrófagos, respectivamente. Ellos contribuyen en la dinámica de estos agroecosistemas, principalmente en el ciclaje de nutrientes a través de la descomposición de animales y partes vegetativas y reproductivas de las especies vegetales. Este proceso se puede ver favorecido por las condiciones de alta humedad, precipitación y temperatura reinantes en la parcela agroforestal, característica biofísica importante de los sistemas agroforestales (Montanini 1992).

La diferencia significativa que presentó *C. odorata*, en cuanto a la frecuencia de especies de himenópteros, se debe principalmente a que esta especie, por su carácter caducifolio, permanece seis de los doce meses del año sin follaje, presentando en esta etapa fenológica muy poca presencia de los insectos y aumentando de una manera considerable en los meses donde existen los periodos de rebrote, floración, fructificación y dispersión de semillas. Estas actividades fisiológicas de las plantas se dieron desde abril a septiembre, coincidiendo con las mayores precipitaciones registradas durante el muestreo.

Para las otras especies vegetales, aunque sus etapas fenológicas se presentaron desde finales de marzo hasta octubre, los cambios en dichas actividades no fueron tan

notorios como en el caso de *C. odorata*, ya que las estructuras vegetativas y reproductivas de estas especies permanecieron en el tiempo y los cambios fueron muy paulatinos, razón por la cual no existieron diferencias entre los meses de muestreo, en cuanto a la frecuencia de himenópteros, ya que había disponibilidad de alimento durante el año.

La ocurrencia de insectos fitófagos en la parcela mostró una fuerte relación con aquellos de hábitos entomófagos, sobre todo con los depredadores. De esta manera, la especie *Nasituterms* sp. era depredada por las especies de hormiga *Ectatomma ruidum*, *Pachycondyla* sp., *Pachycondyla* sp. y *Odontomachus* sp.; mientras que las larvas de Pyralidae, barrenadores del fuste de *I. spectabilis*, eran depredadas por la avispa *Polistes carnifex carnifex*, y las hormigas *Pachycondyla* sp. y *Odontomachus* sp., siendo esta época la de mayor precipitación.

De otro lado, la frecuencia de ocurrencia de las especies depredadoras *Eciton burchelli* y *Eciton hamatum* estuvo relacionada con la presencia de estados inmaduros en colonias de otras hormigas como *Atta cephalotes*, *Camponotus* sp., *Solenopsis* sp. y *Odontomachus* sp.

Por otra parte, entre los meses de abril y mayo, la especie *I. spectabilis* presentaba rebrotes de hojas, las cuales eran forrajeadas por *Atta colombica* y *A. cephalotes*. Durante este evento la especie *Paraponera clavata* se observó sacrificando las obreras que forrajearon este árbol, asumiendo esto como un comportamiento defensivo y no como una depredación propiamente dicha, ya que no eran consumidas por éstas.

Otros himenópteros como las abejas, cuya frecuencia fue mayor en los meses de abril a julio, obedece a que en esta época la especie *B. patinoi* presenta tanto flores masculinas como femeninas, a las cuales se encuentran asociadas estas especies por encontrar mayor cantidad de néctar y polen en las estructuras reproductivas.

Conclusiones

- La riqueza y diversidad de los himenópteros asociados a la parcela da soporte a una de las características más importantes de los sistemas agroforestales, como es la alta diversidad orgánica que albergan. Debido a esto presentan gran similitud con los ecosistemas naturales, por ello hoy en día se intensifica su aplicabilidad en el trópico húmedo como una alternativa para mitigar el impacto ecológico ocasionado por los monocultivos en estas zonas.

- El conocimiento de la diversidad trófica de los himenópteros como estudio básico en sistemas agroforestales es fundamental para el manejo adecuado de aquellos grupos de insectos fitófagos potencialmente importantes desde el punto de vista económico.

• La afinidad de los himenópteros entre las especies vegetales de la parcela agroforestal, está dada por estratificación de los policultivos de estructura arbórea y la distribución horizontal del componente agrícola en la misma.

• La presencia de los himenópteros en la parcela agroforestal está relacionada con los periodos fenológicos propios de cada especie vegetal, y no con la precipitación. Por tal razón, y debido a su carácter caducifolio, la especie *C. odorata* fue la única que presentó una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de himenópteros durante el muestreo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Francisco Javier Serna por la colaboración en la identificación de las hormigas, Allan Henry Smith en la identificación de las abejas, Paul Hanson en la identificación de Vespidae y Pompilidae, Carolina Godoy en la identificación de Cidellidae, Jhon A. Quiroz en la identificación de algunos grupos de insectos. A Oscar E. Ortega por la asesoría en la parte ecológica. A los profesores Rodrigo Escobar Durán y Alicia Ríos H. de la Universidad Tecnológica del Chocó por su apoyo durante el desarrollo de la investigación. A Julia del C. Palacios, Nasser Cuesta, Rosalba Bonilla y María Lucila Rentería R. por su colaboración en el campo. Al grupo de Zoología-Universidad Tecnológica del Chocó MEFLG Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín por el apoyo logístico en el desarrollo de la investigación.

Literatura citada

- ALDANA, R. C.; CHACÓN, P. 1999. Megadiversidad de Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la cuenca media del río Calima. *Revista Colombiana de Entomología* 25: 37-47.
- BORROR, D.; DE LONG, D; TRIPLEHORN, C. 1981. A introduction to the study of insects. USA: Philadelphia, CBS College Publishing. 827 p.
- ESPINAL, S. 1977. Zonas de vida y formaciones vegetales de Colombia. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, IGAC, Vol. XIII No. 11. Bogotá. 337 p.
- FERNÁNDEZ, F. 1991. Las hormigas cazadoras del género *Ectatomma* (Formicidae: Ponerinae) en Colombia. *Caldasia* 16: 551-564.
- FERNÁNDEZ, F. 1993. Hormigas de Colombia III: Los géneros *Acanthoponera* Mayr, *Heteroponera* Mayr y *Paraponera* Fr. Smith (Formicidae: Ponerinae: Ectatomini). *Caldasia* 17: 249-258.
- FERNÁNDEZ, F. 1995. La diversidad de los himenópteros en Colombia. p. 373-424. En J. O. Rangel (ed.) Colombia Diversidad Biótica I. Universidad Nacional de Colombia & INDERENA, Santafé de Bogotá D. C.
- FERNÁNDEZ, F. 2000. Sistemática de los Himenópteros de Colombia: Estado de Conocimiento y Perspectivas. p. 233-243. En: PRIBES. Proyecto Iberoamericano de Biogeografía y Entomología Sistemática. Vol. 1. Martín-Piera, F.; Morrone J. J.; Melic A. (eds.). CYTED Para el Inventario y Estimación de la Diversidad Entomológica en Ibero América.
- FERNÁNDEZ, F. 2002. Revisión de las Hormigas *Camponotus* subgénero *Dendromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) Papeis Avulsos de Zoología 42 (4): 47-101.
- GASTON, K. J. 1991. The magnitude of Global Insect Richness. *Conservation Biology* 5 (3): 283-296.
- GASTON, K. J.; GAULD, I. D; HANSON, P. 1996. The size and composition of the hymenopterian fauna of Costa Rica. *Journal of Biogeography* 23: 105-113.
- GAULD, I.; HANSON, P. E. 1995a. The order Hymenoptera. p. 4-6. En: Hanson, P.E. y Gauld, I., (eds.). The Hymenoptera of Costa Rica. The Natural History Museum, London.
- GAULD, I.; HANSON, P. E. 1995b. The evolution, classification and identification of the Hymenoptera. p. 138-156. En: Hanson, P.E. y Gauld, I., (eds.). The Hymenoptera of Costa Rica. The Natural History Museum, London.
- GAULD, I.; HANSON, P. E. 1995c. Important biological features in the evolution of the order. p. 28-32. En Hanson, P. E y Gauld, I. (eds.) The Hymenoptera of Costa Rica. The Natural History Museum. London.
- GAULD, I.; HANSON, P. E. 1995d. Introduction to the chrysidoid families. p. 464-465. En: Hanson, P. E. y Gauld, I., (eds.). The Hymenoptera of Costa Rica. The Natural History Museum, London.
- GOULET, H; HUBER, J.T. 1993. Hymenoptera of the world: An identification guide to families. Centre for Land and Biological Resources Research Ottawa, Ontario. 668 p.
- HANS, C. A. 1988. Evaluación Preliminar del Crecimiento de 20 Especies Maderables en la Región de Lloró-Carretera Panamericana, Chocó, Colombia. Serie Técnica No. 29. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal. Bogotá. 31 p.
- HANSON, P. E.; GAULD, I. D (eds.). 1995. The Hymenoptera of Costa Rica. Oxford University Press. 893 p.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. The ants. Harvard University, Cambridge. 732 p.
- LASALLE, J.; GAULD, I. D. (eds.). 1993. Hymenoptera and Biodiversity. C.A.B. International, UK. 348 p.
- LUDWING, J. A.; REYNOLDS, J. F. 1988. Statistical Ecology. John Wiley and Sons. New York. 337 p.
- MACKAY, W. P. 1993. A review of the new world ants of the genus *Dolichoderus* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 22 (1): 1-143.
- MACKAY, W.; MACKAY, E. 1989. Clave de los géneros de hormigas de México (Hymenoptera: Formicidae). Memoria I. II Simposio de Insectos Sociales. Oaxtepec. Morlos. 142 p.
- MACKAY, W.; MACKAY, E. 1986. Las Hormigas de Colombia: Arrieras del género *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 12 (1): 23-30.
- MASNER, L.; DESSART, P. 1967. La réclassification des catégories taxonomiques supérieures des Ceraphronoidea (Hymenoptera). *Bulletin Institute Recurs Science Natural Belgica*. 43: 1-43.
- MONTANINI, F. 1992. Sistemas Agroforestales: Principios y Aplicaciones en el Trópico. 2da. Edic. Organización para Estudios Tropicales. San José. Costa Rica. 622 p.
- PALACIO, E. 1999. Hormigas Legionarias (Hymenoptera: Formicidae: Ecitoninae) de Colombia. p. 117-189. En: Insectos de Colombia Estudios Volumen II: Andrade, G. Amat, G. & Fernández, F. (eds.). Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales y Centro Editorial Javeriano. Bogotá. 434 p.
- RAMÍREZ, A. 1999. Ecología aplicada "Diseño y Análisis Estadístico. Fundación Universitaria Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. 325 p.
- RICHARDS, O. W. 1977. Hymenoptera.: Introduction and key to families (2nd Edition). Handbook for the Identification of British Insects. 6 (1): 1-100.
- SHARKEY, M. J.; WAHL, D. B. 1992. Cladistics of the Ichneumonoidea (Hymenoptera). *Journal Hymenoptera Research* 1: 15-24.
- SERNA, F. 1999. Diversidad de hormigas del área de influencia del proyecto hidroeléctrico Porce II. Tesis de Maestría en Entomología. Posgrado de Entomología Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 248 p.
- STEEL, R.; TORRIE, J. 1980. Principles and procedures of statistics a Biometrial Approach. McGraw-Hill Inc. México. 622 p.
- VÉLEZ, G. A. 1995. Sistemas agroforestales I. Universidad Sur Colombiana. Bogotá. 139 p.
- WAY, M. J.; KHOO, K. C. 1992. Role of ants in pest management. *Annual Review of Entomology* 37: 479-503.

Recibido: May. 15/2002

Aceptado: Feb. 23/2004

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES (ver en página electrónica www.socolen.org.co)

La Revista Colombiana de Entomología es el órgano oficial de divulgación científica de la Sociedad Colombiana de Entomología -SOCOLEN- y como tal publica de preferencia artículos científicos, inéditos, basados en resultados de investigaciones en el campo de la entomología o campos afines. Ocasionalmente publica artículos técnicos de naturaleza diferente que no presentan prueba de hipótesis, por ejemplo, descripción de métodos, descripción de especies, notas taxonómicas, notas cortas y revisiones de literatura pero que sean relevantes en el campo de la ciencia entomológica.

La aceptación de los trabajos para su publicación dependerá de la evaluación de los profesionales que conforman el Comité Editorial de la Revista.

Los artículos se deben enviar en original y (2) dos copias en papel, a la secretaría de SOCOLEN. Una vez el trabajo haya sido aceptado para su publicación, se solicitará el correspondiente disquete con la versión final corregida. El trabajo debe venir escrito en Word, las tablas en Excel y las figuras en un programa corriente para que el trabajo de edición sea más rápido. En el disquete se deben indicar los programas de computador empleados.

El manuscrito debe venir impreso en papel tamaño carta, con márgenes de 2.5 cm en todos los lados, páginas numeradas y escrito a espacio y medio en Arial 11 puntos. El trabajo puede tener una extensión máxima de 25 páginas, incluidas figuras, tablas y bibliografía. El lenguaje utilizado debe ser claro y preciso, y las tablas y figuras seleccionadas deben ser bien elaboradas, de alta calidad y aportar información valiosa e ilustrativa para el artículo y no ser redundantes con la información dada en el texto o entre ellas mismas.

Estructura del artículo

Título: Debe ser corto pero ilustrativo, sin exceder de 15 palabras; si ello no es posible se deberá incluir un subtítulo. Además, deben incluirse una traducción del título al inglés y un título breve para los encabezados de página.

Autores: Se deben escribir los nombres completos. Los autores deben ir en orden de acuerdo con la importancia de contribución a la investigación o en la preparación del artículo y no en orden alfabético o de rango. En nota de pie de página se indicarán respectivamente los títulos académicos, la institución a la cual pertenecen, la dirección postal y electrónica.

Resumen: Debe ser conciso y obtener información sobre: la justificación, objetivos, metodología y resultados completos de la investigación. Además, debe indicar los límites de la validez e implicaciones de los resultados. No debe exceder de 250 palabras escritas en un solo párrafo.

Summary: Debe ser una traducción fiel al inglés del resumen.

Palabras clave: Al final del resumen se debe colocar una lista de palabras del artículo, diferentes de las incluidas en el título, que faciliten el uso de los sistemas modernos de catalogación y búsqueda de información por computador. Igualmente, al final del summary se deben incluir las key words.

Capítulos: Cada artículo debe constar principalmente 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.

Tablas: Las tablas deben estar citadas en el texto. Se deben presentar en páginas separadas. El título debe ir en la parte superior de la tabla. Notas de pie de página sólo se deben utilizar en las tablas.

Figuras: Fotografías, dibujos, gráficos y mapas deben presentarse en páginas separadas con su correspondiente leyenda en la parte inferior. Se aceptan figuras elaboradas en computador sólo cuando éstas sean impresas con características de alta calidad, en impresora láser. Si no es posible, las figuras deben venir muy bien elaboradas en tinta china y en papel pergamino. Las fotografías se aceptarán en blanco y negro y en papel brillante. Cada ilustración debe venir acompañada de su crédito respectivo. La información que se presenta en las gráficas no debe ser repetición de la presentada en las tablas.

Citas bibliográficas: Solamente se aceptan referencias publicadas, citando el apellido del autor seguido del año de publicación entre paréntesis. Ej.: Rodríguez (1993). Cuando los autores sean tres o más debe usar la expresión latina *et al.* Ej.: López *et al.* (1993). Si la cita se coloca al final de una frase se usa autor y fecha entre paréntesis Ej.: (Rodríguez 1993) o (López *et al.* 1993).

Literatura citada: Se debe presentar en orden alfabético y cronológicamente. La referencia de un artículo en una publicación periódica debe contener los siguientes elementos: Autor = Apellido en mayúsculas (coma) Iniciales del nombre separadas por punto. Año de publicación. Título del artículo. Nombre completo de la revista. Cuando la revista no sea conocida se debe indicar el país de origen entre paréntesis. Volumen (número) Número (entre paréntesis) páginas desde hasta (indicadas por: dos puntos). Ejemplo: POSADA, F. J. 1992. Ciclo de vida, consumo foliar y daños en fruto de melón por *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Piralidae). Revista Colombiana de Entomología 18 (1): 26-31.

Si la referencia tiene más de un autor, éstos se separan por punto y coma (,).

La referencia de un libro debe incluir: Autor(es) en mayúsculas y separados por punto y coma. Año de publicación. Título. Editorial o entidad responsable de la publicación, lugar de impresión, páginas.

Ejemplo: GÓMEZ-ARISTIZÁBAL, A.; RIVERA-POSADA, H. 1987. Descripción de malezas en plantaciones de café. CENICAFÉ, Chinchiná (Colombia). 481 p.

Estilo: Se debe escribir en un estilo impersonal, utilizando abreviaturas de uso común y el sistema métrico decimal o internacional.

Artículos técnicos: Se aceptan para ser publicados en la revista cuando sean importantes en la ciencia de la Entomología. Deben seguir, en términos generales, las normas aquí establecidas para los artículos científicos con las modificaciones apropiadas para este tipo de trabajos.

Separatas: Por cada uno de los artículos publicados se entregarán 15 separatas en forma gratuita al autor. Copias adicionales pueden ser ordenadas a los precios vigentes al momento de impresión, para lo cual el autor deberá hacerlo saber cuando reciba la confirmación de aceptación de su artículo para la publicación.

Aclaración

Rogamos a ustedes nos disculpen por haber colocado en otro sentido la fotografía de la carátula del número 1 volumen 30 de 2004.

Correos
de Colombia



CAMBIAMOS PARA SERVIRLE MEJOR A COLOMBIA Y AL MUNDO

ESTOS SON NUESTROS SERVICIOS

VENTA DE PRODUCTOS POR CORREO
SERVICIO DE CORREO NORMAL
CORREO INTERNACIONAL
CORREO PROMOCIONAL
CORREO CERTIFICADO
E.M.S. INTERNACIONAL
SERVICIO POST EXPRESS
RESPUESTA PAGADA
ENCOMIENDAS
FILATELIA
CORRA
FAX

Lo atendemos en los Nos.
4 29 73 20 - 3 34 03 04
980015503 - Fax 2 43 89 62

Visite nuestra página web
www.adpostal.gov.co

ÍNDICE GENERAL VOLUMEN 30 (1-2) 2004

.....

A	
δ endotoxinas	52
<i>Absidia corymbifera</i>	11
Abundancia de especies	115
Abundancia relativa	200
Acanthocephalos	135
<i>Acarí</i>	1, 131, 144, 226, 231
Acarícidas	2
Acaro	131, 133, 134, 135, 143, 144, 147, 148, 149, 225, 226, 228, 231
Ácaro ectoparásito	226
Ácaro entomopatógeno	132
Ácaro mirmecófilo	143
Acción biológica	94
Acción fagoestimulante	193
Acción fúngica	154
Acción inmunodepresora	152
Acción predatora	131
Acción quimiotáctica	194
<i>Acer negundo</i>	172
Acetogeninas	187, 188, 189, 190, 191
Acetogeninas lactónicas monotetrahidrofuránicas	188
<i>Acremonium</i>	11
Acrididae	2
<i>Acromymex</i>	235, 238
<i>Acrostalagmus</i>	11
Actiniedida	146
Activador de patogenicidad	1, 2, 3
Actividad alimenticia	37
Actividad biocontroladora I, 2, 4, 43, 44, 45, 47, 48, 80, 81, 82, 87, 88, 90, 91, 93, 94, 95, 96, 100, 101, 104	
Actividad bioinsecticida	94
Actividad biológica	2, 125
Actividad entomopatógena	87, 88, 89, 90
Actividad enzimática 4, 15, 17, 19, 79, 80, 81, 87, 88, 89, 90, 91	
Actividad enzimática degradativa	125
Actividad insecticida	191
Actividad larvívica	187
Actividad parasitaria	131, 132
Actividad parasítica	107, 109, 111
Actividad proteolítica	17, 19
Actividad quimoelastasa	83
Actividad quimoelastasa proteasa PR-1	83, 91
Actividad quitinolítica	82, 90
Actividad sexual	76
Actividad sinérgica	2
Actividad social	60
Actividad tóxica	55
Actividades biológicas inmunosupresivas	188
Adaptabilidad	220, 221
ADN genómico	19, 157, 158
Adulto	37, 57, 58, 60, 61, 110, 111, 131, 133, 143, 145, 146, 172, 205, 207, 220, 223
Adulto hembra	138
<i>Aedes aegypti</i>	187, 188, 189, 190, 191
<i>Aedes albopictus</i>	159
<i>Aequorea victoria</i>	16
Afidos	193
África	137, 220
Agente microbiano	152
Agente potencial	112
Agentes biocontroladores	12
Agentes microbianos	44
Agentes químicos	23
Agricultores	39, 211
Agroecosistemas cafeteros	219, 220, 221
Aguas lénticas	191
Aislamiento I, 8, 32, 80, 93, 94, 95, 96, 100, 125, 128, 129, 171	
Aislamiento precigótico	72
Aislamiento reproductivo	72
<i>Akemes</i>	137, 138
<i>Akemes bruneri</i>	137
<i>Akemes colombiensis</i> sp. n.	138, 139, 140
<i>Akemes punctatus</i>	137
<i>Akemes riograndensis</i>	137
<i>Akemes townsendi</i>	137
<i>Akemes xylosma</i>	137
<i>Akemes cordiae</i>	137
Alados	7
Alcalinidad	198, 199, 200
Alelos comunes	69, 73
Aleteo	76
<i>Aleurodicus dispersus</i>	29
<i>Aleuroglandulus malangae</i>	29
<i>Aleuronudus</i> sp.	29
<i>Aleurothrixus aepim</i>	29
<i>Aleurotrachelus socialis</i>	29, 35, 31, 37, 41
Aleyrodidae	29, 30, 37, 162
Alimentación	60, 61, 149
Alimento	122
Aliso	173, 177
Allantonematidae	180
<i>Allomyces javanicus</i>	11
Almacenamiento	108, 112
<i>Alnus acuminata</i>	171, 172
<i>Alstromeria</i> sp.	206
Altillanura	94
Altiplano cundiboyacense	108, 212
Amaranthaceae	188
Amazonas	80
Amazonia	234
<i>Amelanchier denticulata</i>	172
América	131, 171, 187
América Central	37, 137
<i>Amitermes</i>	7
<i>Amitermes silvestre</i>	8
Amonio	200
<i>Amphicranus</i> sp.	173
Amplificación azarosa	157
<i>Anabasis aphylla</i>	188
Anaerobiosis	152
<i>Anagyris kamali</i>	112
Análisis de proteínas	54
Análisis económico	40, 168
Análisis electroforético	65
Análisis físico-químico	198
Análisis genético	66
Análisis isoenzimático	66
Análisis químico	188
Anamectin	23
<i>Ancognatha scarabaeoides</i>	43, 44
Anidar	122
<i>Anisoplia austriaca</i>	152
<i>Annona cherimolia</i>	188, 191
<i>Annona glabra</i>	188, 191
<i>Annona melitu</i>	188
<i>Annona muricata</i>	187, 188, 191
<i>Annona palustre</i>	188
<i>Annona purpurea</i>	191
<i>Annona reticulata</i>	188, 191
<i>Annona spinescens</i>	188
<i>Annona squamosa</i>	188, 191

Annonaceae	188	Avispita de Costa de Marfil	219
Annonacin	188	Avispita de Togo	220
Annonin	188	Avispita de Uganda	219
<i>Anomala undulata</i>	48	Avispitas	223
Anomalopsychidae	198, 200, 201, 202,	Azinphos-ethyl	23
<i>Anopheles</i>	187, 191	Azteca sp.	141, 236, 238
<i>Anopheles albimanus</i>	187, 188, 189, 190, 191	Azúcar preferencial	193, 194, 195
<i>Anopheles culicifacies</i>	191	Azúcares reductores	193
<i>Anopheles gambiae</i>	159	B	
<i>Anopheles stephensi</i>	191	β-esterasa	79, 81, 84, 87, 90, 91
Anticuerpos policlonales	125, 126, 127, 129	<i>Bacillus popilliae</i>	44
Antillas holandesas	66	<i>Bacillus</i> sp.	83
Antimicrobiana	128, 129, 188	<i>Bacillus sphaericus</i>	83
Antioquia	44, 48, 52, 152, 197, 205, 211	<i>Bacillus subtilis</i>	82
Antiparasitarias	188	<i>Bacillus thuringiensis</i>	51, 52, 53, 55, 79, 80, 90, 151
Antisuero	126	<i>Bacillus thuringiensis tenebrionis</i>	51
Antitumorales	188	Bacterias	8, 79, 90, 95, 115
Anytisidae	131	Bacterias entomopatógenicas	79, 80, 87, 88, 90, 91
Apareamiento	60, 61, 77	Bacterias nitrificantes	171
<i>Apeiba aspera</i>	233, 234, 235, 236, 238	Bacterias saprofitas	91
Aphididae	162	Barenador	122, 171, 238
<i>Aphis gossypii</i>	161, 162, 163, 168	Bassianolide	128
Apidae	233, 235, 238	BEA	125
Aplicación foliar	37, 38, 39, 40, 41	<i>Beauveria bassiana</i>	4, 5, 8, 15, 16, 17, 20, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 33, 44, 46, 48, 79, 90, 94, 95, 100, 125, 126, 127, 128, 129, 134, 151, 153
Aplicaciones intramusculares	125	<i>Beauveria brongniartii</i>	102
Aporque	57, 59, 60, 61, 62, 63	<i>Beauveria</i> spp.	100, 102
Arabinosa	193	Beauvericina	125, 126, 127, 128, 129
Arañas	108	Beauveriolide	128
Arañas rojas	131, 134	<i>Bemisia afer</i>	29
<i>Araucaria</i> sp.	172	<i>Bemisia argentifolii</i>	29
Arboricultura forestal	8	<i>Bemisia tabaci</i>	29, 37, 162
<i>Arbutos xalapensis</i>	172	<i>Bemisia tabaci</i> biotipo B	29
Áreas de riesgo	187	<i>Bemisia tuberculata</i>	29, 37
Argentina	137, 157, 171	Beneficio neto	39, 168
Argidae	235, 238	Beneficio total	39
Arracacha*	43	Benlate	24
Arroz	99, 100, 102, 103	Benomil	24
Arsenicales	2	Benzoylphenylurea	24
Arthropoda	1, 116, 131, 134, 135, 188	Bethylidae	219, 221
<i>Aschersonia aleyrodis</i>	30, 35	Bialafós	16
<i>Ascia monuste</i>	205	Biocontrol	100
Ascomycete	151	Biocontroladores	4, 15, 87, 91, 132
Asociación simbiótica	172	Biodiversidad	115
Asocios	161	Bioensayo	3, 24, 43, 53, 55, 89, 94, 101, 153
<i>Aspergillus flavus</i>	8, 151, 153	Bioindicadores	197, 202
<i>Aspergillus fumigatus</i>	9, 151	Bioinsecticidas	44
<i>Aspergillus nidulans</i>	16	Biología	132, 143, 144, 145, 172, 193
<i>Aspergillus niger</i>	9	Bioluminiscencia	16
<i>Aspergillus ochraceus</i>	9	Bioplaguicida	5, 47, 51, 96, 99, 100, 103
<i>Aspergillus</i> sp.	102, 151	Bioplaguicidas granulados	43
<i>Aspergillus</i> spp.	7	Biotrapper®	59
Asperjadas	94	<i>Blatella germanica</i>	191
Aspersión	1, 3	Blotting	54
Aspersión directa	95	<i>Boophilus microplus</i>	1, 5
<i>Aster</i>	206	Boraginaceae	151, 152
<i>Atanotlica</i>	200	<i>Borojoa patinoi</i>	233, 234, 235, 236, 237
Ataque	174, 211	Bosque	115, 122
Atopsyche	200	Bosque húmedo montano bajo	171, 198
<i>Atopsyche tampurimac</i>	200, 201	Bosque húmedo premontano	152
<i>Atopsyche yupanqui</i>	200, 201	Bosque muy húmedo montano bajo	171, 198
Atracción	188	Bosque pluvial	171
Atrayente	57, 58, 60, 63	Bosque pluvial tropical	234
Atrayente sexual	75	Bosque seco	122
<i>Atta cephalotes</i>	233, 235, 238	Bosque seco tropical	116, 234
<i>Atta colombica</i>	236, 238	Bosque tropical	151
<i>Aureobasidium pollulans</i>	16	<i>Bothynoderes</i> sp.	172
Australia	137	Boyacá	52, 57, 107, 157, 158, 197, 211
<i>Autoplusia egea</i>	205	<i>Brachiaria mutica</i>	228
Aves	24, 94, 144	Braconidae	233, 235, 236, 238
Avispa	107, 108, 109, 110, 111, 112, 236, 238		
Avispa parasitoide	112		

- Brasil ————— 172
Brassica oleraceae var *botrytis* ————— 205
Brassica oleraceae var *capitata* ————— 205
Brassica oleraceae var *gemmifera* ————— 205
Brassica oleraceae var *italica* ————— 205
Brassica pekinensis ————— 205
Broca del café ————— 15, 16, 18, 20, 23, 79, 129, 179, 180,
181, 182, 184, 219, 220, 221, 222
Bruchidae ————— 191
Buga ————— 137, 138, 141, 149, 227
Buprofezin ————— 37, 38
Byssochlamys ————— 11
- C**
Cactus ————— 65
Café ————— 179, 180
Café maduro ————— 219
Cafetales ————— 223
Caficultores ————— 219, 220, 222, 223
Calamoceratidae ————— 200, 201
Caldas ————— 16, 52, 171, 172, 219, 220, 222
Cali ————— 137, 138, 141
Calidad del agua ————— 197
Callosobruchus chinensis ————— 191
Cámara de emergencia ————— 226, 228
Camarones ————— 65, 66, 69, 71, 72, 73
Cambio evolutivo ————— 71
Campo ————— 35, 93, 94, 95, 99, 100, 173, 177
Camponotus sp. ————— 235, 238
Caña de azúcar ————— 115, 116, 122, 143, 226
Cañaduzal ————— 115, 121, 122
Capacidad de daño ————— 211, 212, 213, 216
Capacidad hematófaga ————— 2
Capacidad reproductiva ————— 1, 7
Capacidad vectorial ————— 160
Capnodium sp. ————— 162
Captura ————— 57, 59, 64, 75, 228
Carábido ————— 228
Caracteres diagnósticos ————— 137
Caracterización física ————— 43, 44, 45
Caracterización físico-química — 197, 198, 199, 200, 201, 202
Caracterización microbiológica — 43, 45, 47
Caracterización molecular ————— 100
Caracterización trófica ————— 233
Carbamatos ————— 26, 93
Carbaryl ————— 23
Carbofurán ————— 24, 44, 93
Carbohidratos ————— 193, 194, 195
Carbosulfan ————— 37, 38
Carga parasitaria ————— 131, 133
Caribe ————— 37
Caryophyllales ————— 188
Castas ————— 7, 149, 152
Casuarina equisetifolia ————— 172
Cauca ————— 37, 38, 52, 147
Cebolla ————— 44, 43
Cebos envenenados ————— 143
Cedrela odorata ————— 233, 234, 236, 238, 239
Células apresoriales ————— 153
Células epidermales ————— 90
Células epiteliales ————— 52
Celulosa ————— 7
Centro América ————— 107, 187, 211
Cepa no transgénica ————— 15, 18
Cepa transformada ————— 16, 17, 18
Cepa transgénica ————— 15, 19, 20
Cephalonomia stephanoderis ————— 219, 221, 223
Cephalotes ————— 235
Cephalotes atratus ————— 238
Cerambycidae ————— 151
Ceratocystis ————— 171, 172, 175, 176, 177
Ceratocystis fimbriata ————— 173
Ceratocystis polonica ————— 173
Cercopidae ————— 90
Cesar ————— 2, 66
Cetonia aurata ————— 154
Chagásicos ————— 131
Chalara sp. ————— 176
Chalaropsis ————— 11
Chile ————— 206
Chinches ————— 108
Chiza ————— 43, 44, 48
Chlordano ————— 8
Chlorothalonil ————— 26
Chocó ————— 233, 234, 235, 236, 237, 238
Chrysanthemum ————— 206
Chrysomelidae ————— 23, 162, 172
Cibario ————— 195
Cicadellidae ————— 238
Ciclo biológico ————— 134
Ciclo de vida — 131, 134, 135, 143, 144, 205, 206, 207, 208
Ciclohexadepsipeptida ————— 125
Ciclos estacionales 135
Ciénaga Grande de Loricá ————— 161, 162
Ciproconazol ————— 26
Cisidae ————— 175
Citogenética ————— 71
Citotóxica ————— 129, 188
Citrullus lanatus ————— 161
CL100 ————— 191
 CL_{50} ————— 29, 31, 35, 96, 187, 191
 CL_{90} ————— 31, 35, 96
Cladosporium ————— 11
Clonostachys rosea ————— 102
Clorados ————— 2
Clorpirifos ————— 23, 93
Cluster ————— 65, 73, 158, 159
Cluster *buzzatii* ————— 65
Cluster *martensis* ————— 65
Cluster *stalkerii* ————— 65
Cnidaria ————— 16
Coccidae ————— 137, 193
Coccoidea ————— 137
Cochliobolus heterostrophus ————— 16
Coleoptera — 23, 43, 44, 51, 52, 55, 57, 79, 90, 127, 134, 151,
152, 162, 171, 172, 173, 175, 179, 191, 219, 238
Coleópteros ambrosiales ————— 172
Collias dimera ————— 108
Colombia — 7, 15, 16, 24, 29, 30, 37, 44, 51, 52, 66, 80, 93,
94, 99, 100, 108, 126, 127, 137, 141, 151, 152,
157, 158, 160, 157, 158, 160, 161, 171, 172, 179,
180, 187, 194, 197, 206, 211, 219, 220, 234
Colonia ————— 193, 194, 195, 220
Colonizar ————— 122
Colorantes vegetales ————— 193
Comedor de estructuras ————— 93
Comedor de follaje ————— 93
Compatibilidad ————— 23
Competencia interespecífica ————— 225, 231
Complejo chiza ————— 44
Complejo de especies ————— 29
Complejo *Spodoptera* ————— 99
Componentes cuticulares ————— 2
Componentes vegetales ————— 233
Comportamiento — 20, 43, 57, 58, 61, 63, 95, 108,
109, 111, 112, 158, 160, 211
Comportamiento de captura ————— 64
Comportamiento reproductivo ————— 143, 144, 146
Comunidad de tricópteros ————— 197
Comunidades de hormigas ————— 115
Comunidades faunísticas ————— 115
Comunidades florísticas ————— 115

- Comunidades macrobénticas 197
 Concentración 47, 94, 95, 96, 101
 Concentración letal media 29
 Condiciones ambientales 26
 Condiciones de campo 16, 37, 96, 143, 147, 149, 191
 Condiciones de insectario 205, 208
 Condiciones de invernadero 29, 35
 Condiciones de laboratorio - 16, 131, 134, 145, 187, 188, 189, 191
 Conductividad 198, 199, 200
 Conejos 125, 126
Conidiobolus coronatus 151
 Contacto 152
 Contaminación ambiental 131
 Contenido estomacal 135
 Contexto regional y local 115
 Control 1, 7, 37, 38, 43, 44, 46, 47, 48, 55, 75, 93, 94, 99, 107, 108, 112, 160, 179, 187, 188
 Control biológico 1, 8, 15, 23, 29, 42, 43, 51, 75, 93, 99, 108, 112, 125, 129, 131, 132, 134, 135, 143, 144, 151, 180, 219, 226, 226, 231
 Control cultural 180
 Control de calidad 35
 Control de insectos 23, 26
 Control de plagas 40, 188
 Control integrado 23
 Control integrado de vectores 134
 Control microbiológico 7, 8, 12, 29, 30
 Control parasitario 2
 Control químico 23, 29, 30, 37, 38, 40, 42, 180
 Controladores biológicos 188
Contulma 197, 200, 202
Contulma bacula 200
Contulma spinosa 200, 202
Copitarsia 205, 206, 207, 208, 209
Copitarsia consueta 206, 208
Coptotermes 7, 8, 11
Coptotermes curvignathus 151, 152, 153, 154
Coptotermes formosanus 8, 9
 Cópula 77, 146
Cordia 152
Cordia alliodora 151
 Córdoba 161
Cordycepioideus 151
 Coriotosos 197, 200, 202
 Corredor biológico 122
 Cortejo 73, 76
 Corthylini 172
Corthylus 172, 173, 175
Corthylus columbianus 172, 177
Corthylus convexicauda 172
Corthylus detrimentosus 172
Corthylus mexicanus 172
Corthylus n. sp. 171, 172, 173, 177
Corthylus nudus 172
Corthylus praealtus 172
Corthylus punctatissimus 172
Corthylus spinifer 172
 Cosecha 39
 Costa Atlántica 37, 234
 Costa norte 66, 69, 71, 72, 73
 Costa Pacífica 234
 Costa Rica 107, 172, 211
Costelytra zealandica 90
 Costo total 39
 Costo variable 39
 Costos 94
 Costos ambientales 43
 Costos de producción 168
 Costos económicos 43
 Coxas 133, 134, 135
Crataegus sp. 172
 Crecimiento 1, 3, 24, 26, 90, 95
 Crecimiento micelial 23, 25, 26
Crematogaster 141, 227, 235
 Creosotas 8
 Cría 108, 112, 132, 134, 206, 226, 228
 Cría masiva 148, 220
 Criaderos 191
 Cruciferae 205, 208
 Cryptinae 235
 Cuantificación inmunológica 125
 Cucarachas 108, 191
 Cuenca de río Blanco 171, 172, 173
 Cuero de sapo 37, 39, 40, 41
Culex pipiens 128, 188
Culex quinquefasciatus 188
Culex territans 188
 Culicidae 187, 191
Culoptila 197, 200
 Cultivo 79, 87, 93, 129, 143, 152, 163, 205
 Cultivo de yuca 29, 37
 Cultivos agrícolas 151
 Cultivos forestales 151
 Cultivos líquidos 126, 129
 Cultivos monospóricos 8, 18
 Cundinamarca - 52, 66, 107, 108, 197, 211, 225, 226, 227, 231
Cunninghamella 11
 Curculionidae 51, 57, 172, 238
 Cutícula - 30, 44, 48, 79, 90, 125, 133, 134, 151, 152, 153, 154, 155
D
 Daño 37, 38, 43, 110, 111, 112, 161, 163, 164, 165, 171, 172, 173, 175, 206, 208, 211
 Daño económico 8, 100
 Daños directos 93
 Daños fisiológicos 152
 DBO5 198, 199
 DDT 8
 Deficiencia nutricional 154
 Defoliadores 172
 Deltametrina 8
 Dendrograma 66, 69, 73, 157, 158, 159
 Dengue 187
 Dengue hemorrágico 187
 Densidad de plantas 161
 Densidades 107, 110, 111, 112
Deois flavopicta 90
 Depredadores 8, 44, 122, 220, 225, 226, 233, 238
 Depredadores casuales 228
 Desarrollo 24, 26
 Desarrollo fisiológico 125
 Desarrollo metabólico 134
 Desarrollo ontogénico 144, 145, 149
 Desarrollo regresivo 149
 Descarga 198, 199, 200
 Descripción 137, 138
 Desequilibrio biológico 99
 Desierto de la Tatacoa 65, 66, 72, 73
 Desnutrición 135
 Destrucción de tejidos 154
 Deutoninfa 143, 145, 149
Diabrotica balteata 161, 162, 163, 164, 168
Diabrotica undecimpunctata howardi 54, 55
 Diafentiuron 37, 38
 Diagnósis 138
 Diamidinas 2
Dianthus sp. 206
 Diapausa 134
Diatraea saccharalis 24, 127
 Diazinon 23, 44
 Dicrotofós 26

- Dieta 193
 Dieta alimenticia 208
 Diferenciación alozímica 73
 Diferenciación enzimática 66
 Diferenciación genética 69, 73, 158, 159
 Dimetil sulfoxido (DMSO) 191
 Dimorfismo sexual 174
 Dinámica de captura 60, 61, 62
 Dinámica poblacional 2, 149
 Díptera 11, 51, 65, 134, 143, 187, 193, 195, 226, 228
Discosia 11
 Dispersión 99
 Dispositivo "tipo colgante" 108, 110
 Dispositivo "tipo túnel" 108, 110
 Disrupción sexual 77
 Distancia de Mahalanobis 72, 73
 Distancia genética 65, 66, 72, 73
 Distancia genética de Nei 69, 71, 73, 158, 159
 Distribución 137, 141
 Distribución espacial 197, 201
 Distribución geográfica 158
 Distribución neotropical 137
 Divergencia 69
 Divergencia alozímica 66
 Divergencia enzimática 65
 Divergencia evolutiva 73
 Divergencia genética 71, 72, 73, 160
 Divergencia taxonómica 65, 66, 69, 71, 73
 Diversidad 122, 233
 Diversidad biológica 161
 Diversidad trófica 238
 Diversificación del paisaje 115
 Divertículo esofágico 194
 DL_{50} 12, 96
 DL_{90} 96
 DNA genómico 18
 Dolichoderinae 141, 235
Dolichoderus 235, 238
Dolichoderus complejo *bispinosus* 236, 237, 238
 Dorso torácico 93
 Dosificación 37
 Dosificación comercial 38
 Dosis diagnóstica 191
 Dosis letal 93, 94, 95, 96, 191
 Dot-blot 125, 126, 127, 129
Drosophila 65, 66
Drosophila buzzatii 65, 66, 71, 72, 73
Drosophila mahalanobis 72
Drosophila martensis 65, 66, 69, 71, 72, 73
Drosophila melanogaster 65, 66, 73
Drosophila stameri 65, 66, 69, 71, 72, 73
Drosophila uniseta 65, 66, 72, 73
Drosophila venezolana 65
 Drosophilidae 65
 Dureza total 198, 199, 200
- E**
Eciton burchelli 238
Eciton hamatum 235, 238
 Ecitoninae 228
 Eclosión 3, 4, 134
 Ecología 7, 77
 Economía agrícola 23
 Ecosistema cafetero 15, 180
 Ecosistemas 44
Ectatomma 121, 235, 238
Ectatomma ruidum 238
Ectatomma tuberculatum 238
 Ectitoninae 235
 Ectoparasitismo 133, 135
 Ectoparasitoide 143, 143, 148, 149
 Ectoparásitos 1, 131, 132, 219
 Ecuador 30, 211
 Efecto biocontrolador 1, 4
 Efecto de huella 112
 Efecto fungistático 26
 Efecto inductor 5
 Efecto mecánico 191
 Efecto neuroparalizante 134
 Efecto regional 122
 Efecto tóxico 128
 Eficacia reproductiva 1, 3
 Eficiencia parasítica 112
 ELISA 125, 126, 127, 128, 129
 Embudo de Berlese 147, 226
 Emergencia 57, 60, 143
 Empresas madereras 7
 Encyrtidae 112
 Endectocidas 2
 Endémico 55
 Endoparásitos 220, 223
 Endosulfan 23, 26, 93
 Enemigos naturales 38, 44, 108, 122, 135, 143, 225, 226, 227, 228, 230, 231
 Enfermedad ambarina 90
 Enfermedad de Chagas 132, 135, 157, 158, 160
 Enjambre *martensis* 65, 66, 69, 71, 72, 73
 Enjambre *mulleri* 73
 Ensamblaje de hormigas 115
 Entomófagos 233, 238
 Entomonemátodos 179, 180, 181, 182, 183, 184
 Entomopatógeno 9, 11, 15, 52, 79, 93, 131, 153
Entomophthora 7, 8, 9, 151
 Envigado 44
 Enzima invertasa glicosidasa 193
 Enzimas 4, 79, 87
 Enzimas de restricción 16
 Enzimas digestivas 152
 Enzimas extracelulares 2, 79, 90
 Enzimas hidrolíticas 90
 Enzimas proteolíticas 79, 91
 Epicutícula 131, 153, 154
 Epizootias 93, 94, 99, 100
 Épocas de aplicación 37
 Equilibrio biológico 93
Erinyis ello 95
 Escama blanda mirmecófila 137
 Escarabajo 152, 172
 Escarabajo ambrosial 172
 Espárragos 44
 Especiación alopatría 65, 72, 73
 Especie fitófaga 37
 Especies cactofílicas 73
 Especies depredadoras 238
 Especies vectores 158
 Espectrofotometría 17
 Esperma 146
 Espermadactilo 146
 Espermatóforos 146
 Espermófagos 172
 Esporulación 1, 3, 155
 Esporulación algodonosa 95
 Esporulación polvosa 95
 Estabilidad microbiológica 45, 47
 Establecimiento del parasitoide 219, 220, 221, 223
 Estado de Morelos 132
 Estado Lara 75, 76
 Estado Trujillo 194
 Estados biológicos 171
 Estados inmaduros 219, 220
 Estados ninfales 29
 Esternitos 134

- Estimadores de riqueza 115, 117
 Estimulo visual 195
 Estrategias de control vectorial 158
 Estructura genética 157, 158
 Estudios morfométricos 72, 73
Eucalyptus camaldulensis 8
Eucalyptus sp. 7
Eucalyptus tereticornis 8, 11
Eucalyptus urophylla 8
Euglossa 235, 236, 238
Euglossini 235
Eulaema 235, 238
Eulaema cingulata 235, 236, 238
Eulaema meriana 233, 235, 236, 238
 Eulophidae 219, 220
Eurotium 11
 Evaluación 94, 96, 219
 Evolución 66
 Exoproteasas 83
 Exopterigotas 151
 Extracto de arroz 44, arroz 45
 Extracto no polar 187, 188, 189, 190, 191
 Extracto polar 187, 188, 189, 190, 191
 Extractos de plantas 187, 188, 191
 Extractos enzimáticos 79
- F**
- Factores ambientales 191
 Fase saprofítica 100
 Fauna acuática 202
 Fauna asociada 191
 Fauna benéfica 93
 Fauna nativa de hormigas 231
 Fauna relictual 122
 Fecundidad 205, 206, 207
 Fenitrotion 23, 26
 Fenograma 71
 Fenología del cultivo 149
 Fenvalerate 23
 Fermentación 99
 Feromona 57, 58, 59
 Feromona sexual 75, 76, 77
 Feromona sexual sintética 75, 76
 Fertilidad 205, 206, 207
 Fiebre amarilla urbana 187
 Fitófagos 187, 233, 238
 Fitopatógenos 100
 Flebotomos 193, 194, 195
 Floeófagos 172
 Floración del cultivo 57
 Fluctuación poblacional 134
 Fluidez 43, 44, 45, 46
 Flujo genético 157, 158, 159, 160
 Foco endémico 194
 Foresis 144, 148
 Formas de aplicación 37
 Formicidae 122, 143, 225, 228, 230, 231, 233, 235, 238
 Formicinae 121, 141, 235
 Formulación 93, 96, 99, 100
 Formulación comercial 29, 35
 Formulación del hongo 26
 Forrajeo 109, 112, 122
 Fosforados 93
 Fósforo total 198
 Frecuencia alélica 66
 Frecuencias 107, 110, 111, 112, 160, 233
 Fresa 44
 Frijol 43, 44
 Frijol soya 100
 Fructosa 193, 194, 195
- Fruto brocado 179, 181, 184
 Fumagina 30, 162
 Fungicida 24, 26
 Furadán® 59
Fusarium 171, 173, 175, 176, 177
Fusarium avenaceum 102
Fusarium circinatum 172
Fusarium oxysporum 9, 172
Fusarium solani 171, 172, 175, 177
Fusarium spp. 7, 33
Fusarium tricinctum 172
- G**
- Galactosa 193, 194
 Galea 155
 Galerías 171, 172
Galleria mellonella 180, 181
 Garrapata 1, 2, 3, 5
 Gelechiidae 57, 75, 77, 79, 87, 107, 108, 211
 Gen *bar* 15, 16, 19
 Gen de proteasa 15
 Gen de selección 15, 20
 Gen marcador 15, 16, 20
 Genas 155
 Generalistas 122
 Genes *bar* 18
 Genes de selección 15, 16
 Genes de transformación 17
 Genes de virulencia 90
 Genes resistentes 93
 Genética poblacional 157
 Genoma 157, 159
 Geometridae 16, 172
 Gérmenes entomopatógenos 26
 Germinación 24, 25, 26, 101
 Germinación conidial 23, 25, 26
Gliocladium virens 102
 Glossosomatidae 200, 202
 Glucosa 193, 194, 195
 Glufosinato de amonio 15, 16, 17
Gnathotrichus sp. 173
 Gorgojo 172
 Granos de millo 99
 Granulado 43, 44, 45, 47, 48, 100
Graphium sp. 172
 Gravimetría 44, 46
Grumichella 200
Grumichella flaveola 201
 Grupo *melanogaster* 73
 Grupo *mulleri* 72
 Grupo *repleta* 65, 73
 Grupo *toumeyella* 137
 Grupo *willistoni* 73
 Grupos filogenéticos 137
 Guadales 115, 122
 Güepsa 149
 Gusano blanco de la papa 46, 48, 51, 52, 55, 58, 59, 60, 61, 64
 Gusano cogollero del maíz 93, 99
- H**
- Hábitat doméstico 158
 Hábitat peridoméstico 158
 Hábitats 115, 121, 122, 227, 228, 229
 Hábitos 211
Helicopsyche 197, 200, 202
Helicopsyche n. sp. 201
 Helicopsychidae 198, 200, 201, 202
Heliiothis virescens 54, 55
Heliiothis zea 54
Hellula phidilealis 205
 Hembras 109, 112, 205
 Hembras grávidas 147

- Hembras silvestres ————— 193, 194, 195
 Hembras vírgenes ————— 147
 Hemiptera ————— 24, 131, 132, 137, 157
 Hemocele ————— 88, 152, 154
 Hemocitos ————— 152
 Hemolinfa ————— 16, 90, 95, 133, 134, 135
 Herbicida ————— 15
 Heterocariosis ————— 79, 90
 Heterocariotipos ————— 72
 Heterocigiosidad ————— 66, 73
 Heterogeneidad poblacional ————— 158, 159, 160
 Heteroptera ————— 24, 238
 Heterorhabditidae ————— 179, 180
Heterorhabditis sp. ————— 179, 180, 181, 182, 183, 184
Heterotermes indicola ————— 11
Hevea brasiliensis ————— 172
 Hexacloruro de benceno ————— 8
 Hexaconazol ————— 26
 Híbridos ————— 72
 Hidrolizados de proteína ————— 100
 Higuera ————— 93, 94, 95
 Himenópteros ————— 233, 234, 235, 236, 239
 Homogeneizado ————— 91
 Homogeneizado de alas y patas ————— 2, 4
 Homogeneizado de larvas ————— 79
 Homoptera ————— 29, 37, 90, 162
 Hongo anamórfico ————— 152
 Hongo entomopatógeno ————— 1, 2, 3, 7, 15, 16, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 34, 43, 44, 46, 48
 Hongo oportunista ————— 100
 Hongos ————— 7, 8, 45, 47, 83, 90, 95, 101, 115, 126, 127, 128, 129, 151, 152, 155, 177
 Hongos ambrosiales ————— 171, 172, 173
 Hongos asociados ————— 171, 177
 Hongos entomopatógenos ————— 93, 94, 100, 104, 125, 129, 134, 151, 152, 154
 Hongos fitopatógenos ————— 175
 Hongos formulados ————— 29
 Hongos mutualistas ————— 172
 Hongos saprófitos ————— 11
 Hormiga de fuego ————— 143, 226
 Hormiga generalista ————— 230
 Hormiga legionaria ————— 225, 228, 231
 Hormiga loca ————— 121, 143, 144, 145, 149, 225, 226, 227, 228, 230, 231
 Hormigas ————— 115, 116, 118, 122, 141, 143, 144, 225, 227, 228, 230, 231, 238
 Hormigas forrajeras ————— 122
 Hormigas nativas ————— 225, 226
 Hormigas obreras ————— 149
 Hortalizas ————— 44, 205
 Hospederos ————— 137, 143, 148, 152
 Hostation ————— 44
 Huevos ————— 3, 7, 11, 29, 31, 35, 37, 108, 109, 110, 111, 112, 122, 131, 132, 134, 143, 147, 175, 205, 220
 Huevos infértiles ————— 135
 Huila ————— 65, 66
 Humedad ————— 43, 44, 45, 47
 Humedales ————— 115
 Hydrobiosidae ————— 200, 201
 Hydropsychidae ————— 200, 201
 Hydroptilidae ————— 200, 201, 202
 Hymenoptera ————— 107, 112, 121, 122, 143, 172, 219, 225, 231
 Hyphomycete ————— 151
Hypothenemus hampei — 15, 23, 79, 125, 126, 127, 179, 219
- I**
 Ichneumonidae ————— 233, 235, 236, 238
 Ichneumoninae ————— 235
 Identidad Genética de Nei ————— 66
 Insecticidas biológicos ————— 151
 Insectos plaga ————— 152
 Imagos ————— 134
 Imidacloprid ————— 37, 38
 Impacto ambiental ————— 23, 29, 100, 115, 191
 Impacto económico ————— 52
 Importancia económica ————— 37, 75, 125, 151
 Importancia epidemiológica ————— 158
 Importancia médica ————— 151, 188
In vitro ————— 52, 128, 151, 152
In vivo ————— 152
 Incidencia ————— 161
 Indicadores de calidad de agua ————— 197
 Índice BMWP/Col ————— 198
 Índice de disimilaridad de Jaccard ————— 158
 Índice de diversidad de Shannon-Weaver ————— 198, 200, 201, 202, 235
 Índice de dominancia de Simpson ————— 198, 200, 202
 Índice de equitatividad de Pielou ————— 198, 200, 202
 Índice de fijación (Fst) ————— 160
 Índice de Jacknife ————— 118
 Inductores de virulencia ————— 79
 Industria agrícola ————— 7
 Industria azucarera ————— 115
 Industria forestal ————— 7
 Industria maderera ————— 7
 Industria textil ————— 7
 Infectividad ————— 16, 18, 20
 Infestación ————— 182, 184, 225
 Infestación de broca ————— 219
 Infestadas ————— 93, 94
Inga edulis ————— 172
Inga spectabilis ————— 172, 233, 234, 235, 236, 238
 Ingeniería ————— 16
 Ingesta de sangre ————— 134, 193
 Ingesta natural ————— 194
 Ingestión ————— 152, 191
 Ingestión selectiva ————— 194
 Ingrediente activo ————— 191
 Inmunógeno ————— 126
 Inoculación ————— 126, 151
 Inóculo ————— 100
 Insecticida ————— 23, 24, 26, 37, 38, 39, 44, 51, 52, 76, 93, 125, 128, 129, 179, 187, 188, 191
 Insecticidas biológicos ————— 43, 75
 Insecticidas orgánicos ————— 188
 Insecticidas organosintéticos ————— 75
 Insecticidas químicos ————— 7, 15, 23, 37, 93, 94, 99
 Insecto barrenador ————— 171, 172
 Insecto endémico ————— 51
 Insectos acuáticos ————— 197
 Insectos benéficos ————— 94
 Insectos comedores ————— 206
 Insectos plaga ————— 30, 79, 91, 93, 129, 161
 Insectos sociales ————— 144, 151
 Insectos susceptibles ————— 79
 Insectos vectores ————— 157, 160, 183
 Instares ninfales ————— 131, 132, 133, 134, 135, 145
 Insumos químicos ————— 116, 122
 Interacción entomopatógeno-hospedero ————— 16
 Intercambio genético ————— 160
 Interferencia intraespecífica ————— 112
 Intestino ————— 52, 55, 151, 155, 193, 194
 Intestino medio ————— 152
 Introducción ————— 219
 Invasión ————— 151, 152, 153, 154
 Invasiones silvestres ————— 159
 Invernadero ————— 35, 171, 173, 177
 Inversiones ————— 65
 Invertebrados ————— 144
 Invertebrados acuáticos ————— 16
 Investigación participativa ————— 219, 220

- Ipinae 173
Ips typographus 173
 Isazofos 23
 Isoelectroenfoco 15, 17, 19
 Isoptera 151, 154, 238
 Ixodida 1
- J**
- Juvenil infectivo 179, 181
- K**
- Kairomona 59, 60, 62
 Kalotermitidae 151
Keiferia lycopersicella 75
 Kemkol® 191
 Kinetoplastida 132
- L**
- La Guajira 65
 Labela 195
Labidus pos. coecus 225, 228, 230, 231
 Labro 195
 Lacinia 155
 Lactonas macrocíclicas 2
 Lamedores de néctar 233, 238
 Langosta 152
 Langosta llanera 4, 91
 Larva 11, 44, 45, 55, 79, 80, 88, 90, 91, 93, 94, 95,
 96, 99, 100, 104, 122, 128, 143, 145, 147, 148,
 149, 172, 174, 175, 180, 187, 188, 189, 190,
 191, 201, 205, 207, 216, 219, 220, 238
 Larvas rizófagas 43
 Larvícida 24
 Lauraceae 141
 Lecitinasas 90
Leishmania 195
Leishmania chagasi 193, 194
 Leishmaniasis 193
 Leishmaniasis visceral 194
 Lepidoptera 16, 24, 52, 57, 75, 79, 87, 90, 93, 95, 99, 100,
 107, 108, 127, 162, 172, 180, 205, 206, 211, 238
Leptinotarsa decemlineata 23, 53
 Leptoceridae 200, 201
Leptonema 200, 202
Leptonema stigmatosum 200, 201
Leptophobia aripa 205, 206
 Leptospermoideae 7
 Lesiones 177
Lestrimelitta limao 233, 235
Leucotrichia 200
 Levadura 171, 175, 177
 Liberación 107, 108, 109, 110, 111, 112, 219, 220, 221, 222, 223
 Liberaciones inoculativas 149
 Lignina 7
 Ligula 155
Limantria dispar 55
Limonium sp. 206
 Línea base 188, 189
 Lipasas 90
 Líquidos emulsionables 44, 100
 Llanos orientales 37, 93
 Lluvias 60
 Loci isoenzimáticos 65
 Locomoción 148
 Longevidad 147
 Luminosidad 107, 111, 112
Lutzomyia 195
Lutzomyia evansi 193, 194, 195
Lutzomyia longipalpis 193, 194, 195
Lutzomyia trapidoi 195
Lutzomyia youngi 193, 194
 Luz 109, 111
 Luz UV 15
- M**
- Macho 76, 77, 146, 147
Macrodinychus 147
Macrodinychus multispinosus 144
Macrodinychus parallelepipedus 144
Macrodinychus sellnicki 143, 144, 145, 146, 147, 148,
 149, 225, 226, 228, 230, 231
Macrotermes subhyalinus 152
 Madera 151
 Magdalena 7, 8, 65, 66
 Maíz 43, 44, 93, 94, 99, 161, 162, 164, 166, 167, 168
 Malaria 187
 Malatión 8, 23, 24
 Maltosa 193, 194, 195
Malus sp. 172
 Mamíferos 24, 94, 144
 Manchado azul 173
 Manchado rojo 172
 Mancozeb 26
 Mandíbulas 155
Manduca sexta 16, 54, 79
 Manejo agrícola 115
 Manejo ambiental 188
 Manejo broca del café 219
 Manejo de la matriz 115
 Manejo Integrado broca del café 180
 Manejo integrado de plagas 37, 38, 51, 52, 75, 93,
 94, 99, 125, 129, 188
 Manejo integral de la hormiga loca 144
 Manejo silvicultural 177
Manihot esculenta 37
 Manzales 171, 172, 173
 Manzate 24
 Marcadores citogenéticos 157
 Marcadores isoenzimáticos 157
 Marcadores moleculares 157, 159
 Marcadores morfométricos 157
Marilia 200, 201
 Mariposa 108
 Masa fúngica 3
 Maxilas 155
 Mecanismo de acción 152
 Mecanismo de invasión 155
 Mecanismos enzimáticos 80
Meccus mazzottii 133
Meccus pallidipennis 131, 132, 133, 134, 135
Meccus phyllosoma 132, 134
 Medellín 152
 Medidas biológicas 100
 Medidas culturales 75, 100
 Medidas físicas 100
 Medidas químicas 100
 Medio de cultivo 100
 Medio de cultivo líquido 23, 24, 25, 26
 Medio de cultivo sólido 23, 24, 25, 26
 Medio de cultivo suplementado 80
Melanoplus sanguinipes 4
 Melastomataceae 137, 138, 141
 Melezitosa 193, 194, 195
 Meliponini 235
 Melolonthidae 43, 44, 152
 Membrana celular 83
 Membrana peritrófica 152
 Membranas plasmáticas 52
 Mermithidae 180
 Mesostemum 155
 Mesostigmata 143, 144, 147
 Meta 93, 94, 95
 Metabolismo 128
 Metabolismo fisiológico 90

- Metabolitos secundarios 187, 188
 Metabolitos tóxicos 95, 152
 Metamidofos 93
Metarhizium anisopliae 1, 2, 4, 5, 8, 15, 16, 19, 33, 43, 44, 45, 46, 48, 79, 90, 91, 94, 100, 151, 152, 153, 154, 155
Metarhizium anisopliae anisopliae 152
Metarhizium anisopliae major 152
Metarhizium anisopliae var. *acridum* 16
Metarhizium flavoridiae 102
 Metasternum 155
 Metatórax 134
Metarhizium spp. 2, 100
 Metiram 26
 Métodos alternativos 2
 Métodos biológicos 44
 Métodos bioquímicos 158
 Métodos morfométricos 158
Metrichia 197, 200
 México 131, 132, 137, 157, 171, 172, 206
 Micangia 177, 172
 Micelio 3, 45, 128, 151, 155
 Micoherbicidas 129
 Micoinsecticidas 129
 Micoparásitos 129
 Micopatógenos 154
 Micosis 23, 31, 151, 153, 154
 Micoteca 125
 Micotoxinas 125, 126, 127, 129, 152
 Microbiota intestinal 91
Microcerotermes 7, 152
Microcerotermes championi 11
Microcerotermes silvestre 8
 Microcultivos 8
 Microhábitats 122
 Microhimenópteros 132
 Microorganismo biocontrolador 79, 81
 Microorganismo entomopatógeno 7, 44, 79, 80, 87
 Microorganismos 100, 187
 Microorganismos saprófitos 95
Microtermes unicolor 11
 Microvellosidades 51, 52
 Mielófagos 172
 Migración 157, 160
 Minador hoja del tomate 75
 MIP 75, 76
 Mirmecofauna 117, 118, 227
 Mirmecófilo 143
 Modo de acción 87
 Mojojoy 44
 Moléculas bioactivas 129
 Monocultivo 161, 168
 Monoespóricos 127
 Morbilidad 187
 Morfoespecies 117
 Mortalidad 15, 18, 29, 43, 45, 48, 89, 91, 93, 95, 96, 101, 104, 131, 133, 134, 135, 153, 154, 155, 181, 182, 184, 187, 189, 190, 191, 205, 206, 207, 208, 220, 223
 Mortalidad larval 190, 191
Mortoniella 197, 200, 202
 Mosca blanca 29, 35, 40, 41, 42
 Mosca blanca de la yuca 29, 37
 Mosquitos 187, 188, 189, 191, 193
 Muda 134
 Muerte lechosa 44
 Muestreo 116
 Multiespóricos 127
 Municipio de Balboa 219, 220, 221, 222
 Municipio de Belalcázar 219, 220, 221, 222
 Municipio de Buenavista 219, 220, 221
 Municipio de Chitagá 211
 Municipio de El Colegio 225, 226, 227
 Municipio de Florida 144
 Municipio de Guateque 157, 158
 Municipio de Jamundí 37, 38
 Municipio de Lloró 233, 234
 Municipio de Montenegro 219, 220, 221, 222
 Municipio de Mosquera 108
 Municipio de Motavita 57
 Municipio de Quimabaya 220
 Municipio de Riosucio 219, 221, 220
 Municipio de San Sebastián de Buenavista 8
 Municipio de Santa Rosa de Cabal 219, 220, 221
 Municipio de Santander de Quilichao 116
 Municipio de Santuario 220
 Municipio de Somondoco 157, 158
 Municipio de Sutatenza 157, 158
 Municipio de Ventaquemada 107
 Municipio de Zarzal 116
 Municipio El Cerrito 116
 Muscardina amarilla 9
 Muscardina verde 152
 Mymaridae 233, 235, 236
Myrmelachista sp. 141
 Myrmicinae 122, 141, 230, 235
 Myrtaceae 7, 141
 Myzolecaniinae 137
- N**
 N-acetilglucosaminidasa 79, 81, 82, 87, 90, 91
 Nariño 52, 211, 221
Nasutitermes sp. 151, 152, 154, 155, 238
 Nasutitermitinae 151
Nectopsyche 200
Nectria haematococca 175
 Nematicida 129
 Nematóceros 195
 Nemátodos 8, 151, 179
 Neoptera 151
Neotrichia 200
 Neotrópico 198
 Neurópteros 134
Neurospora crassa 16
 Nicho trófico 65
 Nicotina 188
 Nidos 8
 Nitratos 198, 200
 Nitritos 198
 Nivel alozímico 72
 Nivel de divergencia 65, 66
 Nivel evolutivo 69
 Nivel morfométrico 71
 Niveles de identidad Intra e Interespecífico 66
 Niveles de infestación 179, 221, 222
 Niveles divergencia 65
 Niveles de parasitismo 222
 Noctuidae 93, 99, 162, 205, 206, 238
Nodonota caparvula 172
Nodonota irazuensis 172
 Nogal cafetero 151
Nomuraea rileyi 80, 93, 94, 95, 99, 100, 101, 102, 103, 104
 Norte América 172
 Norte de Santander 107, 211
- O**
 Obreros 7, 148, 151, 152, 153
Ochrotrichia 197, 200, 201, 202
Ocotea sp. 137, 138, 141
 Odontoceridae 201
Odontomachus 235, 236, 238
Oecetis 200
Oecetis knutsoni 201
Oecetis n.sp. 201
 Ontogénesis 143, 145

- Ontogenia 152
 Oosporeina 128
 Organismos acuáticos 24
 Organismos transformantes 15
 Organoclorados 26
 Organofosforados 2
 Orinoquia 234
 Orthocentrinae 235
 Orthoptera 2
 Ortofosfatos 199
Oryctes rhinoceros 154
 Oviposición— 1, 60, 61, 111, 131, 132, 133, 134, 135, 211, 216
 Ovoviviparidad 147, 149
 Oxidación de cobre 26
 Oxígeno disuelto 200
Oxydia olivata 172
Oxyethira 200, 201, 202
- P**
- Pachycondyla* sp. 235, 236, 238
Paecilomyces cicadae 151
Paecilomyces fumosoroseus 8, 16, 29, 80, 151
Paecilomyces lilacinus 7, 9
Paecilomyces spp. 7, 30
Paecilomyces verrucosum 9
Paenibacillus larvae 91
 Palinófagos 238
 Palomilla de la papa 108
 Palomilla pequeña 75
 Palpos labiales 155
 Palpos maxilares 155
 Papa 43, 44, 51, 77, 206
 Papa almacenada 107, 108, 110, 111, 112, 211, 212, 213
 Papa criolla 57, 58
Papilo glaucus 160
 Paraguay 137
Paraleyrodes sp. 29
 Parálisis tetánica y flácida 152
 Parámetros económicos 163
 Parámetros físico-químicos 199, 202
 Páramo pluvial montano 171
Paraponera clavata 235, 236, 237, 238
 Parasitados 108, 179, 184
 Parasitismo 109, 110, 111, 112, 131, 132, 134, 143, 145, 149, 184, 219, 220, 221, 222, 223, 225, 226, 228
 Parásito 152, 160, 160
 Parásito de huevos 172
 Parásito exclusivo 149
 Parasitoide 44, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 143, 180, 219, 220, 221, 222, 223, 226, 228, 236, 238
 Parasitoide de huevos 75, 108, 110
 Parásitos 144, 194
Paratrechina 121
Paratrechina fulva 143, 149, 225, 226, 121, 122
 Parcela agroforestal 233, 235, 236, 239
 Parches de bosque 115
 Partenogénesis 147
 Partículas tóxicas 115
 Patilla 161, 162, 163, 164, 166, 167, 168
 Patogenicidad 1, 9, 15, 16, 17, 18, 20, 29, 30, 35, 79, 80, 87, 90, 91, 95, 151, 152, 171, 173
 Patógenos 8, 151, 173
 PCR 17
 Peces 94
 Peines bucales 191
 Penetración 219
Penicillium sp. 80, 151
Penicillium spp. 7, 9, 34
Penisetum clandestinum 45
Pepsis sp. 238
- Pequeños caficultores 219
 Pérdidas económicas 1, 7, 40
 Perforador 172
 Peridomicilio 132, 160
Peridroma sp. 205, 206
 Período larval 205
Periplaneta americana 135
 Perjudiciales 7
 Permetrin 26
 Peroxidasa 127
Persea americana 137, 138, 141, 172
Pestalotia 11
 Pesticidas 131, 188
 Ph 43, 44, 45, 47, 198, 200
 pH adverso 152
Pheidole 121, 227
Phlebotomus ariasi 194
 Phoridae 143, 226, 228
Phthorimaea operculella 75, 77, 108
Phylloicus 200, 201, 202
Phyllophaga obsoleta 48
Phymastichus coffea 219, 220, 221, 222, 225
 Phytoseiidae 131, 134
Picea abies 173
Pichia sp. 171, 172, 175
 Picudito del aliso 172
 Piedemonte llanero 94
 Pieridae 108, 205
 Piezas bucales 155
Pimeliaphilus plumifer 132
Pimeliaphilus gloriosus 132
Pimeliaphilus triatomae 131, 132, 133, 134, 135
Pimeliaphilus zeledoni 135
 Piretrinas 188
 Piretroides 93
 Piretroides sintéticos 2
 Pirimifos-metil 23, 26
 Piriproxifen 37, 38
Pissodes nemorensis 172
Pityophthorus 172
 Plaga 42, 43, 44, 51, 55, 75, 76, 93, 94, 99, 107, 112, 151, 205, 211, 220, 226
 Plaga del aliso 171
 Plagas agrícolas 134
 Plaguicida 26, 44
 Plaguicidas químicos 44
 Plásmido 15, 16, 18, 90
Plasmodiophora 11
 Platypodidae 175
Platypus sp. 175
Plutella xylostella 55, 205
 Pluviosidad 60
 Población doméstica 157, 158, 159, 160
 Población local 65, 71, 73
 Población peridoméstica 157, 158, 159, 160
 Poblaciones alopátricas 65, 66, 69, 71, 72
 Poblaciones silvestres 158
 Polilla 110, 111, 112, 172
 Polilla guatemalteca 107, 108, 112, 211
 Polilla guatemalteca de la papa 4, 57, 58, 62, 63, 64
 Polimorfismo 65, 66, 157, 158
 Polinófagos 233
Polistes 235, 238
Polistes carnifex carnifex 236, 238
 Polistinae 235
 Polvos humectables 44
Polybia 235, 238
Polybia rejecta 236, 238
 Pompilidae 233, 235
 Ponerinae 235
Populus balsamifera 172

- Populus deltoides* 172
 Porcentaje de similitud 69
 Porosidad 43, 44, 45, 46
 Postgenas 155
 Potenciales inductores de virulencia 80
 Prácticas culturales 63
 Precipitación 61, 62
 Preferencia de oviposición 213
 Preformulación 43, 44, 48
 Preformulados 94, 99, 100, 101
 Prementón 155
Premnotypes vorax 46, 48, 51, 52, 54, 55, 57
 Prepupa 205, 219
 Preservación 115
 Prevalencia 187
 Primer registro 137
 Principio activo 45, 47, 100, 101
 Problemas fitosanitarios 161
 Procesos metabólicos 43
 Producción industrial 5
 Producción masiva 44, 45, 93, 96, 99, 100, 101, 104, 108
 Productos comerciales 31, 35
 Productos no convencionales 94
 Proporción de sexos 112, 205, 206
Prorops nasuta 219, 221, 223
 Prosternum 155
 Proteasa pr1A 4, 15
 Proteasas 79, 87, 90
 Protección 122
 Proteína verde fluorescente 15, 16, 17, 18
 Proteínas 51, 53, 55
 Proteínas Cry 51, 52, 55
 Proteínas cuticulares 134
 Proteínas receptoras 55
 Protoninfa 134, 135, 143, 145, 149
 Protoplastos 15, 16, 17
 Prototipos 43, 101, 103
 Prueba de antrona 193, 194, 195
 Prueba de patogenicidad 173, 177
 Prueba *in vitro* 2
 Prueba serológica 129
Pseudacteon 143, 226
Pseudomonas fluorescens 80
Pseudomonas sp. 79
 Pseudomyrmecinae 235
Pseudomymex 238
Psidium 137
Psidium guajava 137, 138, 141
 Psychodidae 193
 Pteregomidae 131, 135
 Pudrición de la madera 171
 Puerto Gaitán 94, 95
 Pupa 148, 175, 190, 205, 207, 219, 220
 Pupa hospedera 149
 Pupa macho 148
 Purificación 95
 Pyralidae 24, 127, 180, 205, 238
Pyrus communis 172
Pythium 11
- Q**
 Quebrada Carrizal 197, 198, 199, 200, 202
 Quebrada Colorada 197, 198, 202
 Quebrada Mamarramos 197, 198, 200, 202
 Quelíceros 145, 146
 Quema 122
 Quibor 76
 Quimoelastasa proteasa 87, 90, 91
 Quimoelastasa proteasa PR-1 2, 79, 81
 Quindío 171, 219, 220, 222
- Quitina 19, 24, 90
 Quitinasas 4, 79, 87, 90
 Quitinización 145
- R**
 Rafinosa 195
 Rama ancestral 65
 RAPD 157, 159, 160
Raphanus sativus 205
 Raza 65, 72, 73
 Receptores de membrana 91
 Receptores olfatorios 188
 Reduviidae 24, 131, 132, 134, 157
 Reforestadora 7
 Refugio 60, 122
 Región andina 55
 Región andino-venezolana 194
 Región neotropical 141, 197
 Región tergal 133
 Regiones intersegmentales 151
 Regresión evolutiva 148
 Regulación poblacional 225
 Reinas 7, 148, 149
 Reinfestación 181, 208
 Relación costo-beneficio 37, 39, 40, 41, 187
 Relación de sexos 206, 207
 Relación evolutiva 65, 71
 Relación filogenética 66
 Relaciones ácaro-hormiga 148
 Relaciones genéticas 159
 Relaciones simbióticas 172
 Rendimiento 38, 40, 41, 161, 163, 167, 168
 Rentabilidad 161, 168
 Repelencia 188
 Reproducción 143, 182
 Reproductivo 71
 Reptiles 11, 144
 Reserva forestal de río Blanco 177
 Residualidad 187, 188, 190, 191
 Resistencia 2, 15, 26, 42, 95, 100, 188, 191
 Resistencia a luz U.V. 16
Reticulitermes flavipes 8, 11
 Retrocruces 72
 Rhabditida 179
Rhammatocerus schistocercoides 2, 83, 91
 Rhinotermitidae 8, 11, 151
Rhizoctonia 11
Rhizopus arrhizus 11
Rhizopus stolonifer 11
Rhodnius 159, 160
Rhodnius colombiensis 158, 159
Rhodnius pallescens 24
Rhodnius prolixus 135, 158, 159
Rhodnius spp. 158
Rhyacionia subtropica 172
Ricinus communis 93, 94, 101
 Riesgo epidemiológico 158, 160
 Riesgo toxicológico 94
 Río Cane 197, 199, 202
 Río Cauca 115, 122, 197, 225, 226, 227, 231
 Río Manzanares 197
 Río Medellín 197
 Riqueza 116, 122
 Risaralda 147, 171, 197, 219, 220, 222, 228
Ritterocereus griseus 66
 Rosalía 66, 69, 72, 73
 Rotación de cultivos 44
 Rotenona 188
- S**
 Sabana de Bogotá 197
 Sacarosa 193, 194, 195

<i>Salix babylonica</i>	172
<i>Salix</i> sp.	172
Salud pública.....	187
Salvado de trigo.....	2, 4, 44, 45, 79, 80, 91, 99, 100, 101, 102
San Onofre.....	24
Santa Marta.....	65, 66, 69, 71, 73
Santander.....	149, 158
Santuario de Fauna y Flora de Iguaque.....	197
Saprófito.....	152
Saprófito facultativo.....	90
Scarabaeido.....	154
Scarabaeoidea.....	44, 90
Scelionidae.....	172
<i>Schistocerca gregaria</i>	152
<i>Schizogenius</i>	228
<i>Sclerotium cepivorum</i>	102
<i>Scobipalpuloides absoluta</i>	75
Scolytidae.....	79, 127, 171, 172, 173, 179, 219
Scolytinae.....	172
<i>Scolytodes alni</i>	172
Scrobipalpula.....	75
<i>Scrobipalpula absoluta</i>	75
<i>Scutelum</i>	134
Sector ganadero.....	1
Selección.....	80, 93, 94
Selección múltiple.....	73
Semi - trópicos.....	65
Semiáridas.....	65
<i>Sericomyrmex</i>	233, 235, 236, 238
<i>Serratia</i>	80, 84, 90, 91
<i>Serratia entomophila</i>	87, 90
<i>Serratia liquefaciens</i>	80, 87
<i>Serratia marcescens</i>	79, 80, 81, 82, 84, 87, 88, 89, 90, 91, 153
<i>Serratia marinorubra</i>	87
<i>Serratia plymuthica</i>	87
<i>Serratia proteamaculans</i>	87, 90
<i>Serratia</i> sp.	4, 79, 87, 91
Siembras comerciales.....	75, 76
Siembras experimentales.....	75, 76
Sierra Nevada de Santa Marta.....	234
Sifón.....	191
Simbiosis.....	171, 177
Sinergismo.....	23
Sinmórficas.....	65
Síntesis de quitina.....	24, 26
Sistema artrópodo-patógeno.....	1
Sistema de galerías.....	8
Sistema de quimiorreceptores.....	195
Sistema enzimático.....	2
Sistema inmune.....	152
Sistemas acuáticos neotropicales.....	200
Sistemas altoandinos.....	199, 200
Sitios de oviposición.....	211, 212
<i>Sitotroga cerealella</i>	108
Smicridea.....	200, 202
<i>Solanum phureja</i>	57
Soldados.....	7, 151, 152, 153, 154
<i>Solenopsis</i>	121, 227, 235, 236, 238
<i>Solenopsis</i> (pos. <i>geminata</i>).....	122, 149, 230, 231
<i>Solenopsis invicta</i>	143, 226
<i>Solenopsis</i> sp.	122
Sólidos disueltos.....	198, 199
Sphingidae.....	95
<i>Spodoptera frugiperda</i>	54, 93, 94, 95, 96, 99, 100, 101, 104, 161, 162, 163, 166, 168, 205
<i>Spodoptera littoralis</i>	151
<i>Spondias mombin</i>	172
<i>Sporotrichiodes</i>	9
Staphylinidae.....	228
<i>Steinemema</i>	179, 183, 184
<i>Steinemema carpocapsae</i>	151
<i>Steinemema</i> sp.	179, 180, 181, 182, 183, 184
Steinemematidae.....	151, 179, 180
Stigmaeidae.....	131, 134
<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	16
<i>Stromatium fulvum</i>	151
Subgrupo <i>buzzatii</i>	65
Subgrupo <i>fasciola</i>	65
Subgrupo <i>hydei</i>	65
Subgrupo <i>mercatorum</i>	65
Subgrupo <i>mulleri</i>	65
Subgrupo <i>repleta</i>	65
Subrazas.....	65, 72, 73
Subtilisina.....	15
Sucre.....	24
Suelo.....	100, 149, 179, 180, 181, 184
Supervivencia.....	99
Sur América.....	107, 137, 167, 211
Susceptibilidad.....	29, 32, 187, 188, 189, 191
Sustratos cuticulares.....	88
Sustratos inductores.....	79
Suturas esternas.....	133
T	
Tamaño de partícula.....	43, 44, 45, 46
Tarsos.....	195
Tasa de infección.....	160
Tasa de oviposición.....	112
Tasa de prevalencia.....	187
Tasa efectiva de migración (Nm).....	160
Tasa fotosintética.....	38
<i>Tecia solanivora</i>	4, 57, 79, 80, 87, 88, 90, 91, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 211, 212, 213, 214, 215, 216
Técnica de aplicación.....	26
Técnica de coriotopos.....	198
Técnica de ordenamiento.....	198
Técnica RAPD.....	158
Tejido graso.....	151, 155
<i>Telenomus alsophilae</i>	172
Teleoginas.....	1, 2, 3
Teleomorfo.....	175
<i>Tenebrio molitor</i>	53, 55
Tergitos abdominales.....	155
Tergitos torácicos.....	155
Temita.....	7, 151, 152, 154, 155
Termitero.....	7, 152
Termitidae.....	7, 8, 9, 151, 154, 238
<i>Tetraleurodes</i> sp.	29
<i>Tetraleurodes ursorum</i>	29
Tetraníquidos.....	131
Textiles.....	151
<i>Theobroma cacao</i>	172
Thomisidae.....	134
Thuringiensen.....	23
Tiametoxan.....	37, 38, 41
Tibouchina.....	141
Tiempo letal.....	191
Tierra fría.....	44
Tipo.....	138
TL50.....	12, 93, 95, 90, 93, 95
Tolerancia media.....	198, 202
Tolima.....	37
Tomate.....	75, 76, 77
Tórax.....	148
Toxicidad.....	26, 100, 128, 152, 191
Toxicología.....	187
Toxina.....	53, 52, 55, 90
Toxinas.....	125, 126, 128, 129, 188

- Tracto digestivo 51, 52, 91
 Trampa de caída 57, 61, 227, 230
 Trampa de embudo 77
 Trampa de feromona 59, 62
 Trampa Shannon 194
 Trampas 57, 58, 60, 75, 77, 173
 Trampas adherentes 57
 Trampas de agua 75, 76, 77
 Trampas de costal 57
 Trampas de insectos 57
 Trampas de malla 60
 Trampas de refugio 60, 61
 Trampas Delta 76, 77
 Trampas Delta adhesivas 75, 76
 Trampas lechosas 62, 63
 Trampas pegajosas 59
 Transformación 15, 16
 Transformación genética 15, 129
 Transformaciones angulares 73
 Transmisión 16, 18, 132, 157, 158, 160, 187
 Transmisor 194
 Trastornos nutricionales 134
 Triadimefon 26
Trialeurodes abutiloneus 29
Trialeurodes vaporariorum 29, 30, 37
Trialeurodes variabilis 29, 37
Triatoma barberi 132
Triatoma brasiliensis 158
Triatoma dimidiata 135, 158, 160
Triatoma infestans 132, 134, 158
Triatoma rubida 132
Triatoma sordida 158
Triatoma venosa 157, 158, 159, 160
 Triatominae 134, 135
 Triatominos* 131, 132, 133, 134, 135, 157, 158, 160
Trichoderma koningii 80
Trichoderma sp. 102
Trichoderma spp. 7, 9
Trichoderma viridae 83
Trichogramma 75, 108, 111
Trichogramma evanescens 111
Trichogramma lopezandiniensis - 107, 108, 109, 110, 111, 112
 Trichogrammatidae 107
Trichoplusia ni 205
 Trichoptera 197, 198, 199, 200, 201, 202
 Triflumuron 23, 24, 25, 26
Trigona 235, 236, 238
 Triona® 191
 Tripanosomas 160
 Tripanosomatidae 132
 Tripanosomiasis americana 131, 132
Triplectides 200, 202
Triplectides flintorum 201
Tritirachium 11
 Trofostasis 145, 149
 Trombidiidae 131
 Trompetas respiratorias 190
 Trópicos 65
 Trozador 93
Trypanosoma cruzi 132, 157
 Tubérculo almacenado 211, 212, 213, 216
 Tubérculos de papa 88, 90
 Túbulos de malpígio 152
 Tulúa 137, 138, 141
 Turbidez 198, 200
Tuta absoluta 75, 76, 77
- U**
 UET 168
 Unión 51, 53
 Unión de proteínas Cry 52
 Uropodidae 143, 144, 145, 149, 226, 231
 Uropodina 144
Ustilago maydis 16
 Uvaricin 188
- V**
 Vaciado estomacal 131
 Vacunas antigarrapatas 2
 Valle de Quibor 75
 Valle del Cauca 30, 37, 38, 94, 115, 116, 121, 137, 141, 144, 149, 197, 226, 231
 Valledupar 2
 Variabilidad 179
 Variabilidad alozimica 65
 Variabilidad enzimática 66
 Variabilidad genética 157, 158
 Variables abióticas 134
 Variables fisicoquímicas 198
 Variación genética 65
 Variación morfológica 137, 138
 Vector 26, 131, 135, 160, 187, 193
 Vector de la malaria 159
 Vector primario 187
 Vector secundario 157, 158
 Vectores de transformación 16
 Vectores de virus 29
 Vegetación nativa 122
 Venezuela 30, 66, 75, 76, 107, 194, 211
 Vertebrados homeotérmicos 100
Verticillium lecanii 5, 29, 30, 33, 35, 79, 80
Verticillium sp. 100, 171, 173, 175, 176
 Vesículas 52, 53, 54
 Vespidae 233, 235
 Vía integumentaria 155
 Viabilidad 43, 45, 47, 48, 101
 Viabilidad de huevos 131, 133, 135
 Villavicencio 93, 94
 Virulencia 1, 2, 4, 5, 15, 79, 87, 90, 91, 96
 Virus de la polyhedrosis nuclear 151
 Voluminosidad 43, 44, 45, 46
 Vuelo 76
- W**
Wasmannia 121
Wasmannia auropunctata 122
- X**
 Xilomicetófagos 172
Xiphocentron 200
Xylosandrus germanus 172
- Y**
 Yponomeutidae 205
 Yuca 29, 31, 37, 38, 42
- Z**
 Zanahoria 44
Zea mays 161
 Zona andina colombiana 51
 Zona gular 148
 Zona papera 211
 Zonas alopatricas 72
 Zonas semiáridas 65
 Zonas templadas 65, 151
 Zonas tropicales 151

ÍNDICE DE AUTORES VOLUMEN 30 (1-2) 2004

.....

A	
Aguilera Germán	157
Aleán C. Irina	29
Alejandro A. Ricardo	131
Aragón Raúl	187
Arboleda V. Jorge W.	125
Arenas Angélica	65
Aristizábal A. Luis Fernando	219
Armbrecht P. Inge	115
Arriero Carolina	99
B	
Banda S. Laguandio del C.	161
Bastidas P. Gilberto	193
Bellotti Anthony C.	29, 37
Benavides O. Efraín	1
Betancourt Luz Ángela	65
Bosa O. Carlos Felipe	79, 87, 93, 99
Bustillo P. Alex E.	171, 179, 219
C	
Caicedo R. Ricardo	131
Cardona C. Diego A.	205
Cedillo R. María Lilia	131
Cerón S. Jairo	51
Chávez Dora	93
Corredor P. Darío	161
Corredor S. Guillermo	161
Cortés V. Hernán	233
Cotes Alba Marina	1, 43, 79, 87, 93, 99
D	
de Polanco María Magdalena	65
Delgado B. Fernando	125
Díaz P. Paula Andrea	225
E	
Enríquez L. Martha Lucía	115
Español A. Jeannette Amparo	57
Espinel Carlos	43
Espitia Claudia	157
G	
Galindo P. Julio Ricardo	57
García M. Paola	1
Gil P. Zulma Nancy	171
Gómez Dina Estela	171
Gómez L. Luis Antonio	143, 225
Góngora Carmenza	15
González Adalberto	193
González Ranulfo	187
González V. Victoria Eugenia	143
Guhl Felipe	157
Gutiérrez G. Ana Isabel	7, 151
H	
Holguín A. Claudia María	29, 37
J	
Jaramillo Carlos	157
Jaramillo N. Jorge E.	205
K	
Kondo Takumasa	137
L	
Lara G. Juan Carlos	179
Lastra B. Luz Adriana	225
Linares F. Gladys	131
Londoño Z. Martha E.	205
López N. Juan Carlos	179
López O. Jesús Francisco	131
López-Ávila Aristóbulo	107, 211
M	
Madrigal C. Alejandro	233
Marín M. Patricia	171
Mariño Paula	43
Martínez O. Wilson	51
Medellín C. Francisco	197
Mejía M. Carlos Gonzalo	219
Mesa C. Nora Cristina	143, 225
Morales Anuar R.	29
Morales Carlos Andrés	187
N	
Neita M. Jhon César	233
O	
Ordóñez Marina	65
Oviedo Milagros	193
P	
París Alejandro	93
Pineda G. Fabio	7, 23
Pinto Néstor	157
R	
Ramírez O. Mónica	197
Ramírez R. Mónica	115
Raymond C. Karim	1
Rincón María Eugenia	197
Rojas B. Fabiola	1
Ronderos J. Vania	1
Rubio C. Silvia Alejandra	107, 211
S	
Salas Jorge	75
Salazar E. Hugo Mauricio	219
Saldarriaga O. Yamillé	7, 23, 151
T	
Torres Lissette	93
U	
Uribe S. Sandra	7
V	
Valencia J. Arnubio	125
Vargas A. Blanca Irene	107, 211
Vargas O. Germán Andrés	225
Vásquez P. Carmen A.	23
Villamizar Laura	1, 43, 93, 99
Vivenes J. Alejandra	193
W	
Williams Michael L.	137
Z	
Zenner de Polanía Ingeborg	225
Zumaquero R. José Lino	131

Contenido

.....

Carmen Elisa Posso
Nov. 2004.

Detección de beauvericina en el hongo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> mediante el uso de anticuerpos policlonales Jorge W. Arboleda V., Fernando Delgado B., Arnubio Valencia J.	125
<i>Pimeliaphilus triatoma</i> (Acari: Pteregosomidae) utilizado como control biológico de <i>Meccus pallidipennis</i> (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones de laboratorio José Lino Zumaquero R., Ricardo Alejandro A., Gladys Linares F., María Lilia Cedillo R., Jesús Francisco López O., Ricardo Caicedo R.	131
A new species of myrmecophilous soft scale insect from Colombia in the genus <i>Akermes</i> Cockerell (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae) Takumasa Kondo, Michael L. Williams	137
Observaciones sobre la biología y comportamiento del ácaro <i>Macrodinychus sellnicki</i> (Mesostigmata: Uropodidae) ectoparásitoide de la hormiga loca <i>Paratrechina fulva</i> (Hymenoptera: Formicidae) Victoria Eugenia González V., Luis Antonio Gómez L., Nora Cristina Mesa C.	143
Observación de la patogenicidad de <i>Metarhizium anisopliae</i> en soldados <i>Nasutitermes</i> sp. (Isoptera: Termitidae) Ana Isabel Gutiérrez G., Yamillé Saldarriaga O.	151
Estudio preliminar de la estructura genética de <i>Triatoma venosa</i> (Hemiptera: Reduviidae) mediante marcadores moleculares RAPD Claudia Espitia, Carlos Jaramillo, Germán Agullera, Néstor Pinto, Felipe Guhl	157
Efecto de la asociación patilla [<i>Citrullus lanatus</i> (Thun) Matsum & Nakai] con maíz (<i>Zea mays</i> L.) sobre la población y el daño causado por tres insectos plaga y el rendimiento de estos cultivos en la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba Laguandio del C. Banda S., Darío Corredor P., Guillermo Corredor S.	161
<i>Corthylyus</i> n. sp. (Coleoptera: Scolytidae), plaga del aliso en el cuenca del río Blanco en Colombia Zulma Nancy Gil P., Alex E. Bustillo P., Dina Estela Gómez, Patricia Marín M.	171
Efecto de entomonemátodos sobre poblaciones de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Coleoptera: Scolytidae), en frutos en el suelo Juan Carlos Lara G., Juan Carlos López N., Alex E. Bustillo P.	179
Evaluación de la actividad larvívora de extractos polares y no polares de acetogeninas de <i>Annona muricata</i> sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i> y <i>Anopheles albimanus</i> (Diptera: Culicidae) Carlos Andrés Morales, Ranulfo González, Raúl Aragón	187
Determinación del azúcar preferencial en la dieta de <i>Lutzomyia evansi</i> (Nuñeztovar) (Diptera: Psychodidae) Gilberto Bastidas P., Milagros Oviedo, Alejandra Vivenes J., Adalberto González	193
Trichoptera del Santuario de Iguaque (Boyacá, Colombia) y su relación con la calidad del agua Francisco Medellín C., Mónica Ramírez O., María Eugenia Rincón	197
Estudios biológicos de <i>Copitarsia</i> sp. (Lepidoptera: Noctuidae) bajo condiciones de insectario Diego A. Cardona C., Martha E. Londoño Z., Jorge E. Jaramillo N.	205
Estudios de hábitos y comportamiento de la polilla guatemalteca <i>Tecia solanivora</i> (Lepidoptera: Gelechiidae) en papa almacenada Blanca Irene Vargas A., Silvia Alejandra Rubio C., Aristóbulo López-Ávila	211
Introducción y evaluación de <i>Phymastichus coffea</i> (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores, a través de investigación participativa Luis Fernando Aristizábal A., Hugo Mauricio Salazar E., Carlos Gonzalo Mejía M., Alex E. Bustillo P.	219
Reconocimiento de enemigos naturales de la hormiga loca, <i>Paratrechina fulva</i> (Hymenoptera: Formicidae), en el municipio de El Colegio (Cundinamarca) y en el valle del río Cauca Germán Andrés Vargas O., Paula Andrea Díaz P., Luz Adriana Lastra B., Nora Cristina Mesa C., Ingeborg Zenner de Polanía, Luis Antonio Gómez L.	225
Los himenópteros asociados a una parcela agroforestal de <i>Borojoa patinoi</i>, <i>Cedrela odorata</i>, <i>Apeiba aspera</i> e <i>Inga spectabilis</i> en la granja de la Universidad del Chocó, municipio de Lloró, Chocó Jhon César Neita M., Hernán Cortés V., Alejandro Madrigal C.	233
Índice de autores volumen 30 (1-2) 2004	241
Índice general volumen 30 (1-2) 2004	242