

Tesis Doctoral

Diabroticina (Coleóptera:Chrysomelidae: Galerucinae) de la Argentina y el Cono Sur: una visión biogeográfica y evolutiva de su biología y la de sus enemigos naturales, en relación con la factibilidad del control biológico de las especies plagas

Cabrera Walsh, Guillermo

2005

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Cabrera Walsh, Guillermo. (2005). Diabroticina (Coleóptera:Chrysomelidae: Galerucinae) de la Argentina y el Cono Sur: una visión biogeográfica y evolutiva de su biología y la de sus enemigos naturales, en relación con la factibilidad del control biológico de las especies plagas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Cabrera Walsh, Guillermo. "Diabroticina (Coleóptera:Chrysomelidae: Galerucinae) de la Argentina y el Cono Sur: una visión biogeográfica y evolutiva de su biología y la de sus enemigos naturales, en relación con la factibilidad del control biológico de las especies plagas". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2005.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) de la
Argentina y el Cono Sur: una Visión Biogeográfica y Evolutiva de
su Biología y la de sus Enemigos Naturales, en Relación con la
Factibilidad del Control Biológico de las Especies Plagas**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas

Guillermo Cabrera Walsh

Director de tesis: Dra. Nora Cabrera

Consejero de estudios: Dr. Axel Bachmann

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Control Biológico de Plagas, USDA-ARS
Bolivar 1559; -B1686EFA- Hurlingham, Buenos Aires; Argentina.

Buenos Aires, 2005

Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) de la Argentina y el Cono Sur: una Visión Biogeográfica y Evolutiva de su Biología y la de sus Enemigos Naturales, en Relación con la Factibilidad del Control Biológico de las Especies Plagas

Jurados:

Tabla de Contenidos

Agradecimientos.....	6
Resumen.....	7
Abstract.....	9
Sinopsis.....	11
1. Biología y Biogeografía de las Diabroticites Sudamericanas.....	11
1.1. Estudios Accesorios: Métodos de Cría en Laboratorio.....	12
2. Enemigos Naturales de las Diabroticites.....	12
3. Los Diabroticina y su Asociación con las Cucurbitáceas.....	13
Parte I. Biología y biogeografía de las Diabroticites sudamericanas.....	16
I.1. Introducción: Diabroticina, presentando el problema y el elenco.....	16
I.2. Objetivos: parte I.....	18
I.3. La Situación Argentina.....	19
I.4. Estrategias Invernantes de los Diabroticina.....	20
I.5. Hospederos Larvales y de Adultos: más Generalizaciones.....	21
I.6. Estudios Accesorios: Métodos de Cría en Laboratorio.....	23
I.6.1. Introducción.....	23
I.6.2. Materiales y Métodos.....	23
I.6.2.1. Obtención de Huevos.....	24
I.6.2.2. Cría de Larvas.....	25
I.6.2.3. Estadísticas Vitales.....	26
I.6.3. Resultados.....	27
I.6.3.1. Colecciones de Campo.....	27
I.6.3.2. Resultados de la Cría en Laboratorio de <i>D. speciosa</i> y <i>D. viridula</i>	27
I.6.3.3. Cría de <i>Acalymma</i> spp. y <i>D. tripunctata</i>	29
I.7. Trabajo General: Materiales y Métodos.....	31
I.7.1. Observaciones de Campo.....	31
I.7.2. Espectro de Hospederos de Oviposición.....	32
I.7.3. Espectro de Hospederos Larvales.....	32
I.7.4. Dormición y Diapausa Embrionaria.....	33
I.7.5. Diapausa Reproductiva.....	35
I.8. Resultados.....	36
I.8.1. Distribución Geográfica.....	36
I.8.2. Plantas Anfitrionas en Nuestra Área de Estudio.....	36
Cucurbitaceae.....	37
Poaceae.....	37
Asteraceae.....	38
Solanaceae.....	38
Fabaceae.....	38
I.8.3. Variaciones Estacionales de Hospederos.....	39
I.8.4. Preferencias de Hospederos Relacionadas con el Sexo.....	40
I.8.5. Resultados de las Pruebas de Laboratorio: Hospederos de oviposición y larvales.....	42

I.8.6. Diapausa e Invernación.....	43
Parte II. Biología de los Enemigos Naturales de Diabroticina.....	45
II.1. Introducción.....	45
II.2. Materiales y Métodos.....	48
II.2.1 Colección y Mantenimiento de Parasitoides y Hospederos.....	48
<i>Celatoria bosqi</i>	49
<i>Centistes gasseni</i>	50
II.2.2. Pruebas de quiescencia e invernación en <i>C. bosqi</i> y <i>C. gasseni</i>	50
II.2.3. Distribución de <i>C. bosqi</i> y <i>C. gasseni</i> , y sus hospederos.....	51
II.3. Resultados.....	51
II.3.1. Resultados de la colección. <i>Celatoria bosqi</i>	51
<i>Centistes gasseni</i>	52
II.3.2. Cría en el Laboratorio. <i>Celatoria bosqi</i>	52
<i>Centistes gasseni</i>	53
II.3.3. Invernación. <i>Celatoria bosqi</i>	54
<i>Centistes gasseni</i>	55
II.3.4. Distribución de <i>Celatoria bosqi</i>	55
II.3.5. Distribución conocida e inferida de <i>C. gasseni</i>	56
Parte III. Estudios Preliminares de Cucurbitaceae Silvestres Sudamericanas: Biología, Cultivo, y Atractancia Sobre las Especies de Diabroticina.....	58
III.1. Introducción.....	58
III.2. Materiales y Métodos.....	60
III.2.1. Colección de Plantas.....	60
III.2.2. Cultivo en Laboratorio.....	60
III.2.3. Extracciones de Raíces y Frutos.....	60
III.2.4. Trampas de Cucurbitacinas.....	61
III.3. Resultados.....	62
III.3.1. Colección de Plantas.....	62
III.3.2. Descripción y Estudios Agronómicos. <i>Cayaponia spp.</i>	62
<i>Cucurbita andreana</i>	63
<i>Cucurbitella asperata</i> y <i>C. duriaei</i>	64
<i>Apodanthera sp.</i>	64
III.3.3. Enemigos Naturales.....	64
III.3.4. Colecciones sobre Telas.....	65
Parte IV. Conclusiones.....	67
IV.1. Cucurbitacinas.....	67
IV.2. Enemigos Naturales.....	68
IV.2.1. Perspectivas de Adaptabilidad de <i>Centistes gasseni</i> y <i>Celatoria bosqi</i>	69
IV.2.2. Otros Parasitoides.....	72
IV.2.3. Parasitoides Secundarios.....	73
IV.2.4. Perspectivas de Uso de Parasitoides en Control Biológico.....	75
IV.3. Límites Geográficos.....	77
IV.4. Selección de Hospederos en Diabroticina.....	79
IV.4.1. Diferentes Estadios, Diferentes Hospederos.....	79
IV.4.2. Efectos de Muestreo y Presuntas Preferencias de Hospedero.....	82

IV.4.3. Papel Hipotético de las Cucurbitaceae en la Biología de las Diabroticites: el Nexo entre la Preferencia por las Cucurbitáceas y las Cucurbitacinas.....	89
Bibliografía.....	93
Tablas.....	113
Figuras.....	137

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis padres, Christine y Miguel, que están siempre al lado mío, pero me educaron para pensar solo. A Daniel Gandolfo y Juan Briano, dispuestos a escucharme y guiarme desde mis primeros aleteos científicos con un resignado sentido del deber. A Hugo Cordo, que depositó en mí más confianza de lo prudente desde muy temprano. A Diana Ohashi (INTA Cerro Azul) y Mike Athanas (ARS-IBL, Beltsville), que me han ayudado en el campo sin perder el humor ni la paciencia, aunque luego me describan como un negrero. A Germán Heck y Federico Mattioli, que me asisten en el campo y en el laboratorio. A Axel Bachmann, “El Doctor”, que conoce a los insectos como nadie, y es generoso como nadie al transmitir ese conocimiento. A Jim Krysan y Jan Jackson, que guiaron mis primeros pasos en el estudio de los Diabroticina, y muchas veces después.

Agradezco también la cooperación de Luiz Salles (EMBRAPA-CPACT, Pelotas), Dirceu Gassen (EMBRAPA-CNPT, Passo Fundo), Laura Dagnino (INTA Saenz Peña), y Don Weber (ARS-IBL, Beltsville) por incontables favores, y a los cientos de productores, escuelas agrotécnicas y seminarios religiosos que me permitieron deambular por sus propiedades durante las más de cien incursiones a sus campos y cultivos.

Quiero agradecer muy especialmente a Nora Cabrera, seria, sabia, y metódica, que ha sido, despojada y generosamente, mi Norte a lo largo de todo el desarrollo de este proyecto.

Dedico este trabajo a Lauchón y a Markie, mis experimentos más difíciles.

Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) de la Argentina y el Cono Sur: una Visión Biogeográfica y Evolutiva de su Biología y la de sus Enemigos Naturales, en Relación con la Factibilidad del Control Biológico de las Especies Plagas.

Palabras clave: *Diabrotica speciosa*, *Diabrotica viridula*, *Diabrotica* spp., *Centistes gasseni*, *Centistes* spp., *Celatoria bosqi*, *Celatoria* spp., cucurbitacinas, control biológico, plagas de maíz, biogeografía de plagas, parasitoides de insectos, hospederos de Chrysomelidae.

RESUMEN. Los crisomélidos del grupo de los Diabroticites incluyen algunas de las especies plagas más importantes del continente americano. Los métodos químicos y de manejo utilizados tradicionalmente han sido: rotación de cultivos para evitar la reinfección de cultivos hospederos, sobre todo en las especies que presentan diapausa embrional; aspersiones de insecticidas para la eliminación de adultos; y principalmente dosis masivas de insecticidas de suelo incluidas en el laboreo del suelo para controlar las larvas. Pero, las limitaciones o prohibiciones en el uso de algunos insecticidas, resistencia a estos, y modificaciones en el comportamiento de oviposición en algunas de estas especies, ponen en jaque la producción de algunos de los cultivos clave en el continente. Esto ha estimulado el estudio de métodos de control y manejo alternativos para las especies plagas. Entre éstos, el control biológico y el uso de otros métodos de control alternativos se presentan como una de las opciones más atractivas. Para ello, sin embargo, se precisa tener un amplio conocimiento de la biología del grupo y de las redes tróficas en las que está inmerso.

En este trabajo se establece que la gama de hospederos larvales y adulto de las Diabroticites de América del Sur templada y subtropical varía según el género, y según el grupo dentro de cada uno de ellos. En el grupo *fucata* de las *Diabrotica* hubo una aparente preferencia por las cucurbitáceas como alimento en adultos, seguido de yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* Kunth), girasol (*Helianthus annuus* L.), y alfalfa (*Medicago sativa* L.). En cambio, las preferencias de hospederos de oviposición y larvales fueron mayormente halladas en fabáceas y maíz. El grupo *virgifera* de *Diabrotica* prefirió el maíz como alimento tanto adulto como larval, y para oviposición. Las *Acalymma*, estaban asociadas en todos los aspectos a las Cucurbitaceae. Los resultados indican que las especies sudamericanas son en general multivoltinas y carecen de diapausa embrional y/o diapausa reproductiva obligada.

Las especies neotropicales de parasitoides de *Diabrotica*, *Celatoria bosqi* Blanchard, *Celatoria compressa* Wulp (Diptera: Tachinidae), y *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), han aparecido con infestaciones naturales comparativamente altas y regulares. Basándonos sobre los elementos climáticos conocidos de las distribuciones de *C. bosqi* y *C. gasseni*, compusimos mapas de sus distribuciones potenciales en América del Norte, la cual sería bastante limitada para *C. gasseni*, pero no así para *C. bosqi*, que cubriría toda el área afectada por las especies plaga, tanto en América del Sur como del Norte.

La distribución geográfica de las Diabroticites sudamericanas subtropicales y templadas también se discute en relación con su asociación con el manejo del paisaje, y sus hospederos, con mayor énfasis en las Cucurbitaceae. De ahí se discutirán las cucurbitacinas en la modulación de esta relación alimentaria. Las cucurbitacinas son triterpenoides oxigenados tetracíclicos, casi exclusivos de las Cucurbitaceae. Estos compuestos le sirven a la planta como defensa contra fitófagos debido a su toxicidad y extremado amargor. Sin embargo, para muchos Luperini, las cucurbitacinas provocan alimentación compulsiva, lo cual ha llevado a experimentar con la idea de reemplazar la aplicación masiva de insecticidas por cebos tóxicos, o aun combinados con patógenos. Se propone la hipótesis de que la asociación farmacofágica con esta familia de plantas podría estar sólo superficialmente relacionada con la biología básica del grupo, y se discute su utilidad en cebos tóxicos. También hemos utilizado extractos de varias plantas adsorbidas a telas de poliéster como métodos de colección y experimentación. Este conocimiento de las Diabroticites sudamericanas se discute en el contexto de las características reproductivas y ecológicas ya conocidas de las especies norteamericanas, con el objeto de discutir las posibilidades de manejar las especies plagas del género, con métodos alternativos al uso indiscriminado de insecticidas.

Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) from Argentina and South America: a Biogeographical and Evolutionary View of its Biology and that of its Natural Enemies as Related to the Feasibility of Biocontrol of the Pest Species

Keywords: *Diabrotica speciosa*, *Diabrotica viridula*, *Diabrotica* spp., *Centistes gasseni*, *Centistes* spp., *Celatoria bosqi*, *Celatoria* spp., cucurbitacins, biological control, maize pests, pest biogeography, insect parasitoids, Chrysomelidae plant hosts.

ABSTRACT. The chrysomelids in the Diabroticites include some of the most important pest species of the American continent. The chemical and management techniques used to date to control them are: crop rotation to prevent re-infection of host crops, especially in the species that display an egg diapause; insecticide sprays against adults; and massive use of soil insecticides included with the sowing to control larvae. However, restrictions for the use of many of these insecticides, resistance phenomena to the same, and modifications in the oviposition behaviour of some of the main pest species, jeopardize the production of some of the staple crops in the continent. This has stimulated the search for alternative management methods. Among these, biological control and other alternative management methods appear to be the most attractive options. For this, however, we require a comprehensive knowledge of the biology of the group, as well as of the trophic webs it shares.

In this work we determine the host ranges of the adults and larvae of the temperate and subtropical South American Diabroticites, according to genera, and to groups within genera. In the *fucata* group of *Diabrotica* there was an apparent preference for cucurbits as adult food hosts, followed by pigweeds (*Amaranthus quitensis* Kunth), sunflower (*Helianthus annuus* L.), and alfalfa (*Medicago sativa* L.). However, larval and oviposition host ranges were found mostly in the Fabaceae and maize. The *virgifera* group of *Diabrotica* preferred maize both as adult and larval host, and for oviposition as well. The species of *Acalymma* were in every aspect associated to the Cucurbitaceae. The results indicate that the South American Diabroticina are generally multivoltine and lack obligate reproductive diapause, or egg diapause.

The Neotropical parasitoids of *Diabrotica*, *Celatoria bosqi* Blanchard, *Celatoria compressa* Wulp (Diptera: Tachinidae), and *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), have been known to appear in high and regular parasitism levels. Based on the known climatic

factors related to the distributions of *C. bosqi* and *C. gasseni*, we composed potential distribution maps for North America. The predicted area proved to be quite limited for *C. gasseni*, but not so for *C. bosqi*, which could cover most of the area affected by the pest *Diabrotica* species, both in South and North America.

The geographical distribution of Diabroticites in the South American temperate and subtropical climates is also discussed in relation to the landscape management, and the distribution of their hosts, particularly of the host cucurbits. We also discuss the role of cucurbitacins in the ancestral formation of this alimentary relationship. Cucurbitacins are tetracyclic oxygenated triterpenoids that are almost exclusive to the Cucurbitaceae. These compounds serve the plant as defense against plant feeders due to their toxicity and extreme bitterness. However, for many Luperini, cucurbitacins elicit compulsive feeding, which has led to the idea of replacing massive insecticide applications by baits produced from these compounds with minor proportions of insecticides, or even pathogens. We propose that the pharmacophagous association of the Diabroticina with cucurbits could be only superficially associated with the basic biology of the group. We also discuss their utility in baits given a sexual polymorphism phenomenon in the attraction for cucurbitacins discussed in this work. We describe and discuss the results of the use of several cucurbit species extracts adsorbed to polyester cloths used as collection and experimentation methods. The accumulated knowledge on the South American Diabroticites presented in this work is discussed in context with the known reproductive and ecological traits of the North American species, in order to analyze the probabilities of managing the pest species with methods other than the indiscriminate use of insecticides.

Sinopsis

1. Biología y biogeografía de las Diabroticina sudamericanas. Se describe la biología reproductiva, y la gama de hospederos larvales y adulto de varias Diabroticites de América del Sur templada/subtropical. Dicha descripción comprende: 1) la comparación de los hospederos alimentarios de adultos, dentro y entre especies durante las distintas estaciones; 2) pruebas de laboratorio de elección de hospederos de oviposición, y de desarrollo larval en varios hospederos conocidos y supuestos; 3) estas pruebas y observaciones se utilizaron para construir tablas de hospederos posibles, y definir rasgos reproductivos generales de los diferentes grupos supraespecíficos. Los resultados indican que varias especies son multivoltinas y carecen de diapausa embrional y/o reproductiva. Datos de campo sugieren que otras especies sudamericanas muestran los mismos rasgos. Las preferencias de hospederos de oviposición mostraron ser similares a los hospederos larvales, y fueron mayormente halladas en fabáceas y maíz. Empero, en el grupo *fuscata* de las *Diabrotica* hubo una aparente preferencia por las cucurbitáceas como alimento en adultos, en tanto estuvieran disponibles en el campo. El yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* Kunth), girasol (*Helianthus annuus* L.), y alfalfa (*Medicago sativa* L.) también fueron hospederos preferidos, pero en menor grado. El grupo *virgifera* de *Diabrotica* prefirió el maíz como alimento tanto adulto como larval, y para oviposición. Las *Acalymma*, estaban asociadas en todos los aspectos a las Cucurbitaceae. Otras especies mostraron grados variables de preferencias, pero en general las cucurbitáceas fueron las hospederas alimentarias preferidas de los adultos, seguidas de varias especies de plantas silvestres, y el maíz fue el hospedero de oviposición más elegido. En tanto las cucurbitáceas fueron consistentemente visitadas por adultos de todas las especies, las del grupo *virgifera* ovipusieron y se desarrollaron exclusivamente en Monocotyledonae. Este conocimiento de las Diabroticites sudamericanas se discute en el contexto de las características reproductivas y ecológicas ya conocidas de las especies norteamericanas. La distribución geográfica de las Diabroticites sudamericanas subtropicales/templadas también se discute en relación con sus hospederos, y su asociación con el manejo del paisaje. Finalmente, se discute el papel de las cucurbitáceas, y en particular de las cucurbitacinas (triterpenos tóxicos producidos por casi todas las cucurbitáceas) en la modulación de esta relación alimentaria. Se propone la hipótesis de que la asociación farmacofágica con esta

familia de plantas podría estar sólo superficialmente relacionada con la biología básica del grupo.

1.1. Estudios accesorios: métodos de cría en laboratorio. Hasta recientemente no había trabajos describiendo métodos adecuados para obtener cantidades de adultos y larvas de Diabroticina sudamericanas necesarias para crías masivas de enemigos naturales, estudios de patógenos, o pruebas de especificidad de enemigos naturales. Con nuestro, método el manipuleo de inmaduros y adultos, y su mortalidad asociada, fueron reducidos al mínimo. Los materiales utilizados fueron de bajo costo, y se redujeron las horas-hombre. En el caso de las *Diabrotica* spp., las larvas se alimentaron con plántulas de maíz, y los adultos con una dieta seca. Se obtuvieron puestas en recipientes con plántulas de maíz envueltas con rectángulos de tela negra humedecida; los huevos se cosecharon mediante chorros de agua de los trozos de tela, y se sembraron en los cultivos de maíz mediante pipetas de plástico. En el caso de las *Acalymma* spp., se desarrollan exclusivamente en raíces de cucurbitáceas. Como las plántulas de las mismas son más delicadas, se adaptaron los métodos a dichas características.

2. Enemigos naturales de las Diabroticites. Varias especies entre los Diabroticina son plagas severas de cultivos en el continente Americano. *Diabrotica speciosa* (Germar), en papa, maní y hortícolas; *Cerotoma trifurcata* (Forster), en fabáceas; *D. viridula* (F.), en maíz; *Acalymma trivittata* (Mannerheim) en cucurbitáceas en América Central y del Norte. Luego, *D. virgifera virgifera* Le Conte y *D. barberi* Smith & Lawrence, son consideradas el complejo de plagas de maíz más importante en América del Norte. Además, *D. v. virgifera*, fue accidentalmente introducida en Europa a fines de los años 1980, y ya adquirió nivel de plaga. Los métodos químicos y de manejo utilizados tradicionalmente han sido: rotación de cultivos para evitar la reinfección de cultivos hospederos, sobre todo en las especies que presentan diapausa embrional; aspersiones de insecticidas para la eliminación de adultos; y principalmente dosis masivas de insecticidas de suelo incluidas en el laboreo del suelo para controlar las larvas. Pero, las limitaciones o prohibiciones en el uso de algunos insecticidas, resistencia a estos, y modificaciones en el comportamiento de oviposición en algunas de estas especies, ponen en jaque la producción de algunos de los cultivos hospederos clave de los Diabroticina plagas. Esto ha estimulado el estudio de métodos de control y manejo alternativos para las especies plagas. Entre éstos, el control biológico se presenta como una de las opciones más atractivas. Sin

embargo, a pesar de ser un grupo numeroso (41 géneros y más de 700 especies) y abundante, se han hallado sólo nueve especies de insectos parasíticos. Los intentos de control biológico hasta el presente involucran mayormente patógenos. Los parasitoides, en cambio, han sido estudiados primordialmente desde el punto de vista zoológico o ecológico, pero no aplicados a campo. Pero las especies neotropicales de parasitoides de *Diabrotica*, *Celatoria bosqi* Blanchard, *Celatoria compressa* Wulp (Diptera: Tachinidae), y *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), han aparecido con infestaciones naturales comparativamente altas y regulares, sugiriendo que pueden ejercer un cierto nivel de control en las poblaciones de sus hospederos, y podrían hacerlo aun más si se liberaran en nuevos ambientes. Hasta el momento se han hallado tres hospederos de *C. bosqi*, *D. speciosa*, *D. viridula*, y la especie rara *Diabrotica* n. sp.?. El parasitismo promedio fue de 2.60%. Se han hallado tres hospederos de *C. gasseni*: *D. speciosa*, *D. viridula*, y *D. limitata*, y el parasitismo promedio fue de 1.98, 0.98, y 5.42, respectivamente. Ambas especies fueron criadas, aunque con ciertas dificultades, en el laboratorio. Experimentos de laboratorio con poblaciones invernantes de *D. speciosa* y su parasitoides, proveyeron evidencia de que ninguna de éstas tiene adaptaciones para pasar el invierno que involucren estadios quiescentes o diapausa. Por otra parte el taquírido ha sido coleccionado prácticamente en toda el área de distribución de su hospedero principal, mientras que *C. gasseni* parece estar limitada a los tres estados sureños de Brasil: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, y Paraná; este del Paraguay, y noreste de la Argentina. Basándonos sobre los elementos climáticos conocidos de las distribuciones de *C. bosqi* y *C. gasseni*, compusimos un mapa de su distribución potencial en América del Norte. Para *C. gasseni* las similitudes están prácticamente limitadas a la porción sudeste de los EE.UU., los estados de Florida y este de Texas, y una porción costera del este y sur de Méjico. En tanto, para *C. bosqi*, se pudo definir una área que incluye toda la costa oeste de los EE.UU., y la mayor parte del sur y sudeste, así como la mayor parte de Méjico exceptuando la península de Baja California, y la región centro-norte de inviernos fríos. Sin embargo, los datos experimentales sugieren que este parasitoide es bastante específico de *Diabrotica* en el grupo *fucata*, y puede ser que no acepte especies en el grupo *virgifera* en general, por lo que podría ser sólo apto para plagas de este grupo dentro del género. *C. gasseni*, en cambio, ovipuso y se desarrolló en tres especies norteamericanas de *Diabrotica* plaga y una de *Acalymma* (Schroder & Athanas, 2002), pero no en especies benéficas de éste u otros grupos de coleópteros.

Esto permite suponer que merece ser considerada para el control biológico de las *Diabrotica* plagas en general. Se requiere más exploración para completar la lista de enemigos naturales de los Diabroticina, y cabe la posibilidad de que más especies sean halladas entre la rica e inexplorada fauna de América del Sud y Central.

3. Los Diabroticina y su asociación con las cucurbitáceas. Las cucurbitacinas son triterpenoides oxigenados tetracíclicos, casi exclusivos de las Cucurbitaceae. Estos compuestos le sirven a la planta como defensa contra fitófagos debido a su toxicidad y extremado amargor. Sin embargo, para muchos Luperini, las cucurbitacinas provocan alimentación compulsiva, lo cual ha llevado a experimentar con la idea de reemplazar la aplicación masiva de insecticidas por cebos tóxicos, o aun combinados con patógenos. Sin embargo, carecemos de estudios acabados sobre la variedad y taxonomía de las especies fuentes de cucurbitacinas, análisis químicos completos de las especies conocidas, diferencias en las respuestas etológicas de las distintas especies, sexos, y clases etarias de los Diabroticina a los distintos compuestos/fracciones de los extractos de cucurbitáceas, y métodos adecuados de cultivo y extracciones de las especies más prometedoras. En el SABCL tenemos varias especies silvestres de cucurbitáceas bajo cultivo que han demostrado alto poder atractivo para los Diabroticina. Estudios agronómicos preliminares indican que las semillas son de fácil germinación, y las plántulas tienen alta supervivencia. Se observa un desarrollo de tubérculos significativo tras dos temporadas de crecimiento. Los sarmientos rastreros producen raíces adventicias en los nodos -cada 30 cm aproximadamente-, que dan nuevas raíces y plantas. El jugo/extracto de los frutos y raíces tiene un alto nivel atractivo, especialmente en telas de poliéster embebidas con los jugos crudos de frutos de *Cayaponia bonariensis* y *Cayaponia tayuya*, que retienen el poder atractivo por unos 3 años, con reducción gradual de este. Las temperaturas de entre 15 y 30°C fueron ideales para coleccionar, particularmente durante la salida y la puesta del sol, que son las horas durante las que los Diabroticina vuelan con más asiduidad. Las cucurbitacinas son en general descriptas como estimulantes de la alimentación, pero no serían atrayentes en tanto se las considera moléculas demasiado grandes para volatilizarse, por lo cual no serían capaces de atraer a lo insectos desde lejos. Más bien, cuando el insecto se aproxima accidentalmente a la fuente del compuesto, lo detectaría de cerca con quimiorreceptores especializados en las piezas bucales. Sin embargo,

nuestras pruebas de campo indican claramente que las muestras frescas o extractos de las raíces/frutos de algunas de las plantas estudiadas demuestran atracción a distancia, además del efecto arrestante descrito con anterioridad. Una hipótesis es que los procedimientos de extracción y purificación de cucurbitacinas cambian sus propiedades, o eliminan compuestos asociados, que complementan la limitada atracción de las cucurbitacinas puras.

Parte I. Biología y Biogeografía de los Diabroticina Sudamericanas

I.1. Introducción: Diabroticina, Presentando el Problema y el Elenco.

La sección Diabroticites (Seeno & Wilcox, 1982) conforma el grupo más grande en la subtribu Diabroticina (Galerucinae: Luperini; las “vaquitas” fitófagas, excluyendo Epilachninae: Coccinellidae), incluyendo al menos 16 géneros válidos. Este grupo, ampliamente distribuido en el continente americano, presenta su mayor diversidad en las áreas tropicales a templadas de América del Sur, contando con los 13 géneros descritos (Bechyné & Bechyné, 1962; 1969; 1970; Cabrera, 2001a; 2001b, Cabrera y Cabrera Walsh, 2004a). Aunque algunos de estos géneros están bien definidos (*Acalymma* Barber, *Buckibrotica* Bechyné & Bechyné, *Cornubrotica* Bechyné & Bechyné), otros (*Diabrotica* Chevrolat, *Paranapiacaba* Bechyné, y *Cochabamba* Bechyné) requieren una revisión completa, ya que presentan una politomía aún irresuelta (datos no publicados). Constituyen un grupo de gran interés taxonómico/ecológico, tanto por su gran diversidad, como por su ceñida asociación con sus plantas hospederas. Además, varias especies son importantes plagas de cultivos.

Los géneros *Diabrotica* y *Acalymma* contienen el mayor número de especies plaga, incluyendo algunas de las más importantes de cultivos extensivos y hortícolas de todo el continente, sea por los adultos comedores de follaje, flores y frutos, y/o las larvas hipogreas comedoras de raíces.

El género *Diabrotica* contiene 339 especies distribuidas en tres grupos, según el arreglo de Smith & Lawrence (1967): *D.* grupo *fucata*, *D.* grupo *virgifera*, y *D.* grupo *signifera*. El grupo *fucata* es el más grande, con más de 310 especies (Wilcox, 1972). Están comúnmente asociadas con cucurbitáceas, ampliamente aceptado como el grupo hospedero primitivo de los Diabroticina. A la vez, este grupo es el más polífago, tanto durante los estadios larvales como adulto. Las especies plaga de este grupo en América del Norte son los llamados escarabajos del pepino (*cucumber beetles*) (*D. balteata* LeConte, *D. undecimpunctata howardi* Barber, y *D. u. undecimpunctata* Mannerheim). En América del Sur, la especie más común y problemática es *D. speciosa* (Germar), llamada vaquita de San Antonio en Hispanoamérica, y vaquinha verdeamarela, patriota, o besourinho das folhas en Brasil. Los adultos de esta especie causan importantes daños en maíz (*Zea mays* L.) (Poaceae), cucurbitáceas, defoliación en soja (*Glycine*

max (L.) Merrill) (Fabaceae), y daños a los órganos tiernos de un sinnúmero de cultivos agrícolas y ornamentales (Christensen, 1943; Link & Costa, 1978). Las larvas dañan severamente las raíces del maíz y trigo, tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) (Solanaceae), y raíces y vainas de maní (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae) (Sarasola *et al.*, 1980; Gassen, 1984).

El grupo *virgifera* posee 18 especies reconocidas, la mitad de las cuales son neárticas y/o centroamericanas (Krysan & Smith, 1987; Cabrera & Cabrera Walsh, 2004b; Cabrera Walsh & Cabrera, 2004). Incluyen los gusanos de las raíces *D. barberi* Smith & Lawrence, *D. virgifera virgifera* LeConte, y *D. v. zea* Krysan y Smith (northern, western, y Mexican corn rootworms respectivamente), que conforman el complejo de plagas de maíz más importantes de América del Norte, en cuanto a las pérdidas anuales en rindes y costos de control (Metcalf, 1986). La única especie en este grupo considerada una plaga en América del Sur es *D. viridula* (F.), frecuentemente confundida con *D. speciosa* por la similitud de coloración y tamaño. *D. viridula* es acusada de causar importantes daños en maíz (Harries, 1975; Olalquiaga, 1980; Krysan, 1986), y porotos (Fabaceae) (Rouschop *et al.*, 1999), y de transmitir el virus del moteado clorótico del maíz en Perú (Reyes & Castillo, 1988).

El conjunto de especies dentro del grupo *signifera* es pequeño (11 especies), exclusivamente neotropical, y carece de especies plaga. No trataremos con este grupo en este trabajo porque poco se sabe de su bionomía, y no se conocen especies del grupo en nuestra área de estudio.

El género *Acalymma* contiene alrededor de 70 especies distribuidas en toda América. Están arregladas en cuatro grupos (Smith & Lawrence, 1967; Wilcox, 1972): *gouldi*, *peregrinum*, *horni*, y *mysticum*. Las especies *A. vittata* (F.) y *A. trivittata* (Mannerheim), también llamadas escarabajos de los pepinos, son importantes plagas de cucurbitáceas en América Central y del Norte. Varias especies en el género pueden alcanzar niveles de plaga en cultivos de cucurbitáceas en América del Sur subtropical y tropical, dañando las flores y frutos tiernos: *A. albidovittata* (Baly), *A. bivittula* (Kirsch), y *A. bruchii* (Bowditch) (datos no publicados). Las especies estudiadas hasta el presente son virtualmente exclusivas de las Cucurbitaceae (Bosq, 1943; Christensen, 1943; D'Araujo e Silva *et al.*, 1968; 1968; Radin & Drummond, 1994; Eben *et al.*, 1997; Cabrera, 1999; Eben, 1999b; Cabrera Walsh, 2003, Cabrera Walsh & Cabrera, 2004).

Otros géneros en la sección Diabroticites hallados en nuestra área de estudio no son económicamente significativos, excepto quizás *Paranapiacaba significata* (Gahan), que puede ser a veces muy abundante en zapallo y calabazas (*Cucurbita* spp., Cucurbitaceae) y girasol (*Helianthus annuus* L., Asteraceae). Sin embargo, sabemos prácticamente nada de su biología (Cabrera Walsh, 2003).

I.2. Objetivos: Parte I

En esta sección se va a delinear lo que sabemos de la selección de hospederos, y distribución geográfica de varios de los Diabroticites sudamericanos mejor representados. Parte de estos datos provienen de observaciones directas de campo, otros de evidencias experimentales. También se añadirá información sobre rasgos reproductivos tales como presencia de diapausa embrionaria y reproductiva. Dichas características se relacionan con la selección de hospederos en tanto pueden representar adaptaciones a la disponibilidad de hospederos, y condicionamientos climáticos.

Ubicaremos esta información en contexto con el conocimiento actual sobre los Diabroticites norteamericanos. En otras palabras, se compararán similitudes y diferencias entre grupos supraespecíficos dentro de la serie en todo el continente, y se intentará definir cuales son los rasgos relacionados con estos niveles taxonómicos, y cuales tienen sólo valor regional.

Las preferencias de hospederos y ecología de *D. speciosa*, *D. tripunctata* (F.) (grupo *fucata*), *D. viridula* (grupo *virgifera*), y varias especies de *Acalymma* fueron estudiadas en el laboratorio. Se comentan también datos relevantes sobre otras Diabroticina coleccionadas en el campo y criadas en el laboratorio. Estas incluyen *Paranapiacaba significata*, *Diabrotica limitata* (Sahlberg) (grupo *fucata*), *Diabrotica rufolimbata* Baly (grupo *fucata*), *Diabrotica panchroma* Bechyné (grupo *virgifera*), y *Diabrotica emorsitans* Baly (grupo *virgifera*).

Los hospederos de adultos fueron registrados en el campo, y comprenden las plantas sobre las que se observó a los insectos alimentándose. Los hospederos larvales presentados, por otra parte, son en parte observaciones de campo, pero primordialmente resultados experimentales.

I.3. La Situación Argentina

El área geográfica comprometida en este estudio incluye la mayor parte de América del Sur templada y subtropical, que se extiende aproximadamente desde 22° hasta 56° S, y de 54° a 72° O, e incluye centro y norte de la Argentina, Uruguay, y el sur de Brasil, Bolivia y Paraguay. Los Diabroticina están de hecho distribuidos en toda América del Sur, a excepción de Chile continental y el sur de la Argentina. El área delimitada se extiende desde el nivel del mar en el Este hasta las elevaciones Andinas en el Oeste, hasta una altura máxima de unos 6500 m. La magnitud y diversidad de alturas explica gran parte de la diversidad de zonas climáticas, las que exhiben la mayoría de las asociaciones florísticas observadas en América del Sur, y tres de las siete regiones descritas para el planeta (Cabrera, 1976; Cabrera & Willink, 1980). Se agrupó la distribución geográfica de los Diabroticina según el arreglo biogeográfico de Cabrera y Willink (1980). El límite sur de los Diabroticina corre a través de las provincias de Río Negro y Neuquén (aproximadamente 40° S). Desde el punto de vista biogeográfico, esto incluye los dominios Amazónico, Andino-Patagónico, y Chaqueño de la región Neotropical. Los climas implicados por estos dominios son altamente variados, abarcando alturas semiáridas templadas a subtropicales, y llanuras templadas, subtropicales y tropicales, con y sin inviernos secos. Este gradiente fitogeográfico permite la producción de una gran variedad de cultivos, tanto irrigados como no. La significación de esto se basa sobre que, tratándose de especies que frecuentan muchos cultivos, su distribución puede estar influida tanto por actividades humanas como por factores climáticos.

La distribución y hospederos de este grupo en América del Sur son decisivos por sus implicancias ecológicas y económicas. Sin embargo, y a pesar de la importancia del grupo, poco se sabe de la biología y hospederos de la mayoría de las especies. Para la mayoría de ellas no se han publicado comentarios posteriores a sus descripciones originales. Asimismo, las referencias previas a hospederos de los galerucinos argentinos se hallaban en listados faunísticos (Hayward, 1941; Bosq, 1943; Christensen, 1943), o trataban con áreas restringidas (Rosillo, 1944). Más recientemente, Cabrera & Roig-Juñent (1998), Cabrera Walsh (2003), Cabrera Walsh & Cabrera (2004), Cabrera & Cabrera Walsh (2004a, b), y Cabrera (2004), contribuyeron con observaciones y listados más completos.

En nuestra área de estudio se han hallado 37 especies en 8 géneros de Diabroticites,

incluyendo un género nuevo para la ciencia (Cabrera & Cabrera Walsh, 2004). El género *Diabrotica* (18 especies) y *Acalymma* (7 especies), son los mejor representados. Pocos datos se tienen, en cambio, de *Paranapiacaba* Bechyné (4 especies), *Isotes* Weise (4 especies), *Anisobrotica* Bechyné & Bechyné, *Cochabamba* Bechyné, *Amphelasma* Barber, y *Platybrotica* Cabrera & Cabrera Walsh (una especie cada una). Estas últimas se hallan limitadas mayormente a la provincia Paranaense del dominio Amazónico (noreste del área de estudio), excepto *P. significata*, *P. duodecimmaculata* (Klug), y *Amphelasma* sp., distribuidas también en el dominio Chaqueño.

I.4. Estrategias Invernantes de los Diabroticina

Hay ciertas estrategias reproductivas y mecanismos de hibernación de las distintas especies de Diabroticites, que permiten ciertas generalizaciones, según consta en trabajos previos, y que se consideran sinapomorfismos de cada grupo. Las especies del grupo *virgifera* estudiadas hasta el momento están generalmente asociadas a climas templados con inviernos rigurosos, climas con sequías estacionales, o grandes alturas, y presentan adaptaciones a condiciones desfavorables, y/o hospederos efímeros mediante diapausa de huevo, y uni o semivoltinismo (Krysan, 1982; Krysan & Smith, 1987). Sin embargo, al menos cuatro especies dentro del grupo, *D. scutellata* Jacoby, de distribución tropical y subtropical en América Central y del Norte, y las sudamericanas *D. panchroma*, *D. viridula* (también distribuida en América Central) y *D. emorsitans*, pasan el invierno como adultos, y son casi con certeza multivoltinas (Eben, 1999a; Cabrera Walsh, 2003). De hecho, *D. viridula* es claramente multivoltina, tiene adultos invernantes, y sus embriones no presentan diapausa, ni capacidad alguna de subsistir quiescentes en condiciones frías por más de cuatro o cinco semanas (Cabrera Walsh, 2001a; 2003).

Las especies del grupo *fucata*, por otro lado, se consideran multivoltinas, y no se sabe de ninguna especie que tenga embriones diapáusicos, sino adultos invernantes (Krysan & Smith, 1987; Meinke & Gould, 1987). Asimismo, al menos *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber entra en una diapausa reproductiva mediada por el fotoperiodo hacia el final del verano (Long, 1954; Elsey, 1988a). Dicha diapausa asegura que las hembras emergidas hacia el final de la temporada cálida lleguen al invierno vírgenes, y estarán por ello listas para poner huevos

recién hacia la primavera siguiente. Sin embargo, este mecanismo diapáusico puede ser anulado por temperaturas altas constantes ($> 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). También, aunque la cópula queda suspendida por fotofases menores de 13 hs, el vuelo y alimentación no se ven afectados (Long, 1954). No se sabe si hay otras especies del grupo *fucata* que manifiesten el mismo tipo de diapausa reproductiva. Es sabido que *D. speciosa* hiberna como adulto (Christensen, 1943; Krysan & Smith, 1987), y los autores que la han criado en laboratorio nunca hallaron indicios de diapausa (Pecchioni, 1988; Silva-Werneck *et al.*, 1995; Avila *et al.*, 2000; Cabrera Walsh 2001a). Pero nuestro conocimiento de la biología invernante de los Diabroticina sudamericanos termina aquí.

Las especies de *Acalymma* del hemisferio norte invernan como adultos, y probablemente presenten una diapausa reproductiva también (Cuthbert *et al.*, 1968; Bach, 1980; Elsey, 1988a; Radin & Drummond, 1994). Sin embargo, y a diferencia de *D. u. howardi*, hay evidencia de que la suspensión de la actividad reproductiva durante la temporada fría afecta a las hembras fecundadas también. De hecho Cuthbert *et al.* (1968), informaron que la colonia de laboratorio completa entró en quiescencia bajo el fotoperiodo otoñal, a pesar de que la temperaturas dentro del recinto donde se hallaban eran comparativamente altas y constantes.

I.5. Hospederos Larvales y del Adulto: más Generalizaciones

Nuestro conocimiento de los hospederos adultos, larvales, y de oviposición también son pasibles de ciertas generalizaciones. Numerosos autores han informado sobre la alta frecuencia de Diabroticites, otros Luperini y los Aulacophorina (Chrysomelidae: Galerucinae: Luperini) del viejo mundo en Cucurbitaceae (para una revisión completa ver Metcalf, 1994, y Eben, 1999b), al punto de definirlos como el grupo hospedero primigenio de estos insectos (Jolivet, 1987). La hipótesis sostiene que la asociación de Luperini, especialmente Diabroticites, con Cucurbitaceae pudo haberse desarrollado mediante un proceso coevolutivo mediado por las cucurbitacinas. Estas son compuestos secundarios que son repelentes para la mayoría de los grupos animales, pero estimulantes alimentarios para muchos Luperini (Metcalf & Lampman, 1989; Metcalf, 1994).

Hay evidencias experimentales que indican que las cucurbitacinas no son un requerimiento nutricional para los Luperini, ni precursores de feromonas (Smyth & Hoffman, 2002), sino un complemento químico, en este caso de uso defensivo. Se sabe, inclusive, que en

dosis muy altas tendrían efectos tóxicos en dichos insectos (Tallamy *et al.*, 1998). Asimismo, sus efectos positivos sobre el *fitness* parecen ser indirectos (Brust & Barbercheck, 1992; Tallamy & Gorski, 1997). Sí, en cambio, hay bastante evidencia de que podrían jugar un papel importante en estrategias antipredatorias, haciéndolas impalatables para éstos por su marcada amargura, y/o como defensa contra patógenos (Howe *et al.*, 1976; Metcalf & Lampman, 1989; Nishida & Fukami, 1990; Tallamy *et al.*, 1997b, 1998; Barbercheck *et al.*, 2003).

El consumo de tejidos o exudados vegetales, pertenecientes o no al hospedero natural, para incorporar un compuesto químico no por su valor alimentario, ni como elemento de reconocimiento de hospedero, sino por su valor ecológico se ha dado en llamar “farmacofagia” (Boppré, 1984, Nishida & Fukami, 1990).

Por otra parte, hay indicios derivados de la filogenia molecular (Gillespie *et al.*, 2003), y la etología (Cabrera Walsh & Cabrera, 2004), que sugieren que la relación con las cucurbitáceas podría no ser atávica, sino debida a una convergencia evolutiva.

Más aun, las larvas estudiadas hasta el presente del grupo *virgifera* de *Diabrotica* muestran una asociación estricta con monocotiledóneas silvestres y cultivadas, tanto en observaciones y pruebas de campo como de laboratorio (Branson & Ortman, 1967; 1970; 1971; Cabrera Walsh, 2003). Y aunque generalistas de adultas, son de todas maneras más abundantes en maíz que en cucurbitáceas, hortalizas, u otras dicotiledóneas (Branson & Ortman, 1967; 1970; 1971; Rouschop *et al.*, 1999; Cabrera Walsh 2003).

Los adultos de las especies del grupo *fucata*, están más claramente asociados con las cucurbitáceas, y son, a la vez, más polífagas durante los estados inmaduros y adulto. La larva radicícola de *D. speciosa*, por ejemplo, es una plaga de maíz, trigo, papa y maní, y puede además desarrollarse en varias Cucurbitaceae y Fabaceae (Cabrera Walsh, 2001b, 2003). Quizás no sea casual que *D. u. howardi* también se desarrolle en varios de estos hospederos (Howe & George, 1966).

En cuanto a las *Acalymma*, la oviposición, al igual que la alimentación adulta y larval se verifica casi exclusivamente en cucurbitáceas. Si bien se citan adultos de *Acalymma* asociados con flores de duraznero, girasol y berenjena (Tabla 1), el autor ha coleccionado más de 5.000 adultos en varias especies de cucurbitáceas, pero sólo 10 especímenes posados -no alimentándose- en plantas de otros grupos, sugiriendo que las citas previas sobre otros

hospederos podrían no ser significativas. Otros géneros, como *Isotes* y *Cochabamba* fueron citados en Cucurbitaceae y Solanaceae. Jolivet & Hawkeswood (1995) también citaron *Citrus* sp. para *Cochabamba*, y Christensen (1943) menciona *P. significata* en citrus, alfalfa y clavel.

Más adelante se presentarán datos del número de asociaciones de especies de Diabroticites (adultos) por familia de hospederos. Es decir, el producto de la suma del número de especies de Diabroticites por el número de especies vegetales sobre las que cada especie se alimenta. (Para una enumeración detallada ver Tabla 1, y Cabrera Walsh, 2003; Cabrera Walsh & Cabrera, 2004; Cabrera & Cabrera Walsh, 2004a, 2004b).

I.6. Estudios Accesorios: Métodos de Cría en Laboratorio

I.6.1. Introducción. Numerosos estudios llevados a cabo en el grupo de los Diabroticina, como pruebas de toxicidad, virulencia de patógenos, biología reproductiva, y muchos otros, han requerido como paso previo, desarrollar métodos de cría en laboratorio. Aunque mantener colonias de adultos en el laboratorio es bastante sencillo, las técnicas de cría de los estados inmaduros, y la obtención de huevos en cantidades constantes y abundantes ha presentado muchos desafíos a lo largo de los años. La mayoría de métodos de cría usados tanto en el pasado como en la actualidad, involucran el uso de hospederos vivos para las larvas, típicamente brotes de maíz, dietas semisintéticas y/o alimentos frescos para los adultos (hojas de poroto, hojas de zapallo, brotes de maíz y trigo, rodajas de calabaza) (Mendoza & Peters, 1963; Howe & George, 1966; Chalfant & Mitchell, 1968; Cuthbert *et al.*, 1968; Skelton & Hunter, 1970; Branson *et al.*, 1975; Jackson, 1986; Schalk, 1986; Campbell & Jackson, 1987; Branson & Jackson, 1988; Branson *et al.*, 1988). Varios intentos de criar larvas de Diabroticina con dietas artificiales han sido exitosos (Sutter *et al.*, 1971; Rose & McCabe, 1973; Marrone *et al.*, 1985; Avila *et al.*, 2000). Sin embargo, han sido menos eficientes y más laboriosos que los métodos con raíces vivas, de modo que en la actualidad se crían en éstas casi sin excepción. Los objetivos de esta sección son describir los métodos utilizados para criar las especies de Diabroticina estudiadas en este trabajo, y sus resultados.

I.6.2. Materiales y Métodos. Los insectos fundadores de las colonias de laboratorio fueron coleccionados en el centro y norte del país, en no menos de 120 hospederas silvestres y

cultivadas; principalmente cucurbitáceas, maíz con polen fresco y espigas inmaduras, yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* Kunth), y girasol. Se utilizaron las técnicas y herramientas habituales en entomología: redes de arrastre, aspiradores y embudos adheridos a un recipiente. Junto con estos métodos se utilizaron telas de poliéster (voile) de 0.25m² asperjados con extractos de raíz o frutos de la perenne silvestre tayuya (*Cayaponia* spp., Cucurbitaceae). Dichas trampas se desplegaban en cada parada de colección por su capacidad atractiva, y se sacudían dentro de redes de arrastre al término del muestreo para capturar las vaquitas posadas en ellos (Cabrera Walsh, 2001a). Una vez en el laboratorio los insectos eran separados por especie, y mantenidos a 25 °C, y un fotoperiodo de 14:10 L: O, en jaulas de 1.5 o 19 litros, de acuerdo con el tamaño de la muestra. Las jaulas tenían una malla mosquitera de plástico número 7 (abertura 2.8 mm) adherida al fondo. Se les suministraba agua en frascos de plástico de 45 ml con mechas de algodón atravesando las tapas, y alimento fresco y dietas merídicas. Los teneales de la F1 de cada especie se mezclaron para asegurar una alta variabilidad genética.

I.6.2.1. Obtención de huevos. La oviposición para todas las especies se obtuvo en recipientes de plástico de 45 ml con tiras húmedas de género de poliéster y algodón, que tenían plantines enraizados en los pliegues. Los plantines utilizados como hospederos de oviposición se obtuvieron incubando 40-50 semillas a 25°C en potes de plástico de 0.5 litros con 3 cm de arena estéril húmeda. Cuando los plantines alcanzaban los 3-7 cm, se desprendía la mata de plantines entera, se la enjuagaba en agua, y se enrollaban por la raíz 5 a 8 plantines en los trapos, y se los metía en el vaso. En el caso de los plantines de cucurbitáceas, que son muy delicados, se los sembraba directamente en los vasos entre los pliegues de tela húmeda. Aunque las vaquitas oviponen en varios sustratos húmedos, como papel, arena, algodón, turba o suelo, la presencia de un hospedero de oviposición incrementa notablemente el número de puestas (Branson *et al.*, 1975; Cabrera Walsh, 2003). Dichos vasos preparados se introducían en las jaulas de adultos reproductivos por el término de 2 a 3 días para permitir puestas abundantes, de edades similares. Al término de este periodo se retiraban y reemplazaban los vasos, se extendían las telas para desprender las plántulas y exponer las puestas. Los huevos se desprendían de las telas con chorros de agua de una pisseta a un vaso de precipitado. El contenido del vaso se colaba por una malla de 0.8 mm para retener restos vegetales, y se permitía que los huevos se asentaran, luego

se eliminaba el sobrenadante con residuos varios en suspensión. Este proceso se repetía varias veces hasta obtener una cosecha relativamente libre de materias extrañas, lo cual es esencial para obtener una estimación precisa del número de huevos cosechados.

El número de huevos sembrados en cada recipiente de cría de larvas se estimaba mediante el siguiente procedimiento. A una pipeta de vidrio de 1 ml se le cortó el pico, se le adhirió un pedazo de malla de poliéster de 0.08 mm de abertura. Los huevos suspendidos en agua se introducían por el cabo de la pipeta con una pipeta con bulbo. Durante todo el procedimiento se hacía vibrar la pipeta para que los huevos se asentaran. Una vez alcanzado el volumen de huevos requerido se los forzaba por la boca de la pipeta con el chorro de una piseta, directamente sobre un recipiente de cría preparado, o sobre papel secante húmedo para su almacenamiento en placas de Petri a 5°C hasta su utilización. Dicha pipeta estaba graduada cada 100 huevos, basado en el volumen de 5 muestras conocidas de huevos de 1-3 días, cuando ya están turgentes tras la puesta, ya que los huevos recientes son blandos y ocupan menos volumen. Como los huevos de las distintas especies tienen diferente tamaño, hubo que repetir el calibrado de la pipeta para cada especie criada.

I.6.2.2. Cría de larvas. Los métodos de cría larval están basados sobre los utilizados para las especies norteamericanas de *Diabrotica*, pero modificadas para cada especie.

Diabrotica speciosa, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *D. limitata* y *Paranapiacaba significata*. Las larvas de estas especies se incubaron en brotes de maíz en potes de 0.5 l con 3-5 cm de una mezcla de suelo (1:1 v/v suelo franco arenoso: turba, 40% agua, 35 minutos de autoclave), tapados, pero con una ventilación de 2 cm cubierta con una malla de poliéster de 0.08 mm. Las semillas utilizadas, alrededor de 60, se remojaron previamente en detergente no iónico por 2 horas, para minimizar el desarrollo de hongos, y en agua 8 a 12 hs, para coordinar la germinación. Semillas y huevos se sembraban a la vez, de modo que a la eclosión de los huevos ya se había desarrollado una importante red de raíces. A los 4-5 días de la siembra en este recipiente, se preparaba otro para reforzar la provisión de raíces de modo de permitir que las larvas completen su desarrollo. Estos recipientes, cilindros bajos de 2 litros, se hacía igual que los otros, pero con las semillas alrededor del borde, para permitir volcar el cultivo inicial entero en el centro, ahorrando así manipuleo trabajoso y dañino del cultivo y las larvas. La transferencia

se hacía a los 8-12 días de iniciada la cría. En estas condiciones las plántulas se desarrollaban vigorosamente y sin necesidad de agregado de agua durante la incubación. Además, la estructura suelta y porosa del sustrato permitía el libre movimiento de las larvas.

Cuando emergían los primeros adultos, el recipiente era colocado sin la tapa en la cabina de emergencia (Fig. 1), una estructura de perfil de hierro y madera terciada con 2 estantes para los recipientes. La cabina remata en una tolva invertida donde encaja un recipiente transparente de 5 l, con tapa. Las vaquitas emergidas suben por las paredes de la cabina hacia la luz y quedan en dicho recipiente, donde además se les provee de rodajas de calabaza como fuente de alimento y agua, hasta que se las cosecha para su uso en cría, pruebas de laboratorio, etc.

Acalymma bivittula, *A. bruchii* y *A. albidovittata*. Estas especies se desarrollan exclusivamente en raíces de cucurbitáceas. Como las plántulas de estas son más delicadas, lábiles, y fenecen más rápido, se adaptaron los métodos a dichas características. El recipiente utilizado se cambió por un recipiente cilíndrico alto de 2 l. Se sembraban 100-120 semillas en 10 cm de la mezcla de suelo descrita anteriormente, pero los huevos no se sembraban hasta que las semillas germinaran. A la eclosión de los huevos, 7-10 días, se sembraban 30-40 semillas remojadas más, y a los 7-10 días nuevamente, de manera de asegurar una provisión permanente de tejidos frescos para las larvas. Por ello los recipientes tienen una ventana de ventilación mucho más grande, 5 cm de diámetro, ya que estas plántulas tienden a producir más amoníaco, por su mayor contenido de nitrógeno, y porque se sembraba el triple de semillas. La mayor ventilación implicaba que la tierra debía ser rehumedecida periódicamente, lo cual debía hacerse cuidando no inundar el fondo del recipiente, o hacer barro. El resto del procedimiento es similar, exceptuando la transferencia a cultivos nuevos.

I.6.2.3. Estadísticas vitales. Se llevaron a cabo pruebas de laboratorio para estimar características poblacionales tales como longevidad media, oviposición media por hembra, curvas de supervivencia (l_x como una fracción de una población inicial 1) (Southwood, 1978), y tiempo previo a la cópula. Grupos pequeños de *D. speciosa* y *D. viridula* (5-8 machos y hembras), y hembras individuales con 5 machos, fueron criados desde el día 1 posterior a la emergencia, en jaulas de 2 litros (seis repeticiones de grupos pequeños, y seis de hembras individuales) a 25°C. Dichas jaulas estaban provistas de dieta seca, bebederos, y vasos de

oviposición con plántulas de maíz. Se registró cada 3-5 días el tiempo hasta la cópula, la oviposición (número de huevos por hembra), y mortalidad, hasta la extinción total de cada colonia.

También se registraron la duración de los estadios inmaduros a 32, 28, 25, 20, 15, y 13°C (± 1 °C), con diferentes números iniciales de huevos (100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, y 1000-1200 huevos por pote), para evaluar la combinación óptima de condiciones de cría, y el mejor periodo para transferir las larvas a cultivos de renovación (5-7 días, 9-11 días, y 13+ días). Los resultados fueron comparados con ANOVA, y comparaciones múltiples post hoc (SYSTAT, 1996).

I.6.3. Resultados

I.6.3.1. Colecciones de Campo. Un total de 99.500 *D. speciosa* fueron coleccionados entre abril de 1994 y abril de 2003. A grandes rasgos, 50% de las vaquitas en cucurbitáceas, 20% en maíz, 10% en girasol, 10% con trampas (utilizadas desde mayo de 1999), y el resto en los hospederos alternativos mencionados en la tabla 1.

Excepto por 12 ejemplares coleccionados en Salta en 1994, *D. viridula* sólo se ha hallado con regularidad en el norte de la Argentina y zonas aledañas desde 1999. Hasta abril de 2003 se habían coleccionado en total 2490 especímenes, 45% en maíz, 40% en girasol, y 15% en cucurbitáceas. *D. tripunctata*, 85 ejemplares hallados en el noreste en cucurbitáceas y maíz aproximadamente en igual proporción. De *Acalymma* spp. se coleccionaron en total 3.600 especímenes, todos en cucurbitáceas (Tabla 1).

I.6.3.2. Resultados de la cría en laboratorio de *D. speciosa* y *D. viridula*. Los huevos de *D. speciosa* refrigerados a 5 ± 0.5 °C fueron viables por un máximo de 60 días, con una disminución constante en la viabilidad a partir del día 10, aunque se obtuvieron tasas de eclosión altas durante ca. 20 días. La eclosión inicial a 25 ± 2 °C promedió 92.6%, y tomó 8 ± 1 días. Los huevos de *D. viridula* eclosionaron en 9 días, y la viabilidad inicial media fue 91%). Por otra parte, los huevos refrigerados sobrevivieron un máximo de 40 días (Fig. 2).

Los galerucinos tienen tres estadios larvales que pueden distinguirse con facilidad, aun a simple vista, por el tamaño de la cápsula cefálica (ancho máximo de la misma para *D. speciosa*:

estadio I, 0.23 mm; estadio II, 0.36 mm; estadio III, 0.56 mm. Para *D. viridula*: estadio I, 0.21 mm; II, 0.34 mm; III, 0.52 mm). A 25°C el periodo larval de *D. speciosa* duró unos 17 días, incluyendo un periodo prepupal inactivo de 2-3 d. El estado pupal duró 6 días, y fue seguido de un periodo de 3 a 5 días durante los cuales los teneales permanecían en la celda pupal, presumiblemente para curtir la cutícula. El periodo hasta el pico de emergencia de adultos de *D. speciosa* (el tiempo que tardaba la mediana de las vaquitas en emerger) fue de 39, 32, 30, 28, y 33 días a 20, 25, 28, 30 y 32°C respectivamente. El periodo de emergencia (lapso entre la emergencia del primero y último adulto) se extendió por 11, 10, 8, 7, y 13 días, respectivamente. Por debajo de 28°C, se detectó una supervivencia larval mayor (estadísticamente no significativa) de modo que se las incubó a 25°C (Tabla 2). A 15°C, pocos individuos lograron completar el desarrollo, y ello en alrededor de 65 días. A 13°C, los huevos no eclosionaban.

El periodo larval de *D. viridula* duró 19 días, más 7 días el pupal, sumando un lapso medio de huevo a adulto de 34 días a 25°C. La emergencia de *D. viridula* a 25°C tomó 9 d., con una mediana al día 36. A 28°C, el periodo de desarrollo se redujo a 31 días, y la emergencia total de todos los adultos se observó en el curso de 5 días.

Los adultos recién emergidos de ambas especies eran amarillentos a pardos claros, y se volvían verdes con manchas amarillas brillantes en 3 días, siempre y cuando se le proveyera de alimentos frescos (follaje, maíz verde, rodajas de zapallo, etc.). Por otro lado, los individuos criados exclusivamente con dietas artificiales o polen, nunca se pusieron verdes.

Las vaquitas de laboratorio pasaban por un periodo de unas dos semanas durante las cuales eran blandas y delicadas, y la mortalidad fluctuaba entre 15 y 24% (Figs. 3 y 4). Pasado este periodo lábil, los ejemplares restantes vivían hasta 100 días, en el caso de *D. speciosa* (? = 55.7 d, SD = 29.1), y 130 d para *D. viridula* (? = 83.4 d, SD = 39.4).

El número de huevos de *D. speciosa* sobrevivientes hasta la adultez difería significativamente según la densidad inicial. El número óptimo de huevos por contenedor, en cuanto a supervivencia, fue de 100-500, con un promedio de 25.9% de los huevos alcanzando la adultez ($F = 5.08$; $df = 5, 59$; $P = 0.001$). El grupo siguiente, 600-800 huevos por pote, mostró una supervivencia significativamente menor que el grupo de 100-200 huevos (14%), pero no fue significativamente menor que en el grupo de 300-500 huevos. Sin embargo, dado que los huevos rara vez son limitantes en la colonia de laboratorio, y tomando en consideración no sólo la

supervivencia, sino también el ahorro de espacio y materiales –en particular la mezcla estéril de tierra-, consideramos que la densidad óptima de huevos es de entre 500 y 800 huevos por recipiente. Finalmente, se observó una tendencia estadísticamente no significativa a una mayor emergencia de adultos en cultivos transferidos al segundo pote de plántulas a los =7 días (Tabla 2).

Para *D. viridula*, se compararon las mismas densidades de huevos por contenedor. El ANOVA mostró diferencias significativas entre grupos ($F = 4.138$; $df = 3, 21$; $P = 0.019$), pero las comparaciones pareadas sólo mostraron diferencias entre el grupo de 800+, y el de 100-600 huevos. De modo que consideramos que el número óptimo es 600 huevos. No se detectaron diferencias significativas entre el tiempo transcurrido hasta la transferencia al cultivo de renovación (5 a 14 días), o la cría entre 20 y 28°C (Tabla 3).

En ambas especies se observaron cópulas entre el 4° y el 6° día. Algunas hembras fueron observadas copulando nuevamente alrededor del 35° día. Cada hembra de *D. speciosa* puso en promedio 1164 huevos ($SD = 324.03$) durante su vida, empezando el día 8 y extendiéndose por un máximo de 85 días. El pico de oviposición se observó entre los días 23° y 49°, aunque el número de huevos cosechados cada 3 días durante ese periodo variaba drásticamente (Fig. 3).

Las hembras de *D. viridula* promediaron 1271 huevos ($SD = 69.4$), empezando el 5° día, y por un máximo de 100 días. La oviposición pico se observó entre los días 13 y 75, pero con una profunda depresión entre los 20 y 40 días, sugiriendo que esta especie presenta dos picos de oviposición, quizá mediada por una segunda cópula. (Fig. 4). En general se verifica que *D. viridula* puso más huevos por hembra, vivió más, tuvo un periodo de oviposición más prolongado, y una menor mortalidad inicial que *D. speciosa* (Fig. 4).

Si bien no se estimó directamente la proporción de hembras que copulaban, las hembras vírgenes aisladas en jaulas de por vida para pruebas de alimentación nunca pusieron huevos. Por lo tanto, basándose en la presunción de que todas las hembras que pusieron huevos habían copulado, se estimó que la proporción de hembras que copulan exitosamente en ambas especies ronda 93.2%. Las hembras que no pusieron huevos eran extraídas de las estadísticas.

I.6.3.3. Cría de *Acalymma* spp. y *D. tripunctata*. Las especies de esta sección son tratadas aparte, porque no se logró con ellas una técnica de cría tan sistematizada. Ya fuera por altos

niveles de irregularidad en los resultados como es el caso de las tres especies de *Acalymma* criadas (*A. bivittula*, *A. albidovittata*, y *A. bruchii*), indicación de que la técnica en sí requeriría ajustes, o por partir de poblaciones iniciales muy pequeñas, como fue el caso de *D. tripunctata*.

A. bivittula se desarrolló exclusivamente en cucurbitáceas de varias especies. En calabaza se obtuvo un éxito (porcentaje de huevos que llegan a adulto) de 24.5% para <300 huevos por pote, y menos de 9% para densidades mayores. La diferencia fue significativa entre el grupo de <300 huevos y los otros ($F = 12.39$; $df = 2, 48$; $P = 4.59$), pero no entre los grupos de 300-500 y 550-800 huevos. La duración total de los estados inmaduros a 25°C fue de 29.5 días (SE = 0.53).

Para *A. bruchii* y *A. albidovittata* los datos son similares: 18% y 12% de éxito, 35 y 29 días de incubación, respectivamente. Sin embargo la cantidad de datos disponibles no permite mayores análisis.

Con *D. tripunctata*, una especie de zonas subtropicales y tropicales húmedas, se obtuvo un éxito – tanto en maíz como en porotos- de 12.7% (SE = 2.54), con una duración media de los estadios larvales de 35.6 días (SE = 0.78). No se la pudo cultivar en cucurbitáceas.

En el caso de *D. limitata* y *P. significata*, se obtuvo desarrollo aparentemente normal de larvas y prepupas, exclusivamente en maíz. Sin embargo, nunca se obtuvieron adultos en el laboratorio, sugiriendo que si bien el maíz es el hospedero más adecuado entre los probados, no sería el hospedero natural, o bien hubo una variable en las condiciones de cría que no permitió una pupación normal. En todo caso, el hecho de que se obtuvo algún desarrollo en maíz, y nada en cucurbitáceas, sugiere que estas especies también están asociadas con gramíneas durante los estadios inmaduros.

En términos generales, *D. viridula* parece ser una especie más vigorosa que *D. speciosa*, mostrando una expectativa de vida promedio y fecundidad mayores, al menos bajo nuestras condiciones de laboratorio (Figs. 3 y 4). Empero, presenta mayores restricciones a la hora de poner huevos a bajas temperatura, o tras periodos de bajas temperaturas. Asimismo, los huevos muestran menor tolerancia a las bajas temperaturas (Fig. 2). De hecho, esto no deja de ser esperable dado que la distribución de *D. viridula* es más tropical/subtropical, con escasa representación en áreas templadas.

Los métodos de cría estandarizados utilizados en la actualidad en el SABCL permiten mantener colonias permanentes de cuatro especies de Diabroticina, *D. speciosa*, *D. viridula*, *D.*

tripunctata y *A. bivittula*, las que proveen ejemplares para cría y experimentos, como evaluación de los espectros de hospederos de parasitoides y patógenos. Contando con instalaciones adecuadas, estos métodos son adaptables a virtualmente cualquier requerimiento de producción, tanto pequeñas cantidades para pruebas de laboratorio como producción masiva.

En estudios previos de cría de *D. speciosa* (Martínez de Carvalho & Hohmann, 1983; Defagó de Pecchioni, 1988; Laguzzi & Novara, 1988; Silva-Werneck *et al.*, 1995), las estadísticas de desarrollo y fertilidad obtenidas fueron notablemente diferentes de las provistas aquí. Las variables tales como fertilidad por hembra, longevidad, porcentaje de eclosión y de adultos emergidos, periodo de preoviposición, y periodo de desarrollo fueron mejorados en todos los casos. Las razones detrás de esto podrían ser que disminuimos consistentemente el manipuleo de estadios frágiles como huevos y pupas, y una nutrición más adecuada. En efecto, las dietas descriptas aquí son nutricionalmente similares al polen, el alimento de primera opción de todas las *Diabrotica* en el campo, en tanto los otros métodos se basan en alimentos frescos (follaje y brotes), con menor valor nutritivo. Este método es también más económico en materiales y horas hombre, y aunque se obtuvieron mejores emergencias de adultos con bajas densidades de huevos (<200), el hecho de que los huevos rara vez son un factor limitante, se halló que densidades medias de 500 a 800 huevos por pote provee una relación alta de huevo a adulto, permitiendo una economía significativa de espacio y materiales.

Las estadísticas obtenidas en este trabajo podrían utilizarse en tablas de vida y fertilidad, y para predecir el comportamiento y aparición de estas especies en el campo. Sin embargo, la extensión de estas estadísticas a una situación natural debería hacerse con precaución, debiendo ser utilizadas meramente como estimaciones conservativas.

I.7. Trabajo General: Materiales y Métodos

I.7.1. Observaciones de Campo. Los insectos utilizados para observaciones y para establecer las colonias de laboratorio se coleccionaron mediante las herramientas y técnicas entomológicas descriptas en la sección I.6.2. Los insectos se contaban, identificaban y sexaban en el laboratorio. Los insectos capturados en las telas trampa se identificaban y sexaban por separado. Asimismo, las hembras tenerales/no curtidas capturadas se disecaban para estimar su madurez ovárica (Eelsey, 1988a). Dichos datos se tomaron como evidencia del número de generaciones anuales de

las diferentes especies.

Finalmente, se analizaron las observaciones de campo de hospederos adultos y cambios de hospedero relacionados con la estación. Los hospederos favoritos de *D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *D. limitata*, *D. panchroma*, *D. emorsitans*, *A. albidovittata*, *A. bivittula*, y *P. significata*, se determinaron en términos del número de escarabajos coleccionados sobre cada especie vegetal por hora. Estas cifras se tradujeron luego a la proporción media de escarabajos por hospedero.

I.7.2. Espectro de Hospederos de Oviposición. Los adultos, tanto de campo como de laboratorio, se conservaron en jaulas de 19 litros. Las especies *Diabrotica speciosa*, *D. viridula*, *D. limitata*, y *D. tripunctata* aceptaron una dieta modificada de Campbell y Jackson (Campbell & Jackson, 1987; Cabrera Walsh, 2001a). Las especies restantes también consumieron dicha dieta, pero sobrevivían mejor en rodajas y plántulas de calabaza (Cabrera Walsh 2003).

Se les proveyó agua y vasos de oviposición según lo descrito en la sección I.6.2., que tenían plantines enraizados en los pliegues. Sobre la base de datos de hospederos adultos y larvales conocidos, propios y publicados, se seleccionaron los siguientes hospederos hipotéticos para correr las pruebas de preferencia de hospederos de oviposición: maíz, cucurbitáceas [calabaza (*Cucurbita pepo* L.), y zapallo (*Cucurbita maxima* Duchesne)], porotos (*Phaseolus vulgaris* L., y *Phaseolus coccineus* L.), soja, maní, yuyo colorado, papa y *Cucurbitella asperata* (Gillies) Walpers (una cucurbitácea silvestre rica en cucurbitacinas). Las pruebas de elección se realizaron sobre cohortes tenebres de las siguientes especies: *D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *A. bivittula*, *A. bruchii*, y *A. albidovittata* de laboratorio, y *D. emorsitans*, *D. limitata*, y *P. significata* de campo. El número total de huevos puestos por recipiente cada 4-5 días a lo largo de la vida de cada cohorte, se calculó a un promedio diario para determinar un orden de hospederos de oviposición favoritos (Cabrera Walsh 2003).

I.7.3. Espectro de Hospederos Larvales. Las larvas de Diabroticina son harto difíciles de hallar en el campo, excepto cuando adquieren niveles de plaga. Esto ha forzado a los autores previos a recurrir a la experimentación para definir sus espectros de hospederos (Branson & Ortman, 1967; 1970; 1971; Branson & Krysan, 1981; Deheer & Tallamy, 1991; Eben *et al.* 1997; Eben, 1999b).

Más aun, los hospederos larvales fueron frecuentemente inferidos a partir de los de adultos (Smith, 1966), una fuente muy poco confiable, especialmente para las *Diabrotica* del grupo *fucata*, como veremos más adelante (Cabrera Walsh, 2003).

A excepción de los hospederos larvales mencionados en la literatura anterior (maíz, maní, trigo y papa para *D. speciosa*, y maíz para *D. viridula*), no se han hallado en el campo otros hospederos cultivados ni silvestres. Esto nunca se tomó, empero, como evidencia concluyente del espectro de hospederos larvales.

Dichos hospederos se ensayaron experimentalmente para *D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *A. albidovittata*, y *A. bivittula* (más evidencia para *D. limitata*, y *P. significata*) en raíces de maíz, maní, porotos, soja, trigo, algodón, yuyo colorado, papa, batata, y varias cucurbitáceas: zapallo, melón (*C. melo* L.), pepino (*C. sativus* L.), calabaza, y *Cucurbitella asperata*, *Cucurbita andreana* Naudin, y *Cayaponia bonariensis* (Miller) Martínez Crovetto, tres especies silvestres ricas en cucurbitacinas. Dicha lista de hospederos putativos se eligió sobre la base de la lista de cultivos frecuentemente afectados por los Diabroticites durante uno o ambos estados (Christensen, 1943; Sarasola *et al.*, 1980; Gassen, 1984; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Cabrera Walsh 2003), o los principales hospederos silvestres de Diabroticina adultos (Contardi, 1939; Cabrera & Roig-Juñent, 1998; Cabrera Walsh, 2003; Cabrera, 2004). Las larvas se incubaron en plantines (o tubérculos brotados en el caso de papas, batatas, *C. asperata* y *C. bonariensis*) en 5 cm de una mezcla aireada de suelo, arena y turba (1: 1: 1), según la técnica explicada en la sección de cría, y en Cabrera Walsh (2001a, 2003).

Asimismo, se muestrearon entre los años 1995 y 2000, cucurbitáceas silvestres y cultivadas, cultivos graníferos y pasturas, y especies silvestres, para hallar nuevos hospederos naturales. Dichas plantas se arrancaban o excavaban, las raíces y el pan de tierra asociado se sacudía sobre una loneta blanca, y se inspeccionaba visualmente la muestra. Cuando se hallaba una larva de crisomélido, se la colocaba en un recipiente con plántulas de maíz en mezcla de tierra, y se la incubaba en el laboratorio hasta su emergencia, para ser identificada.

I.7.4. Dormición y Diapausa Embrional. Se evaluó la capacidad de los embriones de *D. speciosa*, *D. viridula*, y *A. bivittula* para sobrevivir a temperaturas por debajo de la fisiológica. Dicha capacidad se evaluó en huevos obtenidos de adultos de laboratorio, y adultos de campo

coleccionados en otoño/invierno. Para ello se incubaron cinco repeticiones *ca.* 1000 huevos en placas de Petri de 14 cm de diámetro con papel secante húmedo a 5 ± 1 °C. Cada 3 a 5 días se barría con agua de una pisseta a un vaso de precipitado, una submuestra de *ca.* 100 huevos, de donde se transferían a un Petri nuevo acondicionado de igual modo, pero a 25 ± 1 °C. Luego se registraba el porcentaje de eclosión.

La producción de embriones diapáusicos se evaluó en *D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *A. albidovittata*, *A. bivittula*, *A. bruchii*, *D. limitata*, *D. rufolimbata*, y *P. significata*. La diapausa embrional es un rasgo genético de expresión independiente de la temperatura. Si ocurriera diapausa en alguna de estas especies, todos, o la mayoría de los huevos de las muestras tardarían un tiempo inusualmente prolongado para eclosionar (>15 días) a 25°C. Los huevos evaluados se obtuvieron de adultos de laboratorio, adultos de laboratorio criados a la intemperie (aunque protegidos de la lluvia) durante otoño e invierno antes y después del apareamiento, y adultos de campo coleccionados en otoño e invierno. Dichos huevos se incubaron en placas de Petri de 14 cm de diámetro con papel secante húmedo a 25 ± 1 °C, y se registró la duración del estadio y el porcentaje de eclosión. Los huevos evaluados fueron obtenidos en las siguientes condiciones:

- 1- Huevos de 20 colonias de laboratorio de *D. speciosa* y 15 colonias de *D. viridula* criadas desde varias generaciones atrás en una cámara de temperatura y fotoperiodo controlados (25 ± 2 °C, 14:10 Luz: Oscuridad, $60 \pm 10\%$ HR).
- 2- Huevos de seis colonias de laboratorio de *D. speciosa* y cinco colonias de *D. viridula* criadas desde huevos en ambiente exterior durante el otoño y transferidos a las mismas condiciones controladas dos semanas después de emergidos los adultos. Esta prueba fue diseñada para evaluar si los mecanismos de diapausa podían ser gatillados por exposición de la generación progenitora durante su desarrollo a temperaturas y/o fotoperiodos otoñales/invernales.
- 3- 10 colonias de laboratorio de *D. speciosa*, ocho de *D. viridula*, y dos de *A. bivittula* transferidos a condiciones exteriores otoñales inmediatamente después de emerger y antes de copular, para evaluar la posible influencia de dichas condiciones en la producción de embriones diapáusicos.

- 4- Cinco colonias de campo de *D. speciosa*, cinco de *D. viridula*, y una de *D. tripunctata*, *A. albidovittata*, *A. bivittula*, *A. bruchii*, *D. limitata*, *D. rufolimbata*, y *P. significata* coleccionadas durante el otoño/invierno, transferidas a cámara de cría en las condiciones destacadas en el punto 1. Esto permitió evaluar la producción de embriones diapáusicos en adultos de campo sometidos a condiciones ambientales otoñales/invernales.

I.7.5. Diapausa Reproductiva. Se evaluó la aparición de una diapausa reproductiva mediada por el fotoperiodo en *D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, *A. bivittula*, y *A. albidovittata*. El resultado esperado de estas pruebas, si se verificara dicha diapausa reproductiva, sería que con cierto fotoperiodo (un decremento de luz alrededor del fotoperiodo otoñal) las hembras vírgenes no copularan, e incluso la colonia completa entraría en quiescencia, hasta tanto se aumente el fotoperiodo. Considerando los antecedentes conocidos para especies holárticas, las temperaturas moderadas (<25°C) no deberían evitar dicha diapausa. Debe señalarse, empero, que se debió realizar el experimento dentro del espectro de temperaturas a las cuales los insectos mantienen un mínimo de actividad, ya que por debajo de 13-15° permanecen quiescentes, y no podríamos diferenciar inactividad por fotoperiodo de quiescencia por bajas temperaturas. Se llevaron a cabo dos series de experimentos con variaciones de fotoperiodo a 24 ± 1°C. En uno, las colonias se criaron a un fotoperiodo invernal (10:14, L: O), y de otoño tardío (11:13, L: O). En otro experimento colonias de vaquitas tenerales se iniciaron a un fotoperiodo de otoño temprano (12:12, L: O), y se incrementaron las horas de luz de a 10 minutos por semana hasta uno de 11:13 (L: O) fotoperiodo. También se sometieron concurrentemente cultivos de larvas y los adultos resultantes a dichas condiciones, para descartar que la diapausa reproductiva no fuera gatillada durante los estados inmaduros. Las colonias control se incubaron en condiciones estándar (25°C ± 1; 60% ± 10, RH; fotoperiodo = 14:10, L: O). En todos los casos se registró la producción de huevos por hembra desde el inicio hasta la senescencia de las colonias, referidas a las colonias control.

Se obtuvieron datos adicionales de la biología reproductiva de *D. speciosa* mediante la disección de hembras silvestres coleccionadas en distintas épocas del año. Se anotó el estado del ovario, para comparar la proporción de hembras vírgenes, copuladas pero con ovarios sin

desarrollar, y con huevos en desarrollo.

I.8. Resultados

I.8.1. Distribución Geográfica. En términos generales los Diabroticites están distribuidos en los trópicos y subtropicos. No más de 15 especies, cuatro de *Acalymma*, diez de *Diabrotica* y una de *Paranapiacaba* (*P. significata*), se han adaptado a climas templados. Por otra parte, hasta donde sabemos, sólo las especies holárticas del grupo *virgifera* han colonizado permanentemente las regiones templadas con inviernos crudos, preadaptadas en virtud, seguramente, de sus embriones con diapausa (Krysan *et al.*, 1977). Las especies restantes migran a estas áreas cada primavera desde áreas más cálidas.

En América del Sur, sólo *D. speciosa* parece estar completamente adaptada a climas templados, y es por mucho la especie con el área de distribución de espectro ambiental y climático más variado. Sobrevive en zonas con temperaturas mínimas medias invernales, máximas estivales, y medias anuales de entre -3.4 a 11 C°, 24 a 33.4 C°, y 12 a 21.2 C°, respectivamente, y altitudes de entre 0 y 2500 m. La mayoría de estas zonas presentan temperaturas bajo cero en invierno, e incluso nevadas ocasionales. La precipitaciones en esta región van de 134 a 2200 mm anuales (Estadísticas climatológicas, 1985; Cartas de precipitación e temperatura mensais, 1990). No sabemos aún si *D. speciosa* de hecho inverna en las regiones más altas, frías y secas de su distribución. Pero podemos especular con que, al igual que *D. u. howardi* alcanza hasta el sur de Canadá durante sus migraciones primaverales (Krysan, 1986; Elsey, 1988b), *D. speciosa* podría recolonizar dichas regiones durante la temporada benigna. Sin embargo, sí sabemos que se desarrolla y reproduce a lo largo de toda su distribución, al menos del verano al otoño, porque hemos hallado hembras tenerales vírgenes durante el otoño en el norte de la Patagonia (límite sur de su distribución), y fines del verano en las elevaciones del noroeste del país.

Los otros cinco Diabroticites coleccionadas en América del Sur templada, *D. emorsitans*, *P. significata*, *A. bivittula*, *A. albidovittata*, y *A. bruchii*, son bastante raras en las áreas más sureñas (norte de la provincia de Buenos Aires), y están probablemente asociadas a las selvas en galería subtropicales relictuales que llegan hasta acá siguiendo las cuencas del Paraná y el Uruguay.

I.8.2. Plantas Hospederas en Nuestra Área de Estudio. Sumando las citas bibliográficas a nuestras propias observaciones, se cuentan 27 especies de Diabroticites en nuestra área de estudio, en un total de 132 especies de plantas de 24 familias (Tabla 1) (Contardi, 1939; Araujo Marques, 1941; Hayward, 1941; Bosq, 1943; Christensen, 1943; da Costa Lima, 1968; d'Araujo e Silva *et al.*, 1968; 1968). Dichos datos suman un total de 327 asociaciones insecto/plantas. De éstas, hemos observado/confirmado (es decir que hemos atestiguado alimentación) 311 asociaciones (95%). En términos generales, varias cucurbitáceas -especialmente *Cucurbita maxima*-, yuyo colorado, girasol, y maíz formaron el *ranking* de preferencias principal de las vaquitas del cono sur. Debemos recordar, empero, que esta lista seguramente no está completa, pero servirá como indicación de qué grupos vegetales congregan la mayor abundancia y riqueza específica de los Diabroticites.

Cucurbitaceae. Se ha observado un total de 143 asociaciones (más de 44%) en Cucurbitaceae (Cabrera & Roig-Juñent, 1998; Cabrera Walsh, 2003; Cabrera, 2004) (Tabla 1). *Cucurbita* y *Cucumis* son los géneros seleccionados por el mayor número de especies, seguidas de *Cayaponia*, *Lagenaria*, y *Luffa*. *Cucurbita maxima* (zapallo, zapallito) es la especie atacada con mayor frecuencia, especialmente por *D. speciosa*. Más aun, tanto como 70% del total de Diabroticites coleccionados lo fueron en cucurbitáceas y cebos de cucurbitacinas (*ca.* 75000 vaquitas, mayormente *D. speciosa*). En las especies cultivadas la mayoría de las vaquitas se hallan alimentándose de polen y tejidos florales, y en menor medida de frutos tiernos. En las especies silvestres, en cambio, es más común verlas comiendo frutos, a menudo ricos en cucurbitacinas. Rara vez se las halla devorando hojas, y entonces sólo en plantas senescentes, tarde en la temporada cuando ya no quedan flores, y los han madurado y están lignificados.

Aunque queda mucho por estudiar de hospederos de Galerucinae, se acepta generalmente que prefieren las Cucurbitaceae (Jolivet, 1987), y nuestros datos así parecen confirmarlo. En la sección 8.3, sin embargo, se discutirán efectos de muestreo y kairomonales que fuerzan a reexaminar dicha afirmación.

Poaceae. El grupo vegetal siguiente más atacado son las gramíneas, y particularmente el maíz, con 13 especies de vaquitas en 11 plantas hospederas, que definen 27 asociaciones (Tabla 1). De nuevo, los órganos de elección son las flores, en el caso del maíz los estilos inmaduros (barbas) y

flores masculinas con polen. Sin embargo, la representatividad de estos datos es parcial, ya que las especies cultivadas, como el arroz, trigo, maíz, sorgo, etc., han recibido mayor atención que los pastos silvestres. Sin embargo, la importancia del maíz como hospedero de adultos y, más significativamente aun, de larvas, es innegable. De hecho, el maíz y otras gramíneas podrían ser el grupo más importante de hospederos larvales.

Asteraceae. Varios Diabroticites (9 especies) se alimentan de Asteraceae, constituyendo 36 asociaciones (10.3%). Los géneros más frecuentados serían *Dahlia*, *Senecio*, *Solidago*, *Helianthus*, *Anthemis*, *Artemisia*, *Bellis*, *Chrysanthemum* y *Lactuca*. El girasol, en particular, hospeda varias especies (Tabla 1), que fueron halladas, como en la mayoría de las asteráceas, alimentándose en flores.

Solanaceae. Se hallaron 32 asociaciones en esta familia (9.6%), tan bien representada en América del Sur. Diez especies de Diabroticites de los géneros *Diabrotica*, *Paranapiacaba*, *Isotes*, y *Cochabamba* alimentándose primordialmente de especies de *Solanum*, *Lycopersicum*, *Nicotiana*, *Capsicum*, y *Datura* silvestres, tanto flores como follaje, especialmente en otoño e invierno. Estas vaquitas se alimentan de Solanaceae como hospederos secundarios, rara vez causando daños notorios, que sí hacen las Eumolpinae (*Colaspis*) en raíces. *Solanum melongena* L. (berenjena), *S. tuberosum* L. (papa), y *Datura arborea* L. (floripón) son tres de las especies más atacadas.

Hay informes oficiales de que la larva de *D. speciosa* es la plaga principal de papa en el sudeste del Brasil, causando profundas perforaciones en los tubérculos que causan daños cosméticos de consecuencias comerciales, y permiten la entrada de patógenos secundarios. Sin embargo de nuestras muestras de las zonas paperas de Balcarce se desprende que el principal taladro de la papa era *Maecolaspis bridarolli* (Bechyné) (Chrysomelidae: Eumolpinae) (Cabrera *et al.*, 1997). Más aun, no se han hallado en estas regiones larvas de *D. speciosa* en papa, ni se desarrolló bien en ésta en el laboratorio (Cabrera Walsh, 2003).

Fabaceae. Varias vaquitas se alimentan del follaje y flores de especies de esta familia (28 asociaciones, 8.5%). *Medicago*, *Phaseolus*, *Vicia*, *Pisum*, *Glycine* y *Lathyrus* fueron los géneros seleccionados con mayor frecuencia por galerucinos tales como *Diabrotica*, *Acalymma*, *Isotes* y *Paranapiacaba*.

Otros grupos de plantas altamente representados entre los hospederos de Diabroticites

fueron Amaranthaceae, Cruciferae, Rosaceae, y Rutaceae (Tabla 1).

I.8.3. Variaciones Estacionales de Hospederos. Los resultados (resumidos en la tabla 4), indican los hospederos favoritos de las especies más comunes de Diabroticites en términos de la proporción media de vaquitas por hospedero en diferentes estaciones. Nótese que como no todos los hospederos muestreados se hallaron en cada sitio muestreado, las proporciones medias no suman necesariamente 1. Las mejores colecciones primaverales/estivales de *D. speciosa* fueron en flores de zapallito y zapallo (*C. maxima*), yuyo colorado (*Amaranthus quitensis* y *A. hybridus*), y girasol, seguido de alfalfa, maíz, pimiento (*Capsicum* spp.), maní y papa. Este patrón se mantuvo durante el otoño, aunque se hallaron proporciones altas de vaquitas en alfalfa y soja también. En invierno, sin embargo, se observó un cambio drástico de hospederos, hallándose las mayormente en maíz, verduras de hoja -particularmente espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y akusai (*Brassica chinensis* L.-), y en flores de las solanáceas silvestres floripón (*Datura arborea* L.) y tutiá (*Solanum sisymbriifolium* Lamarck).

Las otras especies comunes de Diabroticina también mostraron cambios significativos de hospederos. *D. viridula*, por ejemplo, de distribución tropical y subtropical, fue hallado con mayor frecuencia en flores de maíz que de cucurbitáceas, comparada con *D. speciosa*. En invierno sólo apareció en barbas de maíz. Los datos de colección revelan una especie polífaga, pero más asociada a maíz que *D. speciosa* en sus preferencias alimentarias.

Las especies de *Acalymma* fueron halladas exclusivamente en cucurbitáceas, y no se hallan cucurbitáceas cultivadas en el invierno, de modo que se presume que se vuelven al follaje de las silvestres, de haberlas disponibles, en esta estación, además de permanecer quiescentes debido a las bajas temperaturas. En los ambientes tropicales, por otra parte, las temperaturas templadas constantes pueden permitir que las *Acalymma* hallen hospederos adecuados durante todo el año, tanto silvestres como cultivados, tanto para larvas como para adultos.

Diabrotica limitata fue hallada consistentemente en zapallo y maíz, y sólo maíz en invierno. *Diabrotica emorsitans* (grupo *virgifera*) fue hallada en zapallo, *C. andreana* y tayuya, y en flores de *D. arborea* en invierno. Extrañamente nunca fue hallada en maíz, ni siquiera en sitios donde zapallo y maíz convivieran, y fueran visitados por otras Diabroticina. *Diabrotica panchroma* (también grupo *virgifera*), aunque rara, fue hallada mayormente en maíz, pero a

veces en zapallo también. Los hospederos más comunes de *Paranapiacaba significata* fueron el girasol, zapallo, flores de tutiá, y follaje de yuyo colorado, pero sólo esporádicamente en maíz.

I.8.4. Preferencias de Hospederos Relacionadas con el Sexo. Tanto nuestras pruebas de laboratorio como las colecciones de campo, indican que hay un sesgo sexual muy marcado en la preferencia por cucurbitáceas. La figura 5 muestra el cociente sexual (machos/hembras) de *D. speciosa* coleccionadas en cucurbitáceas y en trampas, comparados con el hallado en otros hospederos (mayormente maíz, yuyo colorado, soja y girasol) desde fines de la primavera hasta fines del otoño. Se observa una clara predominancia de machos en cucurbitáceas, y un incremento notorio de dicho cociente desde el verano (la estación con diferencias menos marcadas) a medida que avanza la temporada. Por otra parte, en las otras hospederas se mantienen proporciones más o menos iguales, a veces con un leve sesgo hacia la predominancia de hembras (Fig. 5). Hay una excepción estacional a este patrón, verificado durante pocos días en la primavera, cuando aparecen los primeros adultos teneales de la nueva temporada. Durante un breve periodo, se ve una gran afluencia de hembras recién emergidas a las flores de cucurbitáceas, con un gradual aumento de los machos, hasta observarse una dominancia completa de éstos. No se observaron fluctuaciones marcadas del cociente de sexos en otros hospederos -no cucurbitáceas-, sugiriendo que las hembras teneales se congregan en flores de zapallito por una motivo que se pierde más adelante.

Un sesgo mucho más marcado aun hacia la dominancia de machos, y una posible explicación para el fenómeno, se observó en las trampas de cucurbitacina (Fig. 5). Dichas trampas se desplegaron en las parcelas donde coleccionábamos con los métodos tradicionales. Al guardar los insectos coleccionados en cada hospedero y en los lienzos por separado, obtuvimos una estimación del cociente sexual en cada hospedero y en trampas para cada sitio. Las trampas atrajeron en promedio 270 veces más machos que hembras de *D. speciosa*. Esto equivale a unas 120 veces el promedio del cociente sexual de todas nuestras muestras desde 1998 hasta el presente. Varias otras especies de Diabroticina también se posaron en los lienzos (Tabla 5) y eran esencialmente todos machos. Las trampas no fueron especialmente atractivas para *Acalymma* spp., o *Cerotoma* spp. (Diabroticina: Cerotomites), en relación con las densidades circundantes.

En pruebas de laboratorio con dieta de adultos, se les proveyó de dieta complementada

con cucurbitacinas (extracto seco de raíz de *Cayaponia* en tres concentraciones: 0.01mg por g de dieta, 0.05mg/g, 0.25mg/g;), con el objeto de evaluar el comportamiento de cada sexo hacia las cucurbitacinas. Cohortes de laboratorio de *D. speciosa* eran alimentadas desde su emergencia con dieta normal (Cabrera Walsh, 2001a) junto con un peso igual de dieta suplementada (Fig. 6). Después de 10 días se reemplazaban las bandejas por otras iguales. Los restos de ambas dietas se pesaron, y el peso de la dieta suplementada (en mg) se sustrajo del de la dieta común, calculándose una ingestión diaria relativa por vaquita, y se graficó sobre tres ejes: tiempo, concentración de cucurbitacinas, consumo comparativo de dieta suplementada (Fig. 7). Se observó en general una gran diferencia en favor del consumo de las dietas suplementadas. Pero dicha diferencia tenía un claro sesgo sexual y una tasa de consumo tiempo dependiente. Ambos sexos consumieron relativamente menos dieta con cucurbitacina con el tiempo, pero los machos consumieron consistentemente más que las hembras. Esto indica que la afinidad, y/o quizá la resistencia a las cucurbitacinas es mayor en machos. Ya Tallamy y Gorski (1997) publicaron resultados indicando una disminución en la sensibilidad hacia las cucurbitacinas en especies de *Acalymma* y *Diabrotica* a medida que aumentaba su exposición a ellas. Tallamy *et al.* (1997a) informaron sobre diferencias entre especies en la atracción por las cucurbitacinas, y por diferentes tipos de cucurbitacinas. Tallamy *et al.* (2000), también mencionan que en la naturaleza son mayormente los machos quienes buscan fuentes ricas en cucurbitacinas, y que transfieren gran parte de estas a las hembras en espermátóforos, ya detoxificadas a dihidrocucurbitacinas, de donde son transferidas a los huevos. Sin embargo, este es el primer informe de dimorfismo sexual en la preferencia por cucurbitacinas en especies sudamericanas, a la vez que una confirmación de que las hembras también prefieren dietas con algún contenido de cucurbitacinas. El muestreo de campo, que evidencia la breve predilección de las hembras tenerales por las cucurbitáceas, sugiere que, al igual que en los experimentos de laboratorio, las hembras “sacian” su necesidad de cucurbitacinas temprano, y de una sola vez, perdiendo sensibilidad por ellas, hasta dejar de preferir las fuentes de cucurbitacina por sobre otras fuentes de alimentos.

Esto podría sugerir que un sistema de cebo tóxico podría no tener los resultados esperados dado que la eliminación de una proporción significativamente mayor de machos podría dejar un banco de hembras grávidas suficiente como para no afectar la población de huevos en suelo, a manera de una mortalidad compensatoria. Sin embargo, debe diferenciarse el

método de captura utilizado en este caso, donde el origen puntual del atractivo hace entrar en juego la sensibilidad de un sexo u otro, de un cebo granulado o en gotas, donde el origen del cebo está disperso parejamente por todo el ambiente. Si bien las hembras despliegan menor sensibilidad o gusto por las cucurbitacinas, la disponibilidad pareja y siempre cercana del cebo en todo el cultivo tratado podría compensar por ello. Debe notarse, además, que rara vez se ve expuesto el insecto a concentraciones tan altas y constantes de cucurbitacinas. Pruebas en este sentido están en camino y se espera tener resultados claros en breve.

I.8.5. Resultados de las Pruebas de Laboratorio: Hospederos de oviposición y larvales.

Como era esperable, las posturas de *D. viridula* en plántulas de maíz fue alrededor de cuatro veces mayor que en el hospedero siguiente, y *D. emorsitans* -también grupo *virgifera*- sólo ovipuso en maíz (Tabla 6) (Cabrera Walsh, 2003). Asimismo, *D. viridula* se desarrolló en maíz y trigo, pero en ninguna de las especies de dicotiledóneas ofrecidas.

D. speciosa y *D. tripunctata* -grupo *fucata*- ovipusieron en varios hospederos, y aunque prefirieron maíz a cualquier otra especie ofrecida, el número de huevos recobrado de cucurbitáceas, maní y porotos fue significativo (Tabla 6). *Diabrotica speciosa* completó los estados inmaduros en todos los hospederos que aceptó significativamente como hospederos de oviposición (es decir, que prefirió a los controles de tela húmeda). No obstante, el zapallo, *C. andreana* y la papa probaron ser hospederos considerablemente menos aptos que los otros hospederos aceptables, ya que la supervivencia fue significativamente menor, y el tiempo de desarrollo mayor (Cabrera Walsh, 2003). *Diabrotica tripunctata* y *D. limitata* aceptaron tanto maíz como zapallo como hospederos de oviposición, pero *D. tripunctata* sólo se desarrolló en maíz y porotos (*Vicia* spp.), y *D. limitata*, también grupo *fucata*, sólo aceptó y se desarrolló en raíces de cucurbitáceas. Las larvas I de ambas especies probaban las raíces de zapallo y maíz, respectivamente, pero morían en 2-3 días.

Los resultados de laboratorio fueron paralelos entre las tres especies de *Acalymma* criadas en el laboratorio, *A. bivittula*, *A. bruchii*, y *A. albidovittata*. Las larvas no sobrevivieron en ninguna planta fuera de las cucurbitáceas silvestres y cultivadas ofrecidas: *C. maxima*, *C. andreana*, *C. pepo*, *C. melo*, y *C. asperata*. Además las puestas fueron alrededor de seis veces más abundantes en plántulas de cucurbitáceas que en las otras especies ofrecidas (Tabla 6)

(Cabrera Walsh, 2003).

Hay algunos indicios experimentales de los hospederos de oviposición y larvales de *P. significata* (Tabla 6). Esta especie aceptó tanto maíz como cucurbitáceas para oviponer, pero se logró desarrollo larval, y sólo hasta tercer estadio, en maíz únicamente. Carecemos aún de datos de los hospederos de oviposición y larvales de los restantes Diabroticites del cono sur.

Es interesante señalar, sin embargo, que independientemente del hospedero de oviposición preferido de una especie dada, siempre eran las plántulas de cucurbitáceas las que más daño sufrían.

I.8.6. Diapausa e Invernación. Los experimentos de invernación no mostraron señal alguna de que hubiera diapausa reproductiva o embrional en las especies verificadas. Ni los adultos coleccionados en otoño/invierno, ni ninguna generación de laboratorio pusieron huevos que expresaran eclosión retrasada o que sobrevivieran quiescentes en condiciones frías (5°C) por periodos prolongados (Cabrera Walsh, 2001a). Asimismo, las colonias de laboratorio incubadas con fotoperiodos cortos depositaron huevos ininterrumpidamente luego de un periodo de preoviposición normal a 25°C. Lo mismo se observó con vaquitas de campo coleccionadas en otoño/invierno y transferidas a cámara de cría a 25°C. En la Fig. 8 (a - d), se grafica la oviposición promedio de las especies investigadas (*D. speciosa*, *D. viridula*, *D. tripunctata*, y *A. albidovittata* y *A. bivittula*), comparadas con colonias control. Ambas curvas son similares. Las figuras 8e y f, describen la oviposición de *D. speciosa* y *A. bivittula* en el tiempo, bajo la influencia de variaciones periódicas de fotoperiodo. Un breve retraso en las colonias de *D. speciosa* y *D. tripunctata* (Fig. 8f) podría ser significativo, pero se requieren más experimentos para confirmar una diapausa reproductiva real. Hasta el momento, entonces, parece que las especies *D. speciosa* y *D. tripunctata*, ambas en el grupo *fucata*, pueden tener diapausa reproductiva. Sin embargo, podemos afirmar que dicha diapausa puede ser suprimida por una continuidad de temperaturas adecuadas. En cualquier caso, es patente que las especies más comunes y ampliamente distribuidas de Diabroticites de América del Sur templada/subtropical no expresan ningún tipo de diapausa obligada, si no que puede ser suprimible en las especies del grupo *fucata*, y totalmente faltante en las del grupo *virgifera*.

Los muestreos estacionales de hembras de *D. speciosa* de campo en los alrededores de

Buenos Aires parecen confirmar esta hipótesis. Los ovarios de hembras preinvernantes se hallaron en su mayoría inmaduros, o con pocos huevos desarrollados residuales. Por otra parte, las primeras hembras coleccionadas en primavera se repartieron entre tenerales con ovarios inmaduros, hembras maduras con huevos en distintos grados de madurez, y muy pocas con algunos huevos viejos inviábiles y ovarios en desarrollo (Fig. 9). De estos datos interpretamos que las hembras preinvernantes maduras no estaban madurando huevos nuevos, y a lo sumo tenían algunos residuales, los cuales fueron hallados “momificados” en hembras primaverales, junto a una nueva tanda de huevos en desarrollo. Por su parte, las hembras jóvenes preinvernantes no comenzaron siquiera a madurar los huevos, a pesar de haberse observado cópulas durante este periodo, lo cual hicieron a partir de la primavera siguiente, observándose una madurez generalizada en los ovarios a partir de mediados de octubre.

Esta diapausa podría no verificarse en los ambientes tropicales, por los motivos expresados con anterioridad. Sin embargo, podría ser el factor clave para permitir que *D. speciosa* tenga una distribución tan amplia, ya que la economía de traslocación de energía normalmente destinada a actividades reproductivas podría mejorar las probabilidades de supervivencia durante los meses inactivos, y escasos de alimentos, del invierno.

Parte II. Biología de los Enemigos Naturales de Diabroticina

II.1. Introducción.

Varias especies entre los Diabroticina son plagas severas de cultivos en el continente Americano. Por ejemplo, *Diabrotica speciosa* se considera la plaga más importante de papa en el sudeste brasileño, de maní en el centro de la Argentina, y una de las plagas hortícolas más dañinas en toda América del Sur; *Cerotoma trifurcata* (Forster), en fabáceas en América del Norte; *D. viridula* (F.), en maíz en los países andinos, *Acalymma trivittata* (Mannerheim) en cucurbitáceas en América Central y del Norte, y *D. virgifera virgifera* Le Conte y *D. barberi* Smith & Lawrence, son consideradas el complejo de plagas de maíz más importante en América del Norte, así como una de las plagas más costosas del continente. Más aun, *D. v. virgifera*, fue accidentalmente introducida en Europa a principios de los años 1990, y rápidamente se está transformando en una plaga tan nociva como lo es en su lugar de origen.

A lo largo de los años se han utilizado una variedad de métodos químicos y de manejo para preservar altos rindes en los cultivos afectados; rotación de cultivos para evitar la reinfección de cultivos hospederos, sobre todo en las especies que presentan diapausa embrional; aspersiones de insecticidas para la eliminación de adultos; y principalmente dosis masivas de insecticidas de suelo incluidas en el laboreo del suelo para controlar las larvas. Sin embargo, reglamentaciones ambientales más estrictas que derivaron en limitaciones o prohibiciones en el uso de algunos insecticidas, subas en los costos de producción, problemas de resistencia a los plaguicidas, y aun modificaciones en el comportamiento de oviposición en algunas de estas especies, ponen en jaque la producción de algunos de los cultivos hospederos clave de los Diabroticina plagas.

El hecho de que *D. v. virgifera* es exótica en Europa, sumado a las novedosas amenazas descriptas arriba, ha estimulado el estudio de métodos de control y manejo alternativos para las especies plagas. Entre éstos, el control biológico se presenta como una de las opciones más atractivas. A excepción de esta introducción reciente, los Diabroticina son todas nativas de su área de distribución, como lo son, en términos generales, los cultivos que atacan. Aunque muchos de estos cultivos tienen en la actualidad una distribución mucho más amplia de lo que tuvieron históricamente -por caso, el maíz, la papa, porotos, y algunas cucurbitáceas cultivadas-,

el hecho es que la ampliación de su distribución es de larga data, gradual, y mayormente no han implicado saltos significativos en el gradiente de ambientes. En otras palabras, no ha mediado entre los lugares de origen de los cultivos afectados -v.g. maíz en Méjico, papa en los Andes, y porotos y cucurbitáceas diversas en ambos- y sus distribuciones actuales, barreras ambientales o geográficas de importancia. Por el contrario, se han desparramado gradualmente y sin solución de continuidad por todo el continente. Estos datos son significativos en cuanto implican que una hipotética ampliación en la distribución de los Diabroticina plagas, pudo ser acompañada por su conjunto de enemigos naturales.

A pesar de ser una subtribu con 41 géneros y más de 700 especies (Blackwelder, 1982; Seeno & Wilcox, 1982), y con especies a menudo muy abundantes y de amplia distribución, se ha hallado un número sorprendentemente pequeño de parasitoides. Sólo nueve especies de insectos parasíticos se han hallado para el grupo en todo el continente, dos de las cuales son generalistas y raras en Diabroticina. Para el género *Diabrotica*, el número de insectos parásitos se reduce a cinco (Sell 1915; Christensen 1943; Fronk 1950; D'Araujo e Silva *et al.*, 1968; Herzog 1977; Arnaud 1978; Krombein *et al.*, 1979; Gassen 1984; Magalhães & Quintela, 1987; Eelsey 1988; Gassen 1989; Eben & Barbercheck, 1996; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Kuhlmann & van der Burgt, 1998; Eben 2002). En cuanto a nematodos, se han citado entre nueve y 12 especies; más dos especies de ácaros parasíticos generalistas.

Aunque la literatura sobre parasitoides de Diabroticina es relativamente escasa, errores de identificación, falta de detalle en varias publicaciones, y citas indiscriminadas de descubrimientos originales han confundido nuestro conocimiento sobre las asociaciones Diabroticina/parasitoide, tanto en cuanto a la verdadera gama de hospederos, como a los hospederos clave de cada especie de parasitoide. Específicamente, algunas especies que aparecen citadas como enemigos naturales de varios Diabroticina, son de hecho muy raros en algunos de ellos, o no han sido halladas nuevamente en estudios posteriores. Esto sugiere que el parasitoide en sí fue mal identificado, o, al menos, que es una asociación circunstancial que no es significativa desde el punto ecológico, por ejemplo, al evaluar el potencial de alguno de estos parasitoides como agente de control biológico.

Los intentos de control biológico hasta el presente involucran mayormente patógenos aislados de Diabroticites (Creighton & Fassuliotis, 1985; Tallamy *et al.*, 1998), u otros grupos

(Wright *et al.*, 1993; Jackson & Brooks, 1995; Jackson 1996; Eilers-Kirk *et al.*, 2000). Los parasitoides, en cambio, han sido estudiados primordialmente desde el punto de vista zoológico u ecológico, pero no aplicados a campo. Esto quizás sea debido a que las *Diabrotica* plagas son nativas en sus zonas de influencia, con excepción de *D. v. virgifera* en Europa, y la incidencia de parasitoides es baja e irregular. En consecuencia no se había tomado seriamente la practicidad y probabilidades de éxito de planes de introducción o liberaciones inundativas de ellos. Además, hemos visto que las *Diabrotica* plagas pertenecen a alguno de dos grupos supraspecíficos, *fucata* y *virgifera*, que tienen diferente biología, al menos en América del Norte. Las primeras son multivoltinas e invernan como adultas, en tanto las del grupo *virgifera* son uni y/o semivoltinas, invernando como embriones en el suelo (Krysan, 1986). Este rasgo dificulta cualquier esquema de biocontrol clásico ya que todos los parasitoides conocidos de Luperini atacan al adulto, por lo cual el agente debe estar adaptado a la desaparición de su hospedero durante la mayor parte del año.

Sin embargo, varias circunstancias concurren para reconsiderar la factibilidad del control biológico: nuevas regulaciones que limitan el uso de insecticidas, junto con la disminución en su efectividad debida a fenómenos de resistencia (Metcalf, 1986; Kuhlmann & van der Burgt, 1998); la disminución progresiva de la rotación de cultivos como alternativa de manejo (Levine & Oloumi-Sadeghi, 1996); y la liberación accidental de *D. v. virgifera* en Europa (Baca, 1994; Kuhlmann & van der Burgt, 1998). Más aun, las especies neotropicales de parasitoides de *Diabrotica*, *Celatoria bosqi* Blanchard, *Celatoria compressa* Wulp (Diptera: Tachinidae), y *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), han aparecido con infestaciones naturales comparativamente altas y regulares (Blanchard, 1937; Eben & Barbercheck, 1996; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Eben, 2002; Schroder & Athanas, 2002; Cabrera Walsh *et al.*, 2003; Cabrera Walsh, 2004), sugiriendo que pueden ejercer un cierto nivel de control en las poblaciones de sus hospederos, y podrían hacerlo aun más si se liberaran en nuevos ambientes.

El braconido *C. gasseni*, ha recibido mucha atención desde su descubrimiento en el estado de Rio Grande do Sul a principios de los 90, tanto por ser el primer himenóptero descubierto en Luperini en América del Sur, como por haberse hallado grandes infestaciones (Heineck-Leonel & Salles, 1997; Schroder & Athanas, 2002; Cabrera Walsh *et al.*, 2003).

En esta revisión se resumirá la información conocida sobre parasitoides de *Diabroticina*, incluyendo datos del autor, pero procurando discriminar los parasitoides claves. También se intentará discutir el potencial de cada especie como agentes de lucha biológica contra cada *Diabroticina* plaga.

II.2. Materiales y Métodos

Los datos originales son de exploraciones en el centro y norte de la Argentina, sur de Brasil y Bolivia, este de Paraguay, y Uruguay. Dicha exploración comprende colecciones en cultivos y plantas silvestres de todas las especies de *Diabroticina* halladas, más otras Chrysomelidae que compartían los hospederos.

En esta revisión se discuten preponderantemente los artrópodos parasitoides, y los nematodos sólo son citados, porque entendemos que éstos tienen un modo de acción más asimilable a los patógenos, en tanto tienen métodos de dispersión más limitados y pasivos. En consecuencia, son adecuados para una aproximación diferente al control biológico, que trasciende los objetivos de esta revisión. Más aun, la mayoría de los trabajos citando nematodos de *Diabroticina* involucran infestaciones experimentales en trabajos de laboratorio o a campo (Munson & Helms, 1970; Peters, 1986; Jackson, 1996).

II.2.1. Colección y Mantenimiento de Parasitoides y Hospederos. Se coleccionaron las vaquitas hospederas entre abril de 1994 y junio de 2002 durante un total de 22 viajes distribuidos entre las cuatro estaciones, en la Argentina, Uruguay, Este paraguayo, y el Sur de Brasil y Bolivia. En cada sitio se capturaban todos los Luperini hallados en las plantas hospederas revisadas mediante técnicas adecuadas a su morfología o delicadeza: aspiradores para flores y cultivos delicados; redes de barrido para pastizales y cultivos resistentes como soja, alfalfa etc.; embudos adheridos a botellas de plástico transparente para flores de girasol, maíz y trepadoras (se coloca el embudo bajo las flores, se las sacude suavemente, lo cual hace que las vaquitas se dejen caer dentro del embudo, y de ahí en la botella). También se utilizaron telas con extractos vegetales atractivos (cebos de cucurbitacina) (Cabrera Walsh, 2001a), que incitan a varias especies de vaquitas a alimentarse compulsivamente en las telas, los cuales se sacuden dentro de redes para desprenderlas y capturarlas. Los insectos eran transportados en jaulas de 2 litros con

mangas de poliéster (hasta 500 vaquitas por jaula) con rodajas de calabaza como fuente de alimento y agua. Una vez en el laboratorio los insectos eran separados por especie, y mantenidos a 25 °C, y un fotoperiodo de 14:10 L: O, en las jaulas de 1.5 o 19 litros mencionadas en el punto I.6.2. Las jaulas tenían una malla mosquitera de plástico número 7 (abertura 2.8 mm) adherida al fondo. Dicha malla permitía el paso de prepupas y nematodos que emergieran de las vaquitas a una cama de arena húmeda sobre la que estaba posada la jaula, mas no la fuga de vaquitas. Los Luperini adultos eran alimentados con una pasta basada en la fórmula de Campbell & Jackson (1987), y provistas de agua en vasos de plástico de 45 ml con mechas de algodón atravesando la tapa (Cabrera Walsh, 2001a).

Los parasitoides se incubaron en frascos de plástico cerrados de 460 ml con un fondo de yeso humedecido tapado con una cama de turba de *Sphagnum* de ca. 1 cm. Esta combinación lograba mantener y equilibrar las condiciones de humedad, y a la vez la turba ayuda a controlar la proliferación de hongos y provee refugios para pupariar, tejer capullos o mudar. Los parasitoides que emergían se enfriaban en una placa de Petri inmersa en hielo, e identificaban bajo un estereomicroscopio a 16X. Los hiperparasitoides eran registrados y descartados, y los parasitoides se transferían a tubos de vidrio de 250 cm³ con mangas de gasa de poliéster, una hembra cada 6-8 machos, para inducir apareamiento. Las condiciones de cría fueron 25 ± 1°C, durante las 14 hs de luz, y 8 ± 1°C durante las horas de oscuridad. De esta manera se logró coordinar la emergencia de adultos para que fuera durante la mañana.

Celatoria bosqi. Cuando los machos adultos emergían, se enfriaba el frasco, y se los transfería a jaulas de mosquitero de 50 l (no más de 20 por jaula). Los parasitoides eran alimentados con azúcar rubio, rodajas de calabaza, y bebederos como los descritos con anterioridad. También se asperjaba azúcar rubio 30% en las paredes de la jaula. Cuando emergían hembras, se las transfería a frascos ventilados de plástico de 460 ml apenas estiraban las alas, con 3 a 5 machos maduros (más de 4 días), hasta que se observaba la cópula. Las hembras eran luego incubadas en dichos frascos, provistas con azúcar 30%, por 5 días, para permitir la maduración de los huevos, y luego se las transfería a jaulas de mosquitero de 50 l, en las mismas condiciones descritas arriba, donde se les ofrecían 6 a 10 adultos de *Diabrotica*.

Centistes gasseni. Los parasitoides fueron incubados a temperatura constante 23 °C o 26 °C, 65 ±10% HR, y un fotoperiodo de 14:10 L: O, en frascos de plástico con fondo de yeso cubierto de turba húmeda. Se les proveía algodón embebido en agua azucarada. Apenas se apareaba la hembra se introducían 6-8 vaquitas, las cuales eran reemplazadas apenas eran atacadas, para evitar oviposiciones múltiples.

Los escarabajos atacados eran retirados con un aspirador, e incubados en las mismas condiciones que las colonias de laboratorio. Se registró la duración del estadio larval (t desde oviposición hasta emergencia de la larva pupariante), y pupal a 25 °C, 14: 10 L: O, y 60 % RH para ambos géneros de parasitoides.

II.2.2. Pruebas de quiescencia e invernación en *Celatoria bosqi* y *Centistes gasseni*. Cinco grupos de cinco capullos de *C. gasseni* y cinco de puparios de *C. bosqi* se conservaron en frascos de plástico ventilados en una cama de turba húmeda a 8 ? 21C, y fotoperiodo de 14:10 L: O, para evaluar su capacidad de permanecer quiescentes en condiciones frías. Cada 5-7 días se transfería un grupo a una cámara a 251C, y se registraba el número de adultos emergidos. Dicho experimento se repitió tres veces, y los datos fueron tratados en común.

Además se criaron muestras de vaquitas de campo en condiciones ambientales bajo un quincho abierto durante el otoño e invierno de las afueras de Buenos Aires (t1 media anual, 16.51C; t1 media mínima, 11.11C; altitud, 22 m) de modo de dilucidar el patrón de invernación de los parasitoides. Los escarabajos se acondicionaron en las jaulas utilizadas rutinariamente, bajo un quincho donde estaban protegidos de la lluvia, pero expuestos a todas las variaciones de humedad y temperatura del invierno bonaerense. De cada colonia se separaba aproximadamente la mitad, que era incubada en cámara de cría (25 ? 11C, 14:10 L: O). Luego se registró el número, intervalos de aparición, y lapso de emergencia del hospedero y del parásito adulto, para obtener proyecciones de la dinámica de invernación y recolonización de *Centistes gasseni* y *Celatoria bosqi*. Además, una vez al mes se separaban pequeñas submuestras de cada colonia y de los parásitos recién emergidos de sus hospederos, y eran transferidas a cámara de cría para detectar señales de diapausa facultativa, ya fuera en la emergencia de los parasitoides adultos o en el desarrollo dentro de sus hospederos: retrasos en la emergencia, o suspensión del desarrollo a temperaturas fisiológicas.

II.2.3. Distribución de *Celatoria bosqi* y *Centistes gasseni*, y sus hospederos. La distribución de las especies hospederas fue graficada, y se determinaron fronteras físico-climáticas por medio de comparaciones con estadísticas climáticas (Atlas climático de la República Argentina, 1960; Estadística climatológica, 1985; Cartas de precipitação e temperatura mensais, 1990), y datos altitudinales (Trimble Scout GPS, Trimble Navigation Limited, CA). Las variables consideradas y comparadas fueron altitud, temperaturas medias anual, máxima y mínima, y promedio anual y estacionalidad de las precipitaciones. Estos datos, juntos con la biología de los hospederos conocidos de los parasitoides, fueron extrapolados para inferir distribuciones potenciales de las áreas de América del Norte donde podrían liberarse los parasitoides. Para ello se cruzaron y discutieron datos de temperaturas mínimas y precipitaciones mensuales (Climatic atlas of the United States, 1977; Servicio Meteorológico Nacional, 2001), con datos de la distribución de sus hospederos potenciales en América del Norte (Krysan, 1986; Meinke & Gould, 1987).

II.3. Resultados

II.3.1. Resultados de la colección. *Celatoria bosqi*. Un total de 106.458 ejemplares de *Diabroticina*, principalmente *D. speciosa*, fueron coleccionados entre abril 1994 y junio de 2002, en la Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay, y Uruguay (Tabla 7; Fig. 10, área limitada por la línea punteada). Hasta el momento se han hallado tres hospederos de *C. bosqi*, *D. speciosa*, *D. viridula*, y la especie rara *Diabrotica* sp. El parasitismo promedio fue de 2.60% para *D. speciosa*, dos casos en 2483 *D. viridula* (< 0.02%), y un único ejemplar en *Diabrotica* sp, entre un total de 18 especímenes coleccionados (Tabla 7). Se observó parasitismo en su hospedero principal, *D. speciosa*, durante todo el año, aunque con tasas sumamente variadas tanto entre sitios como estaciones. En general, sin embargo, se vio que el parasitoide era más abundante en áreas subtropicales (% parasitismo promedio \pm SE, 3.40% \pm 0.35) que en áreas templadas (% \pm SE, 1.83% \pm 0.39). También era más abundante en zonas agrícolas húmedas a semiáridas, que en las áridas (precipitaciones anuales < 400 mm) (Tabla 8). Además, este patrón seguía bastante bien al de su hospedero principal. En efecto, *D. speciosa* era más abundante durante el año en zonas tropicales/subtropicales, que en las áreas templadas, como se refleja por el número total de vaquitas coleccionadas en cada una de ellas (Tabla 8).

Además de *C. bosqi*, se hallaron cuatro ejemplares de otra especie de *Celatoria*, de mayor tamaño, en *Diabrotica limitata* (Tabla 9). Dichos ejemplares no pertenecen a las especies centro y norteamericanas *C. compressa*, *C. diabroticae* o *C. setosa*, por lo tanto se la considera una especie inédita, y aguarda a ser descrita en breve (James O' Hara, com. pers.).

Centistes gasseni. Hasta el momento se han hallado tres hospederos de *C. gasseni*: *D. speciosa*, *D. viridula*, y *D. limitata*. El parasitismo promedio fue de 1.98, 0.98, y 5.42, respectivamente (intervalo 0 a 45.45%). Hubo además un caso en *Acalymma bivittula* (Kirsch) (Tabla 7). Sin embargo, un único caso en más de 4700 *Acalymma* spp. coleccionadas en el área de distribución del parasitoide sugiere que debe considerarse un caso accidental. Las incidencias más altas se observaron durante el otoño, en abril y mayo, en las áreas de Passo Fundo, Caxias do Sul, y Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil (28° 15' S, 52° 24' O; 29° 10' S, 51° 12' O; 31° 45' S, 52° 20' O, respectivamente) (% = 3.88 ± SD = 4.63) (Tabla 10).

El hiperparasitoide *Mesochorus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), fue hallado con regularidad cuando se observaron altas incidencias de *C. gasseni*. Hasta 11% de los capullos de *C. gasseni* estaban parasitados por esta especie.

También se coleccionaron un total de 6700 especímenes de otras especies de Chrysomelidae de los siguientes taxones: Diabroticina, Alticinae, Chrysomelinae, Megascelinae y Eumolpinae (Tabla 7). Todas éstas se hallaron coexistiendo en una o varias de las plantas que hospedaban a los hospederos de los parasitoides citados, pero ninguna hospedaba a dichos parasitoides.

II.3.2. Cría en el Laboratorio. *Celatoria bosqi* completó su desarrollo en 22 ± 2 días a 25°C (huevo + larva, ? = 12.0 d, SD = 0.76; pupa ? = 10.0 d, SD = 0.93). Los adultos emergidos vivieron tiempos iguales a los de campo; sin embargo, no se lograron dominar las condiciones ideales para obtener cópulas, de modo que no se pudo obtener una colonia permanente del parasitoide. El número de ataques exitosos (número de adultos/mosca hembra) fue muy bajo, ? = 3.50; max = 7. Las condiciones óptimas para lograr cópulas, sin embargo, fueron con hembras de menos de 2 horas de emergidas con 3-5 machos maduros (>2días). En las especies de América del Norte *Celatoria diabroticae* (Shimer), *C. setosa* (Coquillet) (Fischer 1983) y *C. compressa*

Wulp (Zhang *et al.*, 2004), se observó el mismo fenómeno: las hembras se mostraban receptivas sólo poco tiempo después de emerger. Para cuando terminaban de oscurecerse y curtirse empezaban a rechazar activamente a los machos que se le aproximaban, y ninguna hembra copulaba después de cuatro horas de emergida.

Pasado el periodo de preoviposición se le presentaban 6-10 vaquitas de distintas especies a cada hembra por separado. Estas las atacaban por lo general entre 30 segundos y 2 minutos después de puestas en contacto. Se aproximaban a la presa desde atrás, y las tanteaban con antenas y patas durante 1-2 segundos. Luego montaban sobre los élitros de la vaquita de costado, curvando el abdomen por debajo de éstos, y aparentemente clavaban el ovipositor en el abdomen. Todo el proceso duraba alrededor de 1 segundo. Algunas hembras repitieron estos ataques 5 veces seguidas. Cuando perdían interés eran puestas a descansar a 81C, y se repetía el procedimiento al día siguiente. A diferencia de las especies de América del Norte, las hembras no copuladas de *C. bosqi* también atacaban a su hospedero, dificultando la identificación de las hembras que habían copulado efectivamente, aunque nunca se obtuvo prole (partenogénesis) de dichos ataques. La mejor temperatura para obtener ataques exitosos se observó a *ca.* 22 1C, ya que las moscas se encontraban plenamente activas, pero las vaquitas estaban bastante sumisas a los ataques. A temperaturas más altas (>251C), éstas se resistían con bastante éxito a los ataques.

Cuando se le ofrecieron vaquitas de las especies *D. viridula*, *D. calchaqui* y *Diabrotica* sp., hembras copuladas de *C. bosqi* no se interesaron por ellas, o se aproximaban, palpaban brevemente con las antenas y se iban. Algunas veces se observó que las montaban brevemente () Palpaban con el ovipositor?) antes de retirarse. Nunca se observó un ataque propiamente dicho.

Centistes gasseni. Se observaron cópulas en los tubos de vidrio unos 10 a 120 minutos después de que hembra y machos fueran puestos en contacto. Luego de ese periodo las hembras vírgenes no llegaban a copular. Las hembras, tanto vírgenes como copuladas, picaban a las vaquitas ofrecidas inmediatamente después de ese periodo. Preferimos el término picar a oviponer por que no sabemos aún si cada vez que la hembra introducía su ovipositor bajo los élitros de las vaquitas ponía un huevo, o al menos un huevo viable. Las hembras continuaban picando durante 4-5 días, pero obtuvieron los porcentajes más altos de éxito (número de

capullos/hembra) dentro de las 48 horas posteriores a la cópula. Casi no se obtuvieron parasitoides de los ataques verificados a los 4-5 días tras la cópula (Tabla 11). Los machos vivieron 4-5 días, y las hembras 7-9 días. La larva de *C. gasseni* tardaba entre 16 y 20 días para dejar al hospedero, según la temperatura (Tabla 11), normalmente por la abertura anal, pero a veces abriendo un orificio en los tergos abdominales. Inmediatamente buscaban un escondrijo adecuado -hueco, depresión o grieta- para tejer el capullo. El adulto tardaba 14 a 23 días en emerger, dependiendo de la temperatura (Tabla 11), cortando prolijamente un extremo del capullo.

Se obtuvo un promedio de 40 parasitoides/hembra. Los escarabajos picados eran removidos inmediatamente para minimizar las picaduras múltiples, ya que se observó que éstas causaban alta mortalidad antes de la compleción del desarrollo del parasitoide. Los resultados sugieren que la supervivencia de capullos fue óptima a 23 °C (Tabla 11), pero la emergencia de hembras se retardaba 2-3 d respecto de la de machos, lo que producía escasez de machos. Este retraso se reducía a 1 día a 26°C, por lo que preferimos dicha temperatura.

II.3.3. Invernación. *Celatoria bosqi*. Los experimentos de laboratorio con poblaciones invernantes de *D. speciosa* y su parasitoide *C. bosqi*, proveyeron evidencia de que ninguna de éstas tienen adaptaciones para pasar el invierno que involucren estadios quiescentes o diapausa. *D. speciosa* se alimentaba siempre y cuando la temperatura permitía alguna actividad (ca. 12°C), y se observaba oviposición luego de alrededor de una semana de temperaturas diurnas altas (>18 °C), aunque variaciones de microhabitat influían marcadamente sobre sus niveles de actividad, hecho observado también en algunas especies norteamericanas (Meinke & Gould, 1987). El umbral de desarrollo de *D. speciosa* fue de 13 °C (Cabrera Walsh, 2001a). Asimismo, las colonias de laboratorio de *D. speciosa* mantenidas en condiciones exteriores vivieron hasta 6 meses.

En las condiciones otoñales del SABCL, la emergencia de prepupas de *C. bosqi* de *D. speciosa* de campo tomó hasta 24 d ($n = 225$; $\bar{x} = 10.48$ días; $SD = 3.38$), y la emergencia de adultos 22 días más ($n = 54$; $\bar{x} = 14.6$ días), resultando en un lapso máximo de los estadios juveniles de 46 días. Durante el invierno, en cambio (t° promedio = 11.3 °C), la emergencia de prepupas de *C. bosqi* tomó hasta 41 días ($n = 11$; $\bar{x} = 17.91$ días; $SD = 21.95$), y la emergencia de

adultos hasta 25 días ($n = 6$; $\bar{x} = 20.0$ días), sumando un lapso máximo de 66 días. Por otra parte, el desarrollo de *C. bosqi* se reanudó en cualquier momento en las vaquitas invernantes apenas eran transferidas a cámara de cría a 25 °C, resultando en la emergencia de prepupas en 3-4 días. Del mismo modo, los adultos emergidos de puparios formados en condiciones invernales tardaron lapsos normales para emerger a 25 °C ($\bar{x} = 10$ días). No se requirió enfriamiento para que emergieran prepupas ni adultos. Más aun, los puparios enfriados a 5 °C no sobrevivían más de 25 días, y sólo 20% sobrevivió hasta 20 días refrigeradas, indicando que la pupa no es capaz de permanecer quiescente por mucho tiempo en condiciones frías constantes. Nuevamente, empero, los adultos emergían de los puparios enfriados en lapsos normales -3-4 días- una vez transferidos a 25 °C.

Centistes gasseni. Al igual que *C. bosqi*, *C. gasseni* no mostró señales de diapausas o quiescencia obligada. *C. gasseni* vive como larva dentro de su hospedero sujeta a la acumulación de la cantidad necesaria de días-grado, por lo que la emergencia de las prepupas, y adultos, dependía de la exposición a temperaturas templadas. Aunque no pudieron obtenerse datos de días-grado para *C. gasseni*, parecería tener un umbral de desarrollo similar al de su hospedero. En las condiciones invernales de Buenos Aires la emergencia de prepupas de *C. gasseni* de *D. speciosa* de campo tomó hasta 110 días ($\bar{x} = 51.25$ \pm SD = 41.10), distribuida a intervalos irregulares a lo largo del invierno, mientras que a 26°C, el desarrollo se completó en 29 \pm 2 días. El desarrollo de *C. gasseni* se retomaba en cualquier momento en las vaquitas invernantes transferidas a 25°C, produciendo la emergencia de prepupas en 3-4 días. Nuevamente, no hizo falta un periodo de enfriamiento previo para lograr la emergencia de prepupas y adultos, indicando que la estrategia de invernación de *C. gasseni* no involucra diapausa, sino sencillamente la capacidad de permanecer quiescente dentro de su hospedero por debajo de la temperatura de desarrollo. Por otra parte, los capullos enfriados no sobrevivieron más de 25 días, indicando que la pupa no es capaz de sobrevivir periodos prolongados de frío constante.

II.3.4. Distribución de *Celatoria bosqi*. Este taquírido ha sido coleccionado prácticamente en toda el área de distribución de su hospedero principal, y a lo largo de todo el año (Fig. 10, área

rayada). Los climas donde se halló al parasitoide son altamente variados, y cubren desde alturas semidesérticas templadas y subtropicales, a planicies templadas a tropicales, con y sin estación seca. El espectro de altitudes fue de 4 a 2500 m.s.n.m., con mínimas medias invernales, máximas medias estivales, y medias anuales de -3.4 a 11 °C, 24 a 33.4 °C, y 12 a 21.2 °C, respectivamente. La mayoría de los sitios de colección tienen heladas esporádicas a regulares, y nevadas ocasionales. Las precipitaciones anuales dentro del área de colección de *C. bosqi* fueron de 134 a 2200 mm.

En vista del espectro físicoclimático de *C. bosqi*, se presenta un mapa con su distribución potencial en América del Norte, considerando precipitaciones anuales por encima de 200 mm, y mínimas medias invernales por encima de -21°C. Dichas características definen una área que incluye toda la costa oeste de los EE.UU., y la mayor parte del sur y sudeste. También incluye la mayor parte de Méjico exceptuando la península de Baja California, y la región centro-norte de inviernos fríos (Fig. 11, áreas limitadas por la línea entera).

II.3.5. Distribución Conocida e Inferida de *Centistes gasseni*. La distribución conocida de *C. gasseni* ha sido ampliada considerablemente respecto de los informes previos (Shaw, 1995; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Schroder & Athanas, 2002). Ha sido hallada en los tres estados sureños de Brasil: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, y Paraná; este del Paraguay, y noreste de la Argentina (Fig. 12, C mayúsculas). Se la halló durante todo el año, entre altitudes de 4 y 1135 m s.n.m. con temperaturas mínimas medias de invierno, máximas medias de verano, y medias anuales de 7.2 a 11°C, 16.2 a 32.6°C, y 11.9 a 21.1°C, respectivamente (climas templados a subtropicales). La mayoría de los sitios donde se halló *C. gasseni* tienen temperaturas < 01C en invierno, aunque sea esporádicamente, y algunas incluso nevadas ocasionales (Passo Fundo, y Vacaría, RGDS; y Caçador, SC). El único rasgo climático en común hallado en el área de distribución del parasitoide es precipitación anual media >1300 mm, desprovistas de estacionalidad marcada. Sin embargo, dentro de esta área, las zonas más templadas (menos tropicales) y/o más altas mostraron poblaciones de *C. gasseni* más abundantes y regulares (Tabla 10).

Basándonos en los elementos climáticos conocidos de la distribución de *C. gasseni*, compusimos un mapa de su distribución potencial en América del Norte, considerando

precipitaciones por encima de 100 mm mensuales, y mínimas promedio por encima de 7°C. Las similitudes están prácticamente limitadas a la porción sudeste de los EE.UU., los estados de Florida y este de Texas, y una porción costera del este y sur de Méjico (Fig. 13, áreas rayadas al sur y este de la línea entera). Otra área del mismo mapa (Fig. 13, área bajo la línea entera), muestra una distribución potencial extendida para *C. gasseni* delimitada por la distribución permanente de las *Diabrotica* pestíferas de Norte América con adultos invernantes, específicamente las áreas donde *D. u. howardi* y *D. balteata* son capaces de invernar, cruzada con precipitaciones regulares por encima de los 1100 mm. Aún otra área (Fig. 13, área bajo línea de guiones), muestra la distribución extendida de *D. u. howardi*. Esto incluye el área hasta donde se distribuye el insecto durante sus migraciones primaverales hacia el norte, cruzada con precipitaciones regulares por encima de los 1100 mm.

Parte III. Estudios Preliminares de Cucurbitaceae Silvestres Sudamericanas: Biología, Cultivo, y Atractancia Sobre las Especies de *Diabrotica*

III.1. Introducción

Las cucurbitacinas (cucs) son triterpenoides oxigenados tetracíclicos, normalmente hallados combinados en glicósidos, que son casi exclusivos de las Cucurbitaceae, aunque se hallan también en las semillas de algunas especies de Cruciferales (Dinan *et al.*, 1997). Estos compuestos le sirven a la planta como defensa contra fitófagos debido a su toxicidad y extremado amargor. Dichos glicósidos han sido utilizados en medicina tradicional como purgantes violentos, y contra tumores, sífilis e hidropesía, aunque sus verdaderos beneficios médicos son motivo de controversia. Además, es sabido hace años que tienen un efecto estimulante de la alimentación para los *Diabrotica* (Contardi, 1939; Metcalf *et al.*, 1980; Hamerschmidt, 1985). Tanto así, que forman parte de cebos comerciales para el control de *Diabrotica* spp., en los cuales son combinados con pequeñas cantidades de insecticidas (Ag. Res. oct. 1997, may. 1998). También se han usado desde hace no menos de 25 años rodajas de raíces de cucurbitáceas silvestres llamadas en la farmacopea tradicional tayuyá, taiuia, o nueza, para controlar *Diabrotica* spp. en quintas y huertas en el sur brasileño (Hamerschmidt, 1985). Estas se usan como cebos, combinados con cualquier insecticida y expuestos en recipientes entre los surcos. En ambos casos se aprovecha la alimentación compulsiva que estimulan las cucs para que los escarabajos ingieran los biocidas combinados en cantidades mucho menores por m² que las utilizadas en aplicaciones tradicionales, y con una virtual ausencia de efectos sobre especies no blanco (*non-target effects*). Hasta el presente las cucs purificadas se obtienen exclusivamente de fuentes naturales como *Cucurbita foetidissima* Kunth (*buffalo gourd*), o el jugo de un mutante amargo de sandía var. Hawkesbury o de la especie africana *Citrullus colocynthis*.

La idea de reemplazar la aplicación masiva de insecticidas por cebos tóxicos, o aun combinados con patógenos (Daoust & Pereira, 1986) y tinturas fotosensibles (Schroder & Athanas, 2001; Schroder *et al.*, 2002), ha sobrevolado los estudios de control biológico y ecología de la química de las *Diabrotica* plagas desde hace no menos de 30 años. No sólo con cucurbitacinas (Hamerschmidt, 1985; Lance & Sutter, 1990; Ventura *et al.*, 1996; Barbercheck *et al.*, 1995; Chandler *et al.*, 2000; Behle, 2001) , sino también con volátiles de las plantas hospederas o análogos sintéticos (Ladd *et al.*, 1985; Yaro *et al.*, 1987; Lampman & Metcalf,

1988; Metcalf & Lampman, 1989; Lance, 1990; Lance & Sutter, 1990; Weissling & Meinke, 1991; Lance & Sutter, 1992; Metcalf *et al.*, 1995; Petroski & Hammack, 1998; Hammack, 2001, 2003), feromonas sexuales y sus análogos (Bartelt & Chiang, 1977; Schalk *et al.*, 1990), y feromonas de agregación masculinas (Smyth & Hoffman, 2002, 2003). Pero el hecho de que las cucs son de fácil obtención y almacenamiento, las hacen particularmente interesantes para aplicación a campo.

Sin embargo, nuestro conocimiento de los atrayentes para *Diabroticina* es incompleto. Carecemos de estudios acabados sobre la variedad y taxonomía de las especies fuentes de cucs, análisis químicos completos de las especies conocidas, diferencias en las respuestas etológicas de las distintas especies, sexos, y clases etarias de *Diabroticina* a los distintos compuestos/fracciones de los extractos de cucurbitáceas, y métodos adecuados de cultivo y extracciones de las especies más prometedoras. Sin embargo, los estudios previos nos permiten ciertas generalizaciones. Todas las fuentes de cucs poseen varios de los más de 20 tipos de cucs y dihidrocucurbitacinas (A, B, C,.... R) (Rocha Farias & Schenkel, 1987). Entre las especies examinadas, la cuc predominante es la B, seguida de cerca por las cucs D, G, H, y E. Los otros tipos son relativamente raros. Las cucs B y E son los tipos básicos, mientras que las otras formas son derivados enzimáticos de una de éstas. Así, cada género de cucurbitáceas se caracteriza por tener una de las cucs básicas y/o sus derivados (Metcalf & Lampman, 1989).

La significancia de esto es que las concentraciones de las distintas cucs varían entre especies, así como sus atracciones relativas para las especies de *Diabroticina*. Específicamente, la cuc B es detectada por las vaquitas en concentraciones en promedio diez veces menores que la cuc E. Es decir, la cuc B es unas diez veces más atrayente que la E. Consecuentemente, las formulaciones insecticidas con cuc B debieran ser más efectivas que las que contienen cuc E. Sin embargo, y aunque las cuc B son más comunes entre las cucurbitáceas en cuanto a número de taxones que las contienen, nuestras fuentes de cucs más comunes y fáciles de cultivar, específicamente *Citrullus vulgaris* Schrader, *C. colocynthis* (L.) Schrader, *Cucurbita andreana* Naudin, y *C. foetidissima*, contienen cuc E (Metcalf & Lampman, 1989).

En el SABCL tenemos varias especies silvestres bajo cultivo que han demostrado alto poder atractivo para *Diabroticina* de la Argentina. La bibliografía prescribe que las fracciones de mayor actividad atractiva son las fracciones de éter de un extracto madre acuoso o de acetona.

En esta sección, se presentarán datos preliminares de laboratorio y de campo que muestran resultados que contradicen en parte esta noción, así como exámenes de varias especies de cucurbitáceas silvestres en busca de altos potenciales como fuentes de atractivos y rendimiento agronómico.

III.2. Materiales y Métodos

III.2.1. Colección de Plantas. La exploración y colección de cucurbitáceas silvestres comenzó en 1996. Siendo en su mayoría plantas trepadoras o escandentes, se las buscó en macizos, cercos y alambrados, y zanjas. Cuando se hallaba una planta se herborizaban tallos terminales, con flores masculinas y femeninas, y frutos cuando era posible. También se coleccionaban las raíces, semillas/frutos y porciones de tallos para su cultivo y pruebas de atractancia.

III.2.2. Cultivo en Laboratorio. Las semillas se secaban al aire, y almacenaban en sobres de papel parafinado. Antes de su siembra en mezcla liviana en macetas de turba se las remojaba 24 hs. Cuando los sarmientos llegaban a 40-50 cm, se transplantaba la maceta entera a macetas más grandes, suelo, o arenoso. Las raíces y esquejes coleccionados en el campo se sumergían en agua hasta que aparecían raicillas, y luego se transplantaban a suelo o arenoso. El zapallito amargo, *C. andreana*, en cambio, se sembraba directamente, a la manera del zapallo común.

En un pequeño experimento de campo iniciado en enero de 1999, se plantaron 50 plantas de dos meses de la cucurbitácea perenne *Cayaponia bonariensis* (Miller) Martinez Crovetto, en la localidad de Sauce Grande, provincia de Buenos Aires. Esta localidad semiárida templada, linda con los médanos costeros (38° 54' S; 61° 04' W; precip. anual, 600 mm; temp. media, 14.91°C; temp. min. media, 3.51°C), se encuentra a unos 300 m del mar, y el suelo es de arena. Posee una flora implantada de eucaliptos, *Acacia longifolia* (Andrews) Willdenow, y *Tamarix gallica* L. que se han desarrollado en bosques ralos sin sotobosque. Se eligieron varios sitios para plantar las *Cayaponia*, que diferían según exposición, cubierta arbórea, y drenaje. Las plantas se regaron durante 25 días, y luego se dejaron a su suerte.

III.2.3. Extracciones de Raíces y Frutos. Se trabajó con tres extractos diferentes, tanto en las pruebas de campo, como de laboratorio:

1. Se muele un peso conocido de raíces/frutos en licuadora, y se deja toda la noche a 5-8°C en el doble del volumen de EtOH:acetona (3:1). Se filtra y comprime a través de una malla. El remanente sólido se vuelve a suspender en EtOH:acetona por 6 hs, y se vuelve a comprimir. Ambas fracciones líquidas se juntan, se permite que sedimente el almidón, vierte el sobrenadante, y deshidrata en estufa a 50°C hasta reducir el volumen a la mitad. Esta es la fracción de solvente.

2. Se procede igual que en el punto 1, pero con el mismo volumen de agua destilada. Se llamará fracción acuosa.

3. Se exprime igual peso de raíz/fruto en una prensa de papel a través de una malla de poliéster. Si es necesario se reduce en estufa al mismo volumen de los extractos anteriores. Definido como jugo en crudo.

Como estos extractos son mayormente acuosos se almacenan congelados o enfriados para evitar su fermentación.

Finalmente, se trabajó con un polvo entero de raíces o frutos secados en estufa y pulverizados en molino rotativo.

III.2.4. Trampas de Cucurbitacinas. Las telas trampas se hacen asperjando una malla de poliéster de superficie conocida con un volumen conocido de alguno de los extractos descritos arriba, y secadas al aire. Siendo de una tela sintética tienen capacidades limitadas de adsorción, por lo que se supone que a superficies iguales se obtienen cantidades iguales de compuestos activos adsorbidos. Estas trampas normalmente superan ampliamente la capacidad de colección por unidad de tiempo de un coleccionista avezado utilizando los métodos tradicionales (Cabrera Walsh, 2001). También proveen datos interesantes de riqueza específica, y diferencias entre especies y dimorfismo sexual en la atracción por las cucurbitacinas.

En el campo se utilizaron las trampas simultáneamente con la colección manual. Las vaquitas coleccionadas se enjaulaban por separado para permitir evaluar las diferencias en número, composición específica y sexual entre una muestra y otra. Las telas eran de 0.25 m², que resultó ser el tamaño más maniobrable para cosechar las vaquitas, a la vez de proveer una

superficie atractiva considerable. Las trampas se desplegaban en línea, separadas unos 2 m entre sí, viento abajo de la parcela muestreada. Se las vaciaba a intervalos regulares, de acuerdo con la densidad de escarabajos (1 hr - 40' con bajas densidades, 10 -15 minutos a altas densidades).

Para capturar las vaquitas atraídas a las trampas sencillamente se levanta rápidamente cada tela y se la mete en una red de arrastre. Luego se sacude la malla en la red, y ésta también, para acumular los insectos en el fondo, y se los pasa a una jaula o frasco.

Varios aspectos de la operación de las trampas se estudió en el campo con el objeto de evaluar los mecanismos involucrados en su funcionamiento. Por ejemplo, se desplegó una única trampa sobre suelo desnudo, y el observador se sentaba a unos dos metros de ella ortogonalmente al viento, anotando número de vaquitas que se posaban en 5', y dirección y conducta de aproximación. En otra prueba se comparaban los jugos de distintas especies mediante una fila de trampas (dos con cada extracto = 0.5 m² de cada tipo) desplegadas al azar. Al cabo de una hora se tomaba el número total de vaquitas por tela atrayente. Junto con estas mediciones se tomaban temperatura del aire, t° de bulbo húmedo, dirección y velocidad del viento, punto de rocío, humedad relativa, y hora. Se definió un standard, o patrón, sobre la base del extracto más exitoso (eficiencia = 1), con que medir a los otros extractos.

III.3. Resultados

III.3.1. Colección de Plantas. Han sido coleccionadas al menos 17 especies de cucurbitáceas silvestres. La tabla 12 enumera estas plantas y provee una breve descripción de sus características. Las especies de mayor interés serán tratadas individualmente.

III.3.2. Descripción y Estudios Agronómicos. *Cayaponia spp.* Estas son trepadoras perennes de raíces tuberosas o engrosadas. Aunque invariablemente monoicas, algunas especies producen un solo sexo durante los primeros años, dando la impresión de ser dioicas. Por ejemplo, las especies del género que más nos interesan, *C. bonariensis* y *C. tayuya* (?), producen sólo órganos masculinos durante los primeros años (ca. 5 años en el SABCL), y flores femeninas, o ambas luego de ese periodo. La temporada de crecimiento de estas plantas, como la de todo el género, dura desde la primavera temprana hasta fines del otoño, y durante el invierno sólo perviven las raíces. Los órganos aéreos se renuevan cada año.

Los contados análisis químicos profundos hallados en la literatura indican que las *Cayaponia* spp. contienen cucurbitacinas B y sus derivadas (Bauer *et al.*, 1985; Rocha Farías & Schenkel, 1987; Jacobs & Singh, 1990). Las especies cultivadas en el SABCL desarrollan un sistema tuberoso inmenso, que tendría la concentración más alta de cucurbitacinas estudiadas hasta el momento (DeMilo *et al.*, no publicado). Más aun, *C. bonariensis* produce un elevado número de frutos en el verano que son aun más amargos que las raíces, indicando mayores concentraciones de cucurbitacinas.

Estudios agronómicos preliminares indican que las semillas son de fácil germinación, y las plántulas tienen alta supervivencia. Se observa un desarrollo de tubérculos significativo tras dos temporadas de crecimiento. Los sarmientos rastreros producen raíces adventicias en los nodos -cada 30 cm aproximadamente-, que dan nuevas raíces y plantas. Esta característica explica la presencia clonal y radial observada en el campo, ya que cuando muere la planta madre, los clones se desarrollan como plantas individuales.

Las plantas maduras cultivadas en el laboratorio en areneros producen un incremento en peso fresco de raíces de *ca.* 11 kg al cabo de tres temporadas, a lo cual se le debe agregar otros 2 kg por raíz adventicia por temporada. Un cálculo conservador indica que cada planta puede rendir 35 kg de raíces en 5 años. Las plantas cultivadas en suelo o macetas presentan un desarrollo radical menor, seguramente dado por la mayor densidad del sustrato, un fenómeno bien documentado para papa, maní y otras cosechas hipogeas.

En los experimentos a campo en arenas del litoral atlántico sólo sobrevivieron los ejemplares plantados en las depresiones sombreadas, presumiblemente debido a un mayor aporte de agua y un balance hídrico del suelo más favorable. Sin embargo, no se han desarrollado hasta el tamaño obtenido en el SABCL, posiblemente por la menor disponibilidad de agua.

***Cucurbita andreana*.** Esta especie es muy cercana al zapallo (*Cucurbita maxima* Duchesne), al punto de que algunos autores las consideran subespecies (Contardi, 1939; Millán, 1945). *C. andreana* crece silvestre en todo el centro del país, en ambientes templados semiáridos a húmedos. Se la ha considerado una maleza desde tiempos coloniales porque hibridiza con los zapallos cultivados, produciendo F1 tóxicas y amargas indistinguibles de las variedades cultivadas (Millán, 1945). Es una rastrera anual de morfología muy similar al zapallo, hallada normalmente en suelos perturbados. Aunque posee una raíz amarga, nuestro interés principal es

el fruto, una calabaza verde, ovoide a esférica, de unos 12 cm de diámetro. Es extremadamente amarga, con altos contenidos de cucurbitacina E, y derivadas. Se da bien en cualquier suelo, y puede producir alrededor de 10 kg de fruta, peso fresco, por temporada. Al igual que el zapallo es bastante resistente a la sequía, y muy sensible a las heladas.

***Cucurbitella asperata* y *C. duriaei*.** Estas trepadoras perennes poseen varias características interesantes. Además de una raíz tuberosa extremadamente amarga, los frutos también son altamente atractivos para los Diabroticina. Estos, unas drupas verdes claras de unos 3 cm, similares a grosellas, son dulces y presentan un aroma parecido al melón a la madurez. Sólo los frutos maduros caídos son atractivos para los Diabroticina, no así los inmaduros. Sin embargo, sólo la piel suele ser moderadamente amarga, indicando rastros de cucurbitacinas, indicando que los insectos se ven atraídos por un compuesto distinto de las cucurbitacinas, y presente sólo a la madurez. Asimismo, sólo los frutos enteros fueron atractivos, no así los jugos, o extractos. Las plantas maduras producen 60 -150 frutos por temporada. Los frutos son devorados por varios insectos y aves, quienes dispersan sus semillas con las heces, haciendo de *C. asperata* una planta con gran capacidad de dispersión.

Apodanthera sp. Esta especie se descubrió en marzo de 2002, en la provincia de La Pampa. Es una rastrera anual que produce multitud de frutos (? 1 kg) ovoides verdes claros de unos 3 cm, y cubiertos de espinas semirígidas. El jugo/extracto de estos frutos tiene un alto nivel atractivo, similar al de los estándares de *C. bonariensis*.

III.3.3. Enemigos Naturales. Los enemigos naturales de estas plantas parecen ser específicos, probablemente debido a sus defensas químicas. Una especie de curculiónido se desarrolla en las semillas de varias especies de *Cayaponia*. En algunas muestras, esta especie comía hasta 80% de las semillas. También se halló un curculiónido en la raíz de *C. citrullifolia*, pero nunca se lo pudo incubar hasta adulto, que no se conoce. También hay una polilla que mina los tallos, llegando a veces a matarlos. Pero los mayores daños provienen de una roya, *Uromyces novissimus* Spegazzini, que afecta principalmente a *C. bonariensis*, *C. citrullifolia*, *C. podantha*, y ocasional y levemente a *C. asperata*. Esta roya produce grandes crecimientos cancerosos en flores, pecíolos y hojas, que pueden llegar a abortar la producción de frutos o aun matar la parte aérea de la planta en infecciones severas.

Aparte de estos enemigos específicos, todas las plantas mencionadas en la tabla 12 son atacadas por las plagas de cucurbitáceas cultivadas, como *Diabrotica* spp., *Acalymma* spp., *Epilachna paenulata* (Germar), *E. cacica* (Guérin), *Diaphania hyalinata* (L.), y *D. nitidalis* (Stoll). De hecho, varias de estas plantas sirven como reservorios naturales de plagas de cucurbitáceas. A su vez, es más común hallar ejemplares parasitados de estas especies en sus hospederos silvestres que en cultivos (obs. pers.).

En el caso de los Diabroticina que atacan frutos de *Cayaponia* spp., la asociación parece ser mutualista, ya que los adultos de *Acalymma* y *Diabrotica* se alimentan de los frutos maduros, liberando así las semillas que de otra manera quedan aprisionadas en el mesocarpo duro y fibroso del fruto seco.

III.3.4. Colecciones sobre Telas. Las telas embebidas con los jugos crudos de frutos de *C. bonariensis* y *C. tayuya*, son las más atractivas hasta el momento, y retienen el poder atractivo por unos 3 años, con reducción gradual de este. Dichas trampas se han evaluado frente a preparaciones con cada una de las plantas mencionadas arriba (Tabla 12).

La tabla 13 provee datos comparativos de la eficiencia de las telas trampa, al igual que el espectro de especies atraídas a ellas. En colecciones simultáneas (trampas/manual) se obtuvieron 23.616 ejemplares de Diabroticina en telas, comparadas con 16639 vaquitas coleccionadas con aspiradores y redes.

Las condiciones climáticas son un factor central en el éxito de las capturas, lo cual ya fue observado por Lance (1990) en otros compuestos atractivos no feromonales. Las temperaturas de entre 15 y 30°C fueron ideales para coleccionar, particularmente durante la salida y la puesta del sol, que son las horas durante las que los Diabroticina vuelan con más asiduidad. Con temperaturas más bajas los insectos se mantienen inactivos, y no asisten a las trampas. A temperaturas más altas, ca. 30-35°C, con alta insolación, también se coleccionó bien, pero las vaquitas están demasiado activas, y la tasa de eficiencia disminuye mucho ya que las vaquitas dejan las telas a tasas cercanas a las que las visitan. A altas temperaturas, 38-40°C, las trampas son casi inútiles porque las vaquitas también se mantienen inactivas y se refugian en el envés de las hojas. Vientos fuertes también entorpecen la colección, mientras que los vientos moderados estimulan el comportamiento de búsqueda de las vaquitas, y ayuda en la detección de las

trampas. Nuevamente, esto se observa principalmente alrededor de la salida y de la puesta del sol. Si se repite la comparación de colecciones trampeo/manual, pero tomando en cuenta sólo condiciones climáticas favorables, el cociente es de $20457/9702$. En otras palabras, el trampeo es doblemente más eficiente que la colección manual.

Las telas de algodón o el papel no constituyeron trampas efectivas. Cuando se las comparó con las de poliéster, las colecciones fueron insignificantes.

Parte IV. Conclusiones

IV.1. Cucurbitacinas

Aunque este informe describe a las cucurbitacinas como atrayentes de vaquitas, son en general descriptas como estimulantes de la alimentación. Aparentemente no serían atrayentes en tanto las cucurbitacinas son moléculas demasiado grandes para volatilizarse, por lo cual no serían capaces de atraer a los insectos desde lejos. Más bien, cuando el insecto se aproxima accidentalmente a la fuente del compuesto, lo detectaría de cerca con quimiorreceptores especializados en las piezas bucales. Más aun, suelen denominarse Arrestantes@ (*arrestants*), es decir, uno de aquellos compuestos que provocan ser ingeridos compulsivamente por los organismos que mantienen una relación farmacofágica con ellos, y los mantienen fijados en el lugar (Metcalf & Lampman, 1989; Nishida & Fukami, 1990).

Sin embargo, las pruebas de campo indican claramente que las muestras frescas o extractos de raíces/frutos de algunas de las plantas estudiadas muestran atracción a distancia, además del efecto arrestante descrito con anterioridad. Las vaquitas, de varias especies, fueron observadas aproximándose a las telas exclusivamente viento arriba, desde no menos de 10 metros. Un antecedente similar fué descrito por Boppré, quien demostró que varias especies de lepidópteros en las Danainae, Ithomiinae, Arctiidae y Ctenuchiidae, podían detectar a distancia alcaloides pirrolizidínicos alomonaes (compuestos emitidos por un organismo para estimular una respuesta en uno de otra especie), que eran también en teoría, demasiado grandes para volatilizarse (Boppré, 1986). Una hipótesis que podría explicar esta aparente contradicción, es que el uso de los compuestos en materiales como el poliéster, con baja capacidad de adsorción, permite un “despegue” más fácil de las cucurbitacinas, que estando en estado puro sobre materiales absorbentes como el algodón, o acumulado en recipientes de vidrio. Esto explicaría también la baja aptitud del papel o telas de algodón como trampas de cucurbitacinas. Una hipótesis alternativa es que los procedimientos de extracción y purificación de cucurbitacinas cambian sus propiedades, o eliminan compuestos asociados, que complementan la limitada atracción de las cucurbitacinas puras. Esta conjetura es apoyada por el hecho de que los jugos crudos de *Cayaponia* y otras plantas, fueron más efectivos en el campo que los extractos de solventes orgánicos o los compuestos puros. También la sostiene el hecho de que únicamente

fueran atacados los frutos maduros de *Cayaponia*, ya que el contenido de cucurbitacinas en frutos maduros y verdes desarrollados no difiere significativamente.

Los volátiles de los frutos maduros de *C. asperata*, aunque obviamente no son cucurbitacinas, también merecen nuestra atención. Estos volátiles parecen ser muy lábiles, y su producción/liberación posiblemente dependa de que el fruto esté en buenas condiciones (fisiológicamente viables), ya que los frutos congelados, extraídos o pisados pierden su atractivo de inmediato.

Se deben tomar en consideración varios factores para elegir una fuente adecuada de cucurbitacinas. Pero en principio se debe buscar una alta concentración de cucs B, facilidad de cultivo, y una cosecha rápida y abundante.

Las pruebas de arenero indican que *C. bonariensis* se desarrolla más adecuadamente, desde el punto de vista del rinde en kg de raíces y la clonación, en suelos arenosos. Aunque las pruebas de campo no han sido un éxito desde el punto de vista agronómico, indican al menos que la planta puede desarrollarse en suelos arenosos, aun con restricciones hídricas, y ambientes salinos. Su cultivo en tales ambientes podría ser viable con irrigación adecuada.

Sin embargo, las mejores candidatas para la producción comercial de cucurbitacinas podrían ser *C. andreana* y *Apodanthera* sp. Siendo especies anuales, su siembra y cosecha podrían llevarse a cabo dentro de marcos temporales, costos y técnicas agrícolas usuales.

IV.2. Enemigos Naturales. Conforme a los objetivos de esta sección, la evaluación de las probabilidades de éxito de los parasitoides sudamericanos como agentes de control biológico de diabroticinos plaga en distintas regiones, la discusión debe lidiar con al menos tres cuestiones principales. Primero, el espectro de hospederos de los parasitoides como indicadores de su especificidad: idealmente deberían ser lo suficientemente específicos como para quedarse dentro del género *Diabrotica*, pero no tanto como para no aceptar especies alternativas dentro del género. Segundo, sus estrategias de invernación, también como medida de sus espectros de hospederos. Específicamente, el requerimiento de invernar en galerucinos adultos invernantes descarta a las especies de *Diabrotica* de América del Norte dentro del grupo *virgifera* como hospederos permanentes o exclusivos. Tercero, las restricciones climáticas aparentes de los

parasitoides en cuestión definiría los límites de su distribución potencial, y por lo tanto de su radio de acción, en Europa y América.

IV.2.1. Perspectivas de Adaptabilidad de *Centistes gasseni* y *Celatoria bosqi*. La especie más atacada fue *D. limitata*, una vaquita infrecuente y no dañina, normalmente asociada con cucurbitáceas silvestres y cultivadas (Cabrera Walsh, 2003). Las otras dos especies hospederas, *D. speciosa* y *D. viridula*, son las dos *Diabrotica* más comunes de América del Sur, e importantes plagas agrícolas en casi todo el subcontinente (Krysan 1986; Cabrera Walsh & Cabrera, 2004). Las tres especies de hospederos fueron halladas en toda el área de distribución de *C. gasseni*, aunque sus áreas de distribución exceden en mucho la del parasitoide (Araujo Marques, 1941; Bechyné & Bechyné, 1962; Krysan & Smith, 1987). Asimismo, las tres especies de vaquitas hospedaron al parasitoide consistentemente durante todo el periodo de muestreo y en toda el área de distribución de éste. Sólo podemos especular por qué son estas las únicas especies halladas albergando a *C. gasseni*, pero podría ser significativo en este aspecto el hecho de que las tres tienen patrones elitales similares (amarillos a verdes con puntos conspicuos), y bastante diferenciados de los de las especies de *Diabroticina* coexistentes. Sin embargo, son también las especies más comunes, y no podemos descartar que haya otras especies más raras de *Diabrotica* que hospedan al parasitoide.

Todos los hospederos conocidos de *C. gasseni*, y de hecho todos los *Diabroticina* estudiados hasta el presente (Krysan, 1986; Cabrera Walsh, 2001a, 2003) invernán como adultos. Los experimentos descritos más arriba indican que *C. gasseni* inverna como larva dentro de su hospedero, dependiendo por ende de su supervivencia para sobrevivir. También sugieren claramente que no tiene un mecanismo para sobrevivir al invierno fuera de su hospedero. Esto implica que cualquier plan para liberar *C. gasseni* en América del Norte o Europa para el control biológico de *Diabrotica* plagas, debe contemplar la existencia de especies que alberguen al parasitoide durante el invierno, independientemente de que sea la plaga blanco (*target pest*) o no. O bien, desarrollar métodos de cría masiva en laboratorio que permitan hacer liberaciones inundativas periódicas. En América del Norte, las especies más probables para albergar (*backup host*) al parasitoide serían las especies plagas que invernán como adultos, *D. balteata* y *D. undecimpunctata howardi*. De esta manera habría una población de parasitoides “aguardando” a

las especies que invernan como embriones (*D. barberi*, *D. v. virgifera*, y *D. v. zaeae*). Más aun, *D. u. howardi* llega hasta Canadá durante sus migraciones primaverales (Krysan, 1986; Elsey, 1988b) y podría esperarse que transporte al parasitoide como vector hasta bien adentro del área de distribución de las *Diabrotica* del grupo *virgifera*.

Colecciones extensas dentro de variadas topografías y climas templados a tropicales (Fig. 12), indican que *C. gasseni* tiene una área de distribución delimitada por condiciones húmedas templadas a subtropicales. La correspondencia entre la distribución de *C. gasseni* y áreas de precipitaciones altas y regulares, sugieren que el capullo del parasitoide es sensible a la desecación, y requiera niveles de humedad de suelo altos y permanentes para sobrevivir. Las relativamente escasas publicaciones que informan sobre colecciones de *D. speciosa* o *D. viridula* en áreas tropicales de América, no mencionan la presencia de *C. gasseni* (d=Araujo e Silva *et al.*, 1968; Harries, 1975; Krysan *et al.*, 1984; Reyes & Castillo, 1988). Aunque la falta de familiaridad con los parasitoides, o del propósito específico de hallarlos, pudo causar que no fuera detectado en el pasado. En consecuencia, no podemos asegurar que *C. gasseni* pueda ser limitada en su distribución por temperatura altas. Sin embargo, es sintomático que su abundancia de la misma caiga drásticamente hacia los límites más boreales y cálidos, donde se la halló confinada a zonas más altas, y por ende frescas, todo lo cual sugiere que es sensible a altas temperaturas, o balances de radiación y/o hídricos. Más aun considerando que las densidades de las especies de *Diabrotica* hospederas son mayores y más regulares a lo largo del año que en las áreas templadas (Cabrera Walsh, 2003). Esta aparente contradicción apoya la noción de que el óptimo fisiológico de *C. gasseni* es cercano a un clima templado. De hecho, la única otra especie de *Centistes* cuya biología se conoce con detalle, *Centistes delusorius* (Forster), un parasitoide europeo del gorgojo de la flor del manzano, *Anthonomus pomorum* (L.), mostró una gran mortalidad durante el estadio pupal relacionada con humedad inconstante y situaciones expuestas (v.g., poca cobertura vegetal en el suelo) (Zijp & Blommers 2002). Esto sugiere que la misma situación podría darse con *C. gasseni*.

En el mismo sentido, las áreas con *D. speciosa* que presentan temperaturas invernales más bajas no comparten las precipitaciones abundantes y regulares observadas en toda el área conocida de distribución de *C. gasseni*, lo cual limita nuestra capacidad de definir una temperatura mínima limitante para la supervivencia del parasitoide. Sin embargo, en algunas

zonas altas de su área de distribución, coincidentemente donde es más abundante, hay zonas de inviernos relativamente rigurosos, con heladas frecuentes y nevadas ocasionales. Esto sugiere que la supervivencia de *C. gasseni* no posee más límite mínimo de temperatura que el que permita la supervivencia de sus hospederos.

Basado sobre los límites conocidos de *C. gasseni*, la Fig. 13 presenta un área de América del Norte con condiciones climáticas similares a las nativas. Se limita a una porción pequeña del sudeste de los EE.UU., situada aproximadamente a la misma latitud que en su área de origen en América del Sur. También incluye una área del sur de Méjico que podría ser adecuada si se comprobara que *C. gasseni* tolera climas tropicales.

Sin embargo, tomando en cuenta los factores limitantes descritos más arriba, se proponen dos áreas de distribución hipotéticas adicionales (Fig. 13, área bajo las líneas entera y de guiones), que encierran las áreas de distribución permanente de sus hospederos potenciales de adultos invernantes, cruzada con precipitaciones anuales regulares por encima de 1100 mm. Si los supuestos detrás de estas distribuciones hipotéticas pudieran validarse experimentalmente, específicamente: 1.- las especies norteamericanas de *Diabrotica* plagas pueden hospedar a *C. gasseni* en el campo; 2.- las temperaturas bajas no son limitantes para la distribución de *C. gasseni*, en tanto permitan la supervivencia de sus hospederos; y 3.- las precipitaciones son suficientemente abundantes y adecuadamente distribuidas, el parasitoide *C. gasseni* podría cubrir gran parte de las áreas afectadas por las *Diabrotica* plagas en América del Norte.

Celatoria bosqi. La distribución conocida de *C. bosqi* ha sido ampliada considerablemente gracias a esta y otras colecciones recientes (Gassen, 1986; Magalhães & Quintela, 1987; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Cabrera Walsh, 2004). Se la conoce del Brasil sur y central, sur de Bolivia, y prácticamente a lo largo de toda el área de distribución de *D. speciosa* en Paraguay, la Argentina, y Uruguay. Más aun, estos datos sugieren que podría cubrir toda el área de distribución de su hospedero, que incluye toda América del Sur a excepción de Chile y sur de la Argentina.

De las tres especies que albergan a *C. bosqi*, *D. speciosa* fue la única hallada en toda la distribución del parasitoide (Araujo Marques, 1941; Bechyné & Bechyné, 1962; Krysan & Smith, 1987; Cabrera Walsh, 2003, 2004, Cabrera Walsh & Cabrera, 2004). Fue también su hospedero principal, sin contar el caso en *Diabrotica* sp., que precisaría de colecciones más

abundantes para confirmar su importancia. En todo caso, la evidencia numérica sugiere que el parasitoide es mayormente específico de *D. speciosa*, y posiblemente *Cerotoma arcuata* Olivier (Magalhães & Quintela, 1987).

Es interesante destacar que la región climáticamente adecuadas para *C. bosqi* en América del Norte detallada en la Fig. 11, se superpone con bastante precisión con aquellas de las *Diabrotica* con adultos invernantes: *D. undecimpunctata undecimpunctata* Mannerheim, *D. u. howardi* y *D. balteata*. Esto excluye la distribución extendida de *D. u. howardi*, a donde esta vaquita llega durante sus migraciones primaverales.

Al igual que con *C. gasseni*, los hospederos conocidos de *C. bosqi* invernan como adultos, y el parasitoide lo hace dentro de ellos. Además la evidencia sugiere que *C. bosqi* no puede invernar fuera de las vaquitas, ni requiere un periodo de frío para la emergencia de la prepupa o el adulto. Por ende también dependería de un hospedero alternativo con adultos invernantes. Herzog (1977), en su trabajo sobre *Cerotoma trifurcata* (Forster), sugiere que *C. diabroticae* inverna como pupa en el suelo, aunque informa haber coleccionado vaquitas invernantes con larvas del parasitoide. Basó sus conclusiones sobre la observación de que pocas vaquitas llegaban vivas al invierno, y menos aun salían de él. Sin embargo, el concepto de pocas vaquitas es bastante esquivo. Por lo pronto, son suficientes para llegar a niveles de plaga en cultivos hortícolas ya a comienzos de la primavera, por lo que bien podrían ser suficientes para albergar una población importante de parasitoides. Tampoco presenta evidencia experimental de que la pupa pueda sobrevivir al invierno. Por otro lado Fischer (1981, 1983), halló larvas de *C. setosa* en adultos invernantes de *Acalymma vittata* (F.), que retomaban su desarrollo en la primavera. De modo que invernar en sus hospederos podría ser un rasgo característico de las *Celatoria*.

IV.2.2. Otros Parasitoides. Se han hallado altas prevalencias de *Celatoria diabroticae* (Shimer) en *Diabrotica u. howardi* (Summers & Stafford, 1953), y *D. u. undecimpunctata* (Fischer, 1981). De estos datos se desprende que *D. u. howardi*, y *D. u. undecimpunctata* son los hospederos clave de *C. diabroticae* (Tabla 14).

La especie mejicana *Celatoria compressa* Wulp fue hallada en varias especies de Diabroticina, especialmente de los géneros *Diabrotica* y *Acalymma*, incluyendo *D. v. virgifera*, y

cuatro otras especies dentro del grupo *virgifera* (Eben & Barbercheck, 1996). Ocasionalmente se la halló en porcentajes bastante altos (ca. 10%) en varios de sus hospederos, y su prevalencia siempre fue significativa (v.g. constante y alta) en todos ellos (Tabla 14) (Eben & Barbercheck, 1996; Eben, 2002).

Celatoria bosqi Blanchard se halló en tres especies de *Diabrotica* (Tabla 7). Sin embargo fue claramente más abundante en *Diabrotica speciosa* (Germar). Sólo ha sido hallada muy rara vez en *D. viridula* (F.) (grupo *virgifera*). Además, el único registro en la especie *Diabrotica* sp. podría ser un hecho inusual. Asimismo, datos experimentales indican que *C. bosqi* no ovipone en *D. v. virgifera* y *D. viridula* (Cabrera Walsh *et al.* 2005). Ambos datos sugieren que este parasitoide es bastante específico de *Diabrotica* en el grupo *fucata*, y puede que no acepte especies del grupo *virgifera* en general. En colecciones masivas de *Cerotoma arcuata* Olivier en el sur de América del Sur nunca se halló el parasitoide citado por Magalhães & Quintela (1987) (Tabla 7), sugiriendo que el parasitoide hallado en este crisomélido haya sido otra especie, o una raza/cepa adaptada a él.

Celatoria sp., hallada en *D. limitata*, no es *C. bosqi*, ni alguna de las especies revisadas de América del Norte. Esto implica que es muy probablemente una especie no descrita (James O'Hara, com. pers.). Ha sido hallada muy pocas veces, y no se ha podido avanzar en el tema de su espectro de hospederos.

Celatoria setosa (Coquillett) ha sido citada con frecuencia en *Diabrotica* spp. (ver Arnaud, 1978, para un registro detallado). Sin embargo, datos de campo y experimentales indican que es casi específica de *Acalymma* spp., y rara vez o nunca parasitan, o pueden desarrollarse en *Diabrotica* spp. (Tabla 14) (Fischer, 1981; 1983).

El braconido *Centistes diabroticae* Gahan, sólo se ha coleccionado en *Acalymma vittata* (F.) (Gahan, 1922; Fischer, 1981). Probablemente sea específica, ya que esta especie de vaquita convive con varias *Diabrotica*, y nunca se halló en alguna de ellas.

IV.2.3. Parasitoides Secundarios. El parasitoide polífago *Hyalomyodes triangulifer* (Leow) (Diptera: Tachinidae), sólo ha sido citado una vez en Diabroticina (*Cerotoma trifurcata* (Forster)), y en bajísimo número (Herzog, 1977). Este es un caso claro de un parasitoide que no es un enemigo natural clave de Diabroticina, ni apto para ser considerado como agente de control

biológico, en virtud de su amplio espectro de hospederos. Del mismo modo, *Pseudomyothenia ancillus* Walker, citado para *D. u. undecimpunctata*, nunca fue citado nuevamente en Diabroticina. Además, es también hallado en Pyralidae, Scarabaeidae, y algunos himenópteros (Tabla 14) (Arnaud, 1978).

Los ácaros trombídidos hallados en adultos de *C. trifurcata* y *D. speciosa* (Peterson *et al.*, 1992; Cabrera Walsh, no publicado) muy probablemente tampoco sean aptos para un programa de control biológico. Los adultos de *Trombidium* son predadores hipogeos generalistas, que se alimentan mayormente de huevos de Collembola. Las larvas ectoparasíticas también son generalistas, y además rara vez producen un daño perceptible en hospederos de tamaño mucho mayor -como sería el caso de los Diabroticina-, o cuando la carga parasítica es pequeña (Zhang, 1998).

Además de los problemas de identificaciones erróneas discutidos con anterioridad, existe un problema adicional. El género *Celatoria* requiere una profunda revisión, especialmente en el caso de las especies sur y centro americanas. Desgraciadamente, los tipos de dichas especies parecen estar perdidas, y hay aún dudas sobre cuántas especies existen. Más aun, las especies halladas en *Cerotoma trifurcata* (Forster) (Danielson *et al.*, 2000), *C. arcuata* (Magalhães & Quintela, 1987), y *Diabrotica limitata* (Sahlberg) (Cabrera Walsh *et al.* 2004), bien podrían ser especies inéditas. En la misma tónica, la especie *Celatoria brasiliensis* Townsend, tiene una descripción breve e incompleta, desprovista de ilustración alguna o referencias a hospederos. Es poco probable que pueda ser referida a alguna de las especies conocidas.

Los nematodos citados en la tabla 15 son sólo los casos registrados de infestaciones espontáneas. Para una bibliografía completa de Nematoda estudiados para el control biológico de los Diabroticina ver Kuhlmann y van der Burgt (1998). Nematodos mermítidos del género *Hexameris* han sido obtenidos de varias especies de Diabroticina, a veces en proporciones muy altas (Tabla 15) (Nickle *et al.*, 1984; Eben & Barbercheck, 1996; Heineck-Leonel & Salles, 1997; Cabrera Walsh *et al.*, 2004). Sin embargo, las especies criadas en el laboratorio probaron tener un amplio espectro de hospederos, incluyendo varios géneros de Chrysomelidae y Coccinellidae benéficos (Nickle *et al.*, 1984). Otro mermítido, *Filipjevimeris leipsandra* (Poinar & Welch), ha sido hallado en 5 a 100% de las larvas de *D. u. howardi* en ensayos a campo (Cuthbert *et al.*, 1968; Creighton & Fassuliotis, 1980). Sin embargo, las parasitosis fueron

altamente variadas dentro de las parcelas, indicando que el patógeno tiene capacidades de dispersión limitadas. Asimismo, este parasitoide ha sido citado para varias especies de (Galerucinae) (Creighton & Fassuliotis, 1980), indicando muy baja especificidad. Las *Micoletzkyia* spp. son parásitos facultativos e inespecíficos de insectos moribundos, que se alimentan de las bacterias y residuos metabólicos del hospedero (Stock 1993). Las especies en los géneros *Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) y *Steinernema* (Nematoda: Steinernematidae) también son generalistas. Las cepas que atacan a los Diabroticina también se desarrollan en un amplio espectro de taxones de insectos, mayormente aquellos de suelos y hábitos crípticos (Barbercheck, 1993; Jackson, 1996). Poco se sabe de las restantes especies de Nematoda citadas de Diabroticina (Tabla 15).

IV.2.4. Perspectivas de Uso de Parasitoides en Control Biológico. En experimentos de laboratorio, *C. gasseni* ovipuso y se desarrolló en tres especies norteamericanas de *Diabrotica* plaga y una de *Acalymma* (Schroder & Athanas, 2002), pero no en especies benéficas de este u otros grupos de coleópteros. Más aun, los patrones elitales de las especies utilizadas son muy diferentes de los de los hospederos naturales, y no exhibieron preferencia alguna entre ellos, sugiriendo que su espectro de hospederos naturales pueda tener una componente etológica importante, pero siempre dentro de los taxones de Diabroticites plagas. Esto indica que si bien no podemos predecir si la especie sería exitosa tras una hipotética liberación en el hemisferio norte, sí podemos asegurar que merece ser seriamente considerada para ello.

Asimismo, *C. compressa*, a diferencia de *C. bosqi*, mostró no tener marcadas preferencias en el laboratorio dentro de los Diabroticina, más allá de las diferencias en la proporción de ataques en cada especie hallada en el campo. A su vez, *C. bosqi*, que parece tan específica de *D. speciosa* en nuestros muestreos, no tiene otra especie tan abundante en el grupo *fucata*, dentro del área de distribución relevada, y ha sido citada en otras especies. En todo caso, ni la evidencia de campo, ni la experimental nos permiten determinar de antemano un espectro de hospederos potenciales. A su vez, dichos datos experimentales (pruebas de espectros de hospederos en jaulas e inyecciones de larvas (Fischer 1981) determinan hospederos plausibles para los parasitoides, porque los muestran como fisiológicamente adecuados, independientemente de que no haya sido hallada la asociación en cuestión en el campo, o sea muy rara. Los mecanismos de

reconocimiento de hospederos en las Tachinidae son diversos y no se conocen con detalle. Sin embargo, se sabe que las hembras experimentadas de *Exorista mella* Walker (Diptera: Tachinidae) son mucho más eficientes que las novatas para evitar víctimas potenciales no aptas para la oviposición, indicando que hay un proceso de aprendizaje involucrado en dicho reconocimiento (Stireman, 2002). Asimismo, varios parasitoides han demostrado comportamientos flexibles moderados por la experiencia reciente a la hora de elegir hospederos. Aparentemente la determinación del hospedero puede darse por exposición a compuestos químicos en la cutícula, heces y otros residuos de este (Vet, 1985; Hare, 1996; Barratt *et al.*, 1999), logrando a veces hasta un desplazamiento de la preferencia natural del parasitoide. Esto sugiere que en un ambiente nuevo, donde la composición específica de hospederos potenciales sea diferente de la original, la selección de hospederos bien puede cambiar dentro de los límites de adecuación taxonómica/fisiológica del parasitoide.

No hay en este trabajo evidencia concluyente de que *C. bosqi* pueda incidir significativamente sobre las poblaciones de *Diabrotica* plagas de América del Norte. La prevalencia de la especie rara vez se acercó a sus máximas de ? 35% (Magalhães & Quintela, 1987; Heineck-Leonel & Salles, 1997, Cabrera Walsh, 2004), ni hay evidencia de laboratorio de que tenga alta fertilidad, o que ataque a alguna de las especies de *Diabrotica* neárticas (Cabrera Walsh, 2004; Cabrera Walsh *et al.*, 2004). Sin embargo, sí parece ser una especie climáticamente altamente adaptable, y no estrictamente especie-específica. Por lo tanto, no es descabellado considerarla una candidata viable para el control de *Diabrotica* plagas, al menos en el grupo *fucata*, y quizá de *Ceratomyza* plagas también. Además, el impacto de un parasitoide en un ambiente nuevo, y por ende teóricamente libre de la mayoría de sus enemigos naturales, no puede ser predicho con precisión, y podría ser mayor que en su lugar de origen. Si más pruebas de especificidad demuestran que es un candidato seguro (*v.g.* que no afectaría negativamente especies nativas benéficas) *C. bosqi* aún puede considerarse un candidato interesante para su liberación en América del Norte.

A pesar de la gran área de muestreo cubierta, y el número de ejemplares y de especies coleccionadas en la familia Chrysomelidae, se halló sólo una especie de parasitoide nueva, y rara, la *Celatoria* sp. de *D. limitata*, confirmándose el patrón hallado en América del Norte: un grupo grande, diverso y ampliamente distribuido con una número muy bajo de especies de

parasitoides. Esta calificación está hecha sobre la base del número de parasitoides hallados en general en otros taxones con especies de importancia agrícola. Por ejemplo, en la historia del control biológico los investigadores han hallado un promedio conservativo de 7 parasitoides por cada especie de Aleyrodidae plaga estudiada, 16 por cada una de Agromyzidae, 8 de Aphididae, 6 de Chrysomelidae, 9 de Coccidae, 5 de Coccinellidae, 9 de Curculionidae, 16 de Lepidoptera, 24 de Pentatomidae, 9 de Tenthredinidae (Parker *et al.*, 1951; Silveira Guido & Ruffinelli, 1956; DeBach *et al.*, 1971; Hagen *et al.*, 1971; Bennett *et al.*, 1976; MacPhee *et al.*, 1976; Valladares *et al.*, 1982; Molinari & Monetti, 1997; Viscarret *et al.*, 2000; Brewer *et al.*, 2001; Crop Protection Compendium, 2001). En América Central y del Sur, hay al menos 2565 chalcidoideos parasíticos distribuidos entre 590 especies de insectos (De Santis, 1979), sin reiterar las especies con más de una especie de hospedero. En una visión más amplia, para una lista de 50 plagas europeas de primera línea, se liberaron 130 especies de parasitoides (van Lenteren, 2001), un promedio de 2.6 parasitoides por especie plaga. En un cálculo equivalente, para 28 plagas claves en Puerto Rico, se liberaron o están en consideración 63 especies de parasitoides (Cruz & Segarra, 1990), o sea 2.25 parasitoides por especie plaga. En ambos casos, sin embargo, la lista debe considerarse incompleta, ya que no se considerarían parasitoides generalistas o poco estudiados. Más aun, estos cálculos consideran especies específicas y/o adecuadas para un plan de control biológico de una especie individual, no un género entero o un grupo supragenérico como los Diabroticina. La razón detrás de esta pobreza de especies de parasitoides podría estar relacionada con la adaptación extendida entre los Diabroticina de almacenar cucurbitacinas de sus plantas hospederas en los tejidos grasos. Hay evidencia de que estos compuestos proveen un efecto preventivo contra predadores, parasitoides y patógenos (Metcalf & Lampman, 1989; Nishida & Fukami, 1989; Brust & Barbercheck, 1992; Tallamy *et al.*, 1997, 1998). Superar estas defensas atávicas podría desafiar la adaptabilidad de los grupos de parasitoides potenciales de tal manera que pocos taxones lograron adecuarse.

Se requiere más exploración para completar la lista de enemigos naturales de Diabroticina, y cabe la posibilidad de que más especies sean halladas entre la rica e inexplorada fauna de América Central y del Sur.

IV.3. Límites Geográficos. Hay una dificultad intrínseca asociada con el análisis de las

estrategias de invernación de especies de tan amplia distribución como *D. speciosa* o, en menor medida, *D. viridula*. Como se comprobó con anterioridad, *D. speciosa* mostró tolerar un espectro ambiental extremadamente amplio. Más aun, el hallazgo de hembras vírgenes tenerales durante el otoño en gran parte de los extremos de su distribución indica que es capaz de aumentar sus poblaciones en tales ambientes. No prueba, sin embargo, que estos ambientes no sean recolonizados cada primavera. Una alternativa obvia y razonable, o al menos fenómeno concurrente, a la invernación en las áreas marginales sería recolonización periódica. De modo que, de hecho, la distribución permanente de estas especies podría ser más restringida de lo aparente.

Un aspecto que no debiera ser desdeñado, es la importancia del efecto corredor en la distribución de estos insectos, particularmente dada su cercana asociación con las actividades antrópicas. El concepto de corredor en el movimiento de especies está normalmente relacionado con estrategias de conservación de especies y hábitats, y describe un canal de hábitat natural que conecta los hábitats fragmentados de una especie dada. Dicha configuración permitiría la supervivencia de dicha especie aun ante la falta de grandes áreas naturales, típicamente causada por la agricultura y otras actividades antrópicas (Wilson & Willis, 1975; Haddad, 2000). En nuestro caso, por el contrario, dichas áreas y corredores naturales serían precisamente los ambientes agrícolas. El efecto corredor operaría en varios sentidos en la distribución de los Diabroticina. Por un lado les permitiría la colonización de áreas climáticamente incompatibles al saltar de una unidad agrícola a otra. Específicamente, las condiciones microclimáticas de las unidades hortícolas bajo irrigación, con frecuencia radicalmente diferentes del ambiente circundante, permitirían temporalmente la supervivencia y reproducción de *D. speciosa*, y la migración hasta el corazón de ambientes aptos por corredores de otra manera hostiles.

Segundo, este "saltiqueo" entre ambientes le permitiría a una especie colonizar ambientes favorables otrora aislados por barreras climáticas y/o físicas. Este podría ser el caso de zonas como el Alto Valle del Río Negro, hasta hace algunas décadas aislado de la Pampa Húmeda por estribaciones de la provincia del Monte, pero en la actualidad conectados por minúsculas pero continuas unidades productivas. La misma situación podría explicar la gran abundancia de *D. viridula* en el sudeste brasileño, nordeste de la Argentina, y Paraguay. *D. viridula* se consideraba normalmente como una especie eminentemente andina, que rara vez se coleccionaba en las zonas

subtropicales orientales de América del Sur (Bechyné & Bechyné, 1962; Krysan & Smith, 1987). En la actualidad, sin embargo, *D. viridula* es uno de los Diabroticites más abundantes de la región, superada en abundancia sólo por *D. speciosa*. De hecho, puede haber adquirido en los últimos cinco años status de plaga en maíz en Misiones, en los estados de Rio Grande do Sul y Santa Catarina en Brasil, y en el este del Paraguay. Podríamos especular que tal aumento abrupto en la abundancia de esta especie esté relacionado con la introducción reciente de agricultura extensiva, mayormente maíz y soja, en los subtrópicos entre Los Andes y el Atlántico, que creó un corredor de hospederos para *D. viridula* donde hasta hace poco el paisaje comportaba un continuo de bosques y monte subtropical, y una moderada producción algodonera (Cabrera & Willink, 1980).

Tercero, este salto entre ambientes pudo haber contribuido a la especiación, cuando las culturas agrícolas precolombinas sirvieron con sus cultivos de “vectores” a especies de *Diabrotica*, llevándolas a áreas incomunicadas donde se aislaron reproductivamente de las poblaciones originales.

En esta misma tesitura, resulta evidente que las variables microclimáticas deben ser tan importantes, si no más, que las variables climáticas generales a la hora de delimitar el área de distribución de los insectos. Especialmente aquellos tan dependientes de las actividades humanas como los Diabroticina. Tendemos a minimizar factores tales como variaciones locales de humedad del suelo, prácticas culturales, comportamientos de asoleado (Meinke & Gould, 1987), o manejo del paisaje, ante datos más extensivos como precipitación anual y temperatura media. Pero consideramos poco probable que los Diabroticites sobrevivan en ambientes tan hostiles sin la ayuda del hombre. Al menos no las especies sudamericanas, carentes de adaptaciones para sobrevivir en climas de inviernos rigurosos o sequías, como sí lo están las especies del hemisferio norte.

IV.4. Selección de Hospederos en Diabroticina

IV.4.1. Diferentes Estados, Diferentes Hospederos. Otra área relativamente inexplorada del comportamiento de los Diabroticites es la relación entre las preferencias de oviposición y alimentación. Aunque las vaquitas tienden a depositar sus huevos en una variedad de sustratos húmedos, tales como arena, tierra, algodón, papel, etc., la presencia de un alimento fresco, y en

particular un hospedero larval adecuado, estimula enormemente la oviposición (Tabla 6) (Branson *et al.* 1975; Cabrera Walsh, 2003), sugiriendo que las hembras de *Diabrotica* normalmente eligen hospederos adecuados para sus larvas. Más aun, las larvas parecen ser incapaces de elegir un hospedero adecuado a no ser por prueba y error, o sea por sabor. La evidencia experimental utilizando toda suerte de compuestos emitidos por las raíces de los hospederos conocidos de los *Diabrotica*, indica que éstas sólo se orientan por el CO₂, y desde corta distancia (Branson & Krysan, 1981; Bernclau & Bjostad, 1998). Esta limitación estaría compensada por el estrecho espectro de hospederos de oviposición observado especialmente en las especies del grupo *virgifera* (Branson & Krysan, 1981; Cabrera Walsh, 2003), un rasgo de incuestionable valor adaptativo en ambientes naturales, donde los hospederos suelen crecer diseminados. Este comportamiento inespecífico ha sido informado para larvas hipogreas de otras especies como el coralillo (*Elasmopalpus lignosellus* (Zeller), Lepidoptera: Pyralidae), el gusano alambre *Ctenicera aeripennis destructor* (Brown) (Coleoptera: Elateridae), o la mosca de la zanahoria (*Psila rosae* (F.), Diptera: Psilidae) (Huang & Mack, 2002).

Sin embargo, *D. v. virgifera* sí suele oviponer al pie de varias plantas no aptas para el desarrollo larval (Siegfried & Mullin, 1990; Levine & Oloumi-Sadeghi, 1996). Este comportamiento nuevo y excepcional se ha vuelto adaptativo mediante la combinación del voltinismo de esta especie, y las prácticas culturales de rotación de cultivos utilizadas en los Estados Unidos. En las décadas de los '80 y '90 se estableció el alternado anual de maíz y soja/girasol en casi toda el área comprendida por los estados de Indiana, Illinois, Iowa, Kansas, y South Dakota (The Corn Belt), tradicionalmente dedicada con exclusividad al cultivo de maíz. Dicha rotación tenía el objeto de controlar las poblaciones de *D. v. virgifera*, y en menor medida *D. barberi*, “quitándole” el sustento a las larvas eclosionadas de los huevos puestos en los campos de maíz de la temporada anterior. La eficacia de dichas medidas empezó a fallar hacia fines de la década del '90, cuando empezaron a encontrarse grandes infestaciones de *D. v. virgifera* en maizales donde se había cultivado soja la temporada anterior. Se determinó en ese momento que un biotipo de *D. v. virgifera* había corrido sus preferencias de oviposición del maíz a la soja (Ellsbury *et al.*, 1999; O'Neal *et al.*, 1999). Es decir, el insecto se adaptó, aparentemente en el término de no más de diez años, a “esperar” que se le proveyeran hospederos adecuados, neutralizando gradualmente la eficacia de la rotación como método de

control. Si bien este episodio exhibe la plasticidad de este grupo, es sobre todo adaptativo, por lo cual no parece haber motivos para esperar semejantes cambios en las *Diabrotica* Sudamericanas (¿Neotropicales en general?) del grupo *virgifera*, ya que parecen carecer de embriones con diapausa. En todo caso, nuestros estudios indican con claridad que estos insectos pueden alimentarse de un amplio espectro de especies vegetales, pero la oviposición tiene un espectro de hospederos mucho más restringido, y con frecuencia divorciado del alimentario, especialmente, en este caso, dentro del grupo *fucata*. La demostración posiblemente más dramática de este hecho sea las altas tasas de consumo por parte de *D. speciosa* observadas en las pruebas de laboratorio en yuyo colorado, girasol, y *Cayaponia* spp., con la virtual ausencia de puestas en cualquiera de estas especies, y el opuesto observado en plantines de maíz (Cabrera Walsh, 2003). En la figura 14 se observa esta comparación en términos del promedio de hoja consumidos, en mm², en 24 hs, junto con el número total (hasta el final de experimento) de huevos por hembra obtenidos en maíz (hospedero de oviposición favorito, de alimentación bajo), *A. quitensis* (hospedero de oviposición bajo, de alimentación favorito), y poroto (favorito en ambos sentidos) (Tabla 16). Se ve con claridad que si bien las hojas de maíz fueron consumidas, lo fueron mucho menos que las otras, en tanto que fue elegido ampliamente para oviponer, confirmándose la tendencia observada en el campo y en las otras pruebas de laboratorio.

Relacionada con este tema está también la cuestión de la especificidad dentro de los Luperini. Aunque la polifagia de las *Diabrotica* del grupo *fucata* está bien documentada (Christensen, 1943; Branson & Ortman, 1967, 1970, 1971; da Costa Lima, 1968; Bach, 1980; Branson & Krysan, 1981; Cabrera Walsh, 2003; Cabrera, 2004; Cabrera Walsh & Cabrera, 2004; Cabrera & Roig-Juñent, 2004), así como la monofagia de *Phyllobrotica* (Luperini: Luperina) en Lamiales (Farrell & Mitter, 1990), en la literatura se suele considerar a este grupo primordialmente monófago/oligófago (Jolivet, 1988). Sin embargo, sostenemos que *Acalymma* y las *Diabrotica* del grupo *virgifera* no merecen esta definición, ya que han demostrado por datos tanto de campo, como experimentales, que pueden alimentarse y desarrollarse en varias especies vegetales dentro de familias numerosas (Poaceae, Cucurbitaceae, Lamiaceae). Quizá se deba unificar criterios a la hora de definir especificidad, ya que si, por ejemplo, estuviéramos en la búsqueda de un potencial agente de control biológico de malezas, difícilmente calificaría alguna de las especies de los grupos mencionados.

IV.4.2. Efectos de Muestreo y Presuntas Preferencias de Hospedero. Sumado a las variaciones de hospederos descritas en la sección precedente, no podemos descartar la influencia de sesgo provocado por el muestreo en la aparente preferencia por las cucurbitáceas. De hecho, coleccionar en las flores de cucurbitáceas, conspicuas y acampanadas, es mucho más sencillo y evidente que en hospederos de estructura menos “discreta”, como plantas enteras de alfalfa o porotos, ni hablar de hospederos silvestres, que crecen aislados o en parches mezclados que pueden escapar a nuestra atención con facilidad. Por ejemplo, en un lote de zapallito es común encontrar 10 a 20 vaquitas por flor. La acumulación de vaquitas, y la forma de la flor dificulta la fuga de los insectos cuando introducimos el pico del aspirador. En una planta de maíz en el mismo lote, en cambio, podríamos encontrar quizá 2 o 3 vaquitas por barba, otro tanto en las flores masculinas, y alimentándose de polen acumulado en las axilas de las hojas, y más distribuidos sobre las hojas y tallo de la planta. Siempre es más laborioso coleccionar en maíz porque los insectos no se hallan concentrados en una sola estructura, y porque muchos se dejan caer o toman vuelo cuando nos aproximamos a la planta. El mismo razonamiento puede aplicarse a hospederos como la soja, alfalfa, yuyo colorado, etc.

En un muestreo más metódico, se cortaron y embolsaron plantas enteras de yuyo colorado. Este procedimiento se llevó a cabo lo más rápida y suavemente posible para minimizar el número de vaquitas fugadas. Cada planta tenía en promedio 36 vaquitas (*D. speciosa* y *P. significata*). Sin embargo, una inspección visual previa de dichas plantas, de alrededor de 3 minutos por planta, rindió de 4 a 7 vaquitas por planta.

También debemos tener en mente que al hablar de densidad de organismos, con mucha frecuencia debemos conformarnos con mediciones indirectas de densidad, como insectos/flor, insectos/hora hombre, insectos/trampa. Más allá de la representatividad de estas estimaciones, el hecho concreto es que la auténtica medida de densidad debiera ser individuos por unidad de superficie o volumen, según corresponda. En una porción, a escala de paisaje, típico de las praderas agrícolas argentinas (por ejemplo: 10 km²) vamos a encontrar en promedio que 20% de la superficie cultivada lo está con maíz, 20% con soja, 17% con girasol, 5% con otros cultivos extensivos. Luego, de la superficie total, 47% tendrá pasturas o barbecho (mayormente de trigo que representa 37% del área cultivada de invierno a primavera) (INDEC, 1999). No más de

0.7%, dependiendo de la zona, estará dedicada a la horticultura, de la cual una porción menor tendrá cucurbitáceas. ¿Qué efecto tendrá esto en la probabilidad de hallar una vaquita, en relación con la densidad medida en número de ejemplares *Diabroticina* por unidad de superficie? Pues el número de vaquitas por hectárea en una región dada se hallará repartida en un parche puro de miles de hectáreas de hospederos adecuados, como maíz, girasol y soja, mientras que en los sectores destinados a la horticultura, estarán concentrados en pequeños parches, aumentando considerablemente la probabilidad/hora de hallar una vaquita, sin que necesariamente haya un incremento de densidad por unidad de superficie.

Aun otro efecto a considerar es el provocado por las feromonas de agregación halladas en varias especies de Chrysomelidae: *Phyllotreta cruciferae* Goeze (Galerucinae: Alticini) (Peng *et al.*, 1999), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Chrysomelinae: Chrysomelini) (Oliver *et al.*, 2002), y, más cerca de nuestro interés, *Acalymma vittata* (Smyth & Hoffmann, 2002). Estas feromonas podrían estar generalizadas entre las Chrysomelidae, pero además están presentes sólo en machos. Dichas feromonas son emitidas cuando el insecto halla una fuente de alimento importante, y aunque no se sabe a ciencia cierta cuál es la ventaja adaptativa de estas feromonas, podría estar en función de incrementar las probabilidades de encuentros dentro de una misma especie, y así favorecer el número de apareamientos y el *fitness* de los huevos resultantes de éstos, proveyéndole a la hembra alimentos suficientes. Los adultos de *Diabroticina* han sido observados en distribuciones agregadas sobre la mayoría de sus hospederos (Steffey & Tollefson, 1982). Dicha agregación no tiene, al menos en nuestros muestreos, una relación con la fenología de las plantas individuales, orientación con respecto al sol o el viento, ni un efecto borde en el cultivo (Cabrera Walsh y Cabrera, 2004). Si los “colonos” eligen su hospedero al azar, pero luego la agregación es por efecto de la feromona, el efecto sobre el muestreo, dada la preferencia de machos por las cucurbitacinas, será una concentración inusual de éstos en flores de cucurbitáceas. Como, a su vez, las hembras no producen tal feromona, la distribución en los hospederos típicos de hembras será más al azar, y difícil la colección, independientemente de la densidad “real” (por ejemplo: insectos/ha) hallada en el área.

Como consecuencia podríamos suponer que el número de ejemplares de *Diabroticina* coleccionados por unidad de tiempo es una función que depende de la densidad de vaquitas (N°/m^2), arquitectura del hospedero, y la presencia de señales químicas. Dichos elementos

podrían combinarse en una función Nt = número de vaquitas coleccionadas por unidad de tiempo, y es similar a N_A de la clásica ecuación de la respuesta tipo 2 de Holling (1959, 1965; Price, 1997) por unidad de tiempo, donde se expresa el número de discos de cartón removidos (N_A) por un predador invertebrado teórico. Dicha ecuación es normalmente expresada como:

$$N_A = aT_T N_0 / 1 + aT_H N_0 \quad (1)$$

Donde N_A representa el número de presas comidas, u hospederos parasitados; a es la tasa de encuentros, una función del tiempo de búsqueda y la probabilidad de hallar la presa:

$$a = N_A / N_0 T_I \quad (2)$$

T_T es el tiempo de captura total (búsqueda + manipuleo); T_H es el tiempo de manipuleo; y N_0 es la densidad de discos de cartón, o sea de la presa.

Si representamos prácticamente la ecuación, podríamos pensar en una situación “ideal de colección”, por ejemplo, vaquitas desperdigadas al azar sobre un piso de mosaicos de 1 m^2 y un predador/entomólogo miope que debe revisar cada mosaico porque su vista no le permite verlas a la distancia (les ruego que toleren esta licencia para poder plantear gráficamente la función). En semejante situación, y con una densidad media $N_0 = 10$ vaquitas/ m^2 , se coleccionaron en promedio de 1 vaquita aspirada cada 1.7 segundos (T_T , y N_A son datos experimentales), lo que nos permitió calcular las a para cada densidad, según la ecuación (2):

Densidad (vaquitas/ m^2)	Tasa de encuentros a
40	0.0325
20	0.045
10	0.06
1	0.33
0.5	0.40
0.2	0.45
0.1	0.48
0.02	0.48
0.01	0.50
0.001	0.50

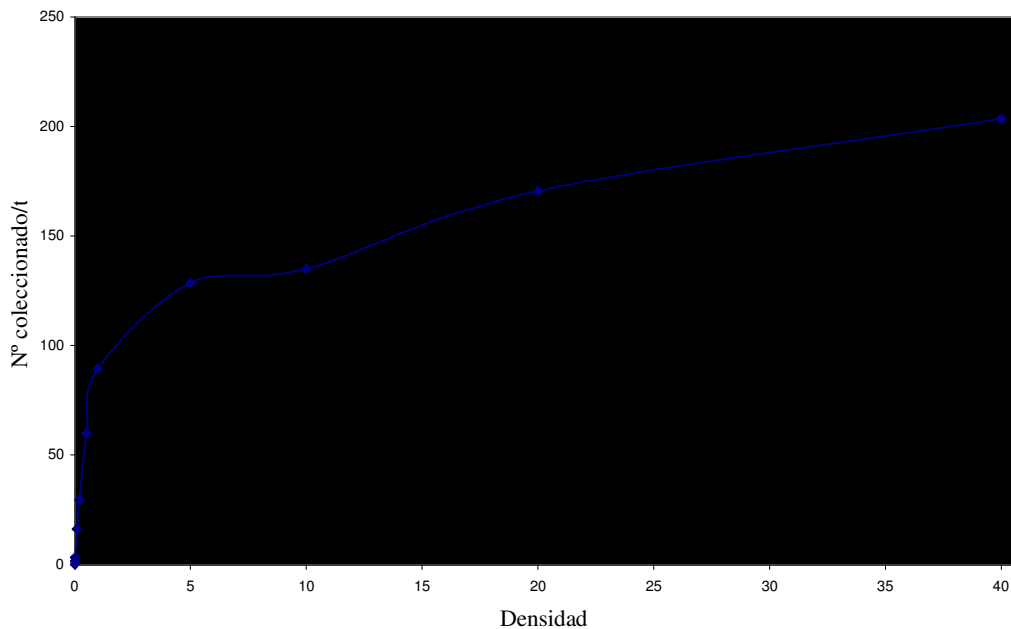
La ecuación a la máxima densidad da $N_A = 540$ vaquitas por hora. Sin embargo, dado que

el tiempo de manipuleo, o sea el tiempo que tarda el entomólogo en “ingerir” la presa con el aspirador, puede considerarse casi instantáneo, lo asimilamos a 1 segundo, quedando una función como la siguiente:

$$N_A = a N_0 T_T / 1 + a N_0 \quad (3)$$

De esta función se obtiene un gráfico como el siguiente, que toma la forma de una función predatoria tipo 2 (Holling 1965).

Función de colección de vaquitas en baldosas



Las diferencias notorias en nuestra situación, empero, derivan de la consideración de la arquitectura de las plantas hospederas, de las atracción diferencial masculina por las cucurbitáceas, y del efecto de las señales químicas de estos. La similitud con una función tipo 2 es que el entomólogo no se sacia nunca. Así, en busca de una situación más real, hemos decidido incorporar a la ecuación el factor “E” de la estructura, o arquitectura del hospedero, en términos de la estratificación del follaje de la planta, que a su vez determinará el número de niveles que deben ser revisados para encontrar una vaquita, de la siguiente manera: cada nivel foliar es de dos superficies (abaxial y adaxial) a revisar, independientemente de la densidad de hospederos

(plantas) por m². En consecuencia, una planta de maíz, que tiene un promedio de 7 hojas por lado, multiplicaría por 1/14 a la tasa de encuentros a . Para otros cultivos, como soja, alfalfa, pimientos, yuyo colorado, proponemos un factor bastante más alto que promediaría 1/40. En girasol, por el contrario, donde el órgano involucrado es la inflorescencia -de ambos lados de las flores marginales-, éste sería de 1/2.

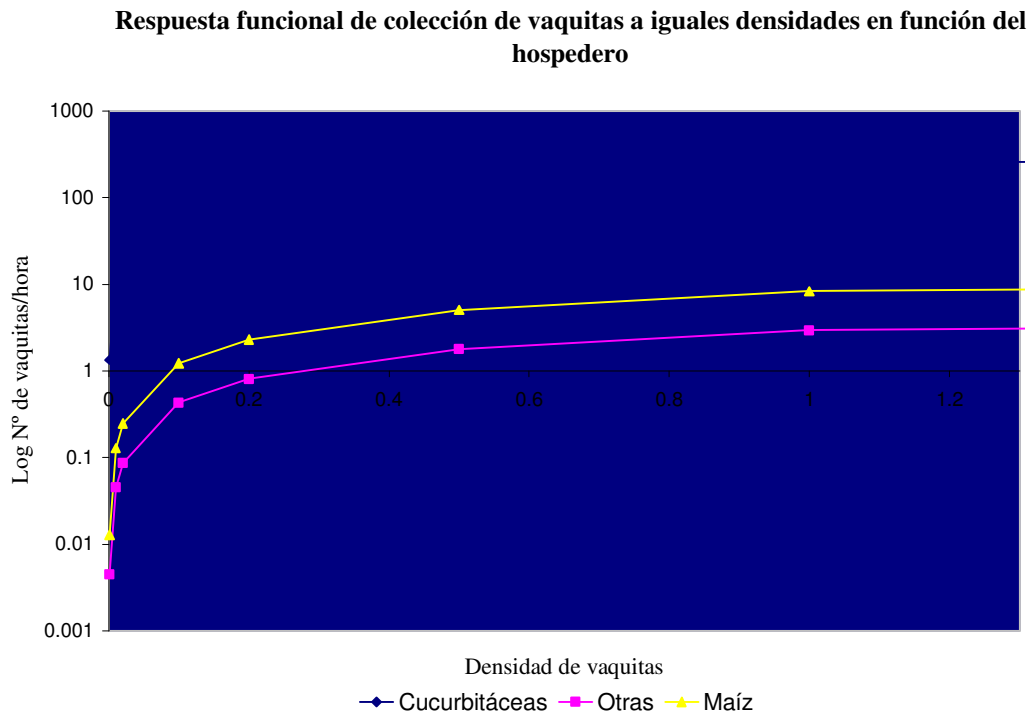
A la vez, la atracción de machos por las cucurbitáceas, con la adición de las hormonas de agregación, influye en los resultados de la colección de campo dando densidades exageradas. Las cucurbitáceas son cultivos espaciados, achaparrados y abiertos, con lo cual se facilita hallar los insectos. Además, éstos se hallan principalmente dentro de las flores, facilitando enormemente la colección, por lo que proponemos que modifica al factor de desplazamiento en 1/2. Sin embargo, no podemos definir en cuanto favorece dicha hormona la agregación de insectos, porque no conocemos el alcance, que a su vez ha de depender de factores tales como temperatura ambiente, densidad de insectos, velocidad del viento, etc. Podríamos proponer, sin embargo, que la suma de dicho factor de agregación con la atracción diferenciada por cucurbitáceas es equivalente al desvío del cociente sexual σ/σ , por cuanto sabemos experimentalmente, y por muestreos en hospederos de otras familias (Fig. 5), que éste es igual a 1. El desvío promedio (\pm SEM) es de 15.4 ± 16.9 , en otras palabras, hay en promedio quince veces más machos que hembras en las cucurbitáceas, por lo que consideramos el factor de agregación en cucurbitáceas “ f ” = 15, si bien esto no toma en cuenta las variaciones estacionales en este desvío (Fig. 5).

Tomando las mismas estimaciones de la ecuación original, tiempo total de búsqueda invertido $T_I = 1$ (una hora), y tiempo de manipuleo $T_H = 1$ segundo, la ecuación de captura de *D. speciosa* en el campo queda conformada como:

$$N_A = a T_I N_0 f / (E + f a N_0) \quad (4)$$

Donde N_A representa el número de vaquitas halladas/t; a son las mismas tasas de encuentro calculadas con anterioridad para cada densidad; E la arquitectura del hospedero; f es el factor de agregación, que vamos a contar como 15 en las cucurbitáceas, o 1 en los otros; y N_0 es la densidad de vaquitas (por m²). Si aplicamos esta ecuación a varios densidades teóricas para tres hospederos diferentes, cucurbitáceas, maíz y plantas de mucho follaje (como porotos, soja,

alfalfa, etc.), se obtiene el siguiente gráfico, donde a iguales densidades se obtienen en cucurbitáceas colecciones del orden de las 10 a 20 veces más altas que en maíz, y 20 a 60 veces más que en otros hospederos, dependiendo de la densidad:



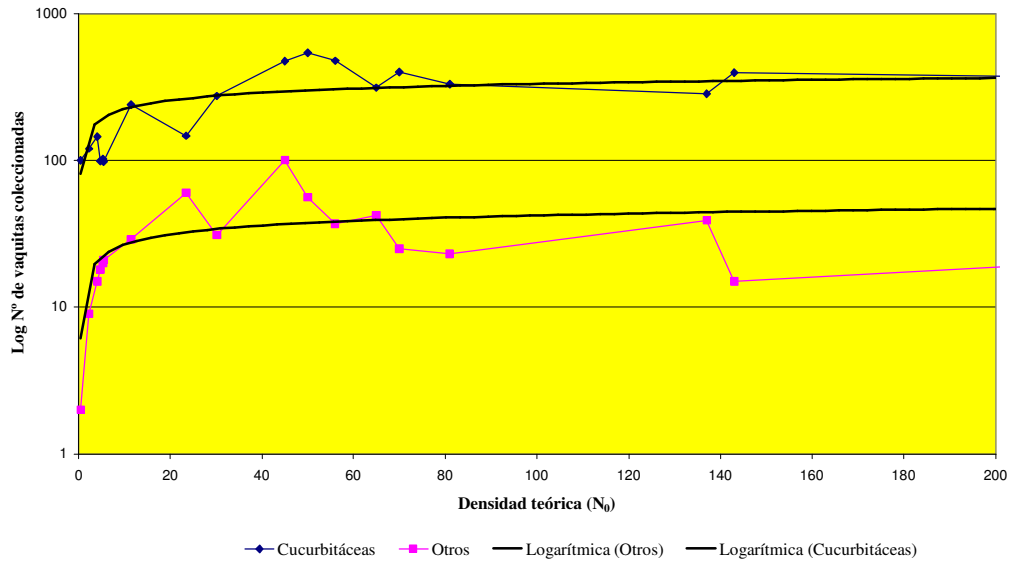
Si aceptamos los términos de la ecuación, se verifica fácilmente que la tasa de captura de vaquitas tendrá menos relación con la densidad por unidad de superficie que con el tipo de hospedero muestreado.

Sin embargo, lo que en realidad nos interesa evaluar aquí, es si las colecciones de campo reales se ajustan, o no, a esta hipótesis. Específicamente, queremos despejar los valores teóricos de densidad (N_0) de vaquitas por m^2 , de las colecciones en un hospedero -cucurbitáceas, en este caso-, y aplicarlas en la ecuación (4), para ver si las colecciones de campo se ajustan entre sí o no. Despejamos entonces la densidad real N_0 , utilizando los coeficientes a obtenidos por interpolación de la función obtenida por la ecuación (2).

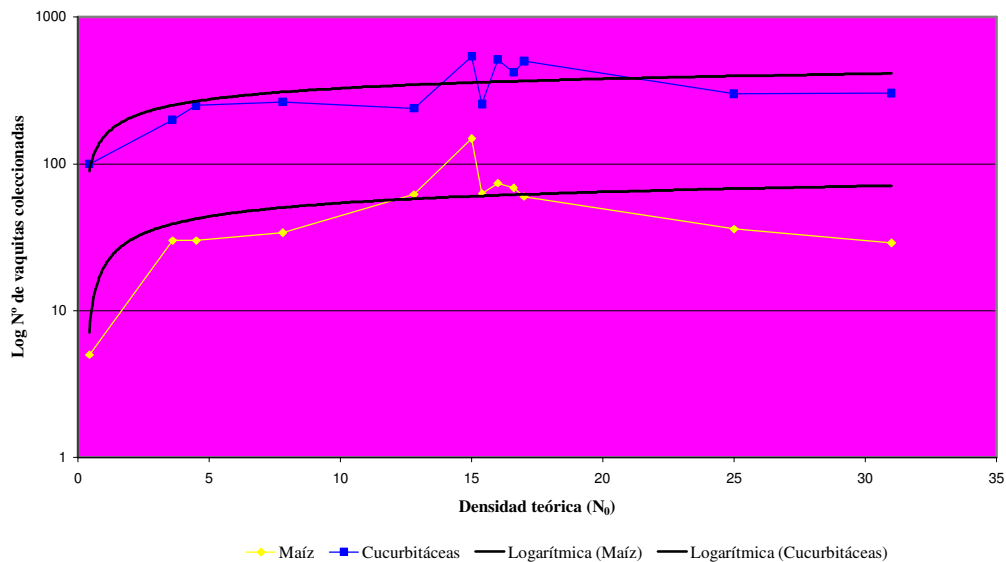
$$N_0 = [N_A E / a f (T_I - N_A)] \quad (5)$$

Y se obtiene los siguientes gráficos, donde se grafican datos de colección reales contra densidades (N_0) teóricas calculadas a partir de los mismos datos.

Colecciones en cucurbitáceas comparadas con otros hospederos



Comparación de colecciones en cucurbitáceas y maíz



Ambos gráficos distan de la función logarítmica esperada, y los datos de campo donde se pudo comparar los números coleccionados en distintos hospederos son relativamente escasos. Sin embargo, los resultados son provocativos. En este momento estamos trabajando en

estandarizar la recolección de datos para emprender estos estudios con mejores fundamentos. Por el momento, sin embargo, estos resultados podrían tener implicancias importantes en los estudios de cualquier organismo cuya agregación y/o detección de su hospedero dependa de feromonas de agregación, o kairomonas emitidas por el hospedero como reacción al daño sufrido, y también con hospederos de diferente arquitectura.

IV.4.3. Papel Hipotético de las Cucurbitaceae en la Biología de los Diabroticites: el Nexo entre la Preferencia por las Cucurbitáceas y las Cucurbitacinas. La preferencia de los Diabroticites adultas por el polen como fuente primordial de alimento está ampliamente aceptada entre los naturalistas (Krysan, 1986; Jolivet, 1987; Cabrera Walsh, 2003), al igual que su inclinación por las cucurbitáceas. Sin embargo, hemos intentado enfatizar la importancia de las diferencias entre hospederos larvales/oviposición y de adultos. La selección de hospederos de adultos ha mostrado ser un proceso dinámico, regulado por factores climáticos y de disponibilidad. Nuestra percepción de preferencias en herbivoría puede estar drástica, pero solapadamente, influenciada por condiciones locales y la altura de la temporada, o, para ser más precisos, la fenología relativa de las plantas hospederas en cuestión. Por ejemplo, se sabe que *D. v. virgifera* desplaza sus preferencias de follaje de maíz a follaje de soja, a medida que el primero envejece (O'Neal et al, 2002). En nuestros muestreos, hemos visto como tanto el número de especies como de individuos, favorece a las cucurbitáceas. Y cómo la aparente preferencia por otras plantas dependía de su ausencia (Cabrera Walsh, 2003).

El desplazamiento a tejidos tiernos de muchas especies de plantas como segunda opción al polen, también parece universal en los Diabroticina (Krysan, 1986). Igualmente, la farmacofagia de cucurbitacinas parece estar ampliamente presente entre los Luperini, y posiblemente las Galerucinae, mediando de esta manera la preferencia por cucurbitáceas (Boppré, 1986). Más aun, varios compuestos volátiles de las flores de algunas cucurbitáceas cultivadas, al igual que algunos homólogos sintéticos, son atrayentes para varias especies de Diabroticites (Ladd *et al.*, 1985; Yaro *et al.*, 1987; Lampman & Metcalf, 1988; Metcalf & Lampman, 1989). De hecho, se ha sugerido que los volátiles florales atraen las vaquitas a la distancia, y las cucurbitacinas las mantienen en el sitio gracias a sus cualidades “arrestantes” (Andersen & Metcalf, 1987). De este modo, optamos por diferenciar hospederos preferidos, y,

figurativamente, hospederos de supervivencia.

Sin embargo, los datos de campo indican que hay un claro sesgo sexual en la atracción por las cucurbitacinas, y en consecuencia, por Cucurbitaceae, que podría relativizar nuestra percepción de que éstas son las hospederas principales y primigenias de los *Diabroticites*.

Se ha observado antes una atracción por aleloquímicos vegetales, con sesgo a favor de los machos, en crisomélidos. Scherer y Boppré (1997) informaron sobre tal sesgo para 17 especies del género *Gabonia* Jacoby (Alticinae), que mostraban gran atracción por alcaloides pirrolizidínicos (AP). Varias especies de Lepidoptera también secuestran AP como defensa y sillares para la síntesis de feromonas, y algunas especies de Orthoptera y Chloropidae (Diptera) son atraídas por ellos (Boppré, 1984; Boppré & Pitkin, 1988). Es interesante destacar varias analogías entre las *Gabonia* y nuestros insectos: primero, los AP son, como las cucurbitacinas, altamente tóxicos (Derache, 1990); segundo, como las cucurbitacinas, son compuestos terpenoides, y aunque más sencillos que éstas, también podrían remedar por estereoisometría esteroides de función biológica; y tercero y principal, las plantas fuentes de los AP no parecían ser necesariamente los hospederos primordiales de las *Gabonia* estudiadas. Los AP y los tejidos vegetales que los contenían provocaban alimentación compulsiva en los alticinos estudiados, “arrestándolos” en su sitio por largos periodos, pero muestreos extendidos de las plantas fuentes de AP halladas en la zona de capturas de los especímenes de *Gabonia* no proveyeron hospederos evidentes de dichas vaquitas. Esto sugiere que el “gusto” de los machos de *Gabonia* por los AP no define necesariamente sus plantas hospederas.

En resumen, sostenemos que hay una preferencia secundaria, mediada por la “farmacofagia”, que remeda una verdadera preferencia de hospedero que podría ocultar, desde el punto de vista poblacional, preferencias por otros hospederos mucho más importantes de lo aparente. La principal conclusión de lo discutido en las últimas secciones, y una de las conclusiones principales de este trabajo, es que hallamos que podría haber una contradicción en la noción, ampliamente aceptada, de que las cucurbitáceas son las hospederas atávicas de los Luperini. Mientras esto podría ser cierto para *Acalymma*, hace agua para *Diabrotica* en general, u otros géneros cercanos como *Paranapiacaba* y *Cochabamba*. La mayoría de las especies en estos géneros han mostrado tener más afinidad por las Poaceae durante los estados inmaduros y para oviponer, tanto en pruebas de laboratorio como en muestreos de campo. De modo que,

¿podría ser que el hospedero primitivo “putativo” del grupo, las cucurbitáceas, fueran sólo “hospedero primitivo adulto”, y que las poáceas fueran el “hospedero primitivo larval”? En el contexto de esta interpretación, la adaptación completa de *Acalymma* a cucurbitáceas podría ser una sinapomorfía en la raíz de la diferenciación del género, más que una plesiomorfía residual de los Luperini.

En plan de avanzar una explicación para la asociación con cucurbitáceas, describiremos la hipótesis del “receptor laxo” (*loose receptor hypothesis*) (Tallamy *et al.*, 1999). Dicha hipótesis contempla la posibilidad de que modificaciones genéticas menores le posibiliten a un taxón adquirir asociaciones nuevas basadas en la farmacofagia. Esto se daría mediante un quimiorreceptor con especificidad imperfecta que acepte una molécula de configuración similar. Las cucurbitacinas son antagonistas de las hormonas esteroides de los insectos, y actúan a nivel de los receptores de ecdisteroides, precisamente por su configuración similar (Dinan *et al.*, 1997; Halaweish *et al.*, 1999). Como los ecdisteroides son hormonas esenciales para la maduración de los huevos y la muda (Warren *et al.*, 1988; Noriega *et al.* 2002), una de las maneras en que las cucurbitacinas podrían actuar como defensa para la planta podría ser reduciendo el daño causado por un fitófago retardando su crecimiento, y disminuyendo las posturas, aun a concentraciones significativamente menores que las requeridas para un efecto tóxico. Entonces, ya en la gestación de la asociación Luperini/cucurbitáceas, podría hallarse un receptor de gusto que aceptó cucurbitacinas en lugar de los fitoesteroles usados como precursores del colesterol. Cuando las ventajas adaptativas de acumular dichos xenobióticos compensaron sus efectos tóxicos, se formó la asociación. Para ello, el insecto debió desarrollar una manera de compensar los efectos tóxicos de las cucurbitacinas: por ejemplo al hidrogenar la cucurbitacina a dihidrocucurbitacina, que no es antagonista de la ecdisterona y podría ser usado como precursor del colesterol (Halaweish *et al.*, 1999), acumulación en cuerpos grasos, un modo frecuente de detoxificación en insectos, y disminución de la sensibilidad/adicción por ellas a medida que aumentara la dosis y el tiempo de exposición a las cucurbitacinas. En consecuencia, el nexa entre Luperini y las cucurbitáceas bien puede ser atávico, pero no necesariamente en el sentido en que normalmente lo tomaríamos, es decir: una asociación primaria y esencial basada en elementos del hospedero que sean indispensables para lograr un desarrollo normal. Sería, más bien, una asociación de origen farmacofágico, que operaría mayormente en adultos, y en particular en machos, consecuencia de

adaptaciones no del todo claras aún, pero seguramente relacionadas con defensas antipredatorias/antibióticas, resultantes quizá de un proceso de selección sexual (Tallamy *et al.*, 2000). En otras palabras, una asociación entre los Luperini y las cucurbitacinas, no necesariamente las Cucurbitaceae.

Bibliografía

- Andersen, J. F. & Metcalf, R. L. 1987.** Factors influencing distribution of *Diabrotica* spp. in blossoms of cultivated *Cucurbita* spp. *Journal of Chemical Ecology* 13: 681-699.
- Arant, F.S., 1929.** Biology and control of the Southern corn rootworm. Alabama Agricultural Experimental Station Bulletin 230: 1-46.
- Araujo Marques, M. 1941.** Contribuição ao estudo dos crisomelídeos do gênero *Diabrotica*. *Boletim da Escola Nacional de Agronomia* 2: 61-143.
- Arnaud, P. H., Jr. 1978.** A host-parasite catalog of North American Tachinidae (Diptera). USDA Miscellaneous Publications No. 1319.
- Atlas climático de la República Argentina, 1960.** Secretaría de Aeronáutica, Servicio Meteorológico Nacional, Buenos Aires, Argentina.
- Avila, C. J.; Tabai, A. C. P. & Parra, J. R. P. 2000.** Comparação de técnicas para criação de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em dietas natural e artificial. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 29: 257-267.
- Baca, F. 1994.** New member of the harmful entomofauna of Yugoslavia *Diabrotica virgifera virgifera* Leconte (Coleoptera, Chrysomelidae). *Zastita bilja* 45: 125-131.
- Bach, C. E. 1980.** Effects of plant diversity and time of colonization on an herbivore-plant interaction. *Oecologia* 44: 319-326.
- Barbercheck, M. E. 1993.** Tritrophic effects on entomopathogenic nematodes. *Environmental Entomology* 22: 1166-1171.
- Barbercheck, M. E.; Ames Herbert Jr., D. & Warrick, Jr., W. C. 1995.** Evaluation of semiochemical baits for management of southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in peanuts. *Journal of Economic Entomology* 88: 1754-1763.
- Barbercheck, M. E.; Wang, J. & Brownie, C. 2003.** Adaptation of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, to insect food plant. *Biological Control* 27: 81-94.
- Barratt, B.I.P.; Ferguson, C. M.; McNeill, M. R. & Goldson, S. L. 1999.** Parasitoid host specificity testing to predict field host range. En: **Withers, T. M.; Barton-Browne, L. & Stanley, J.** (Eds.). *Host specificity testing in Australasia: towards improved assays for biological control*. Cooperative Research centre for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia. pp. 70-

83.

Bartelt, R. J. & Chiang, H. C. 1977. Field studies involving the sex-attractant pheromones of the western and northern corn rootworm beetles. *Environmental Entomology* 6: 853-861.

Bauer, R.; Berganza, L. H.; Seligmann, O. & Wagner, H. 1985. Cucurbitacins and flavone C-glycosides from *Cayaponia tayuya*. *Phytochemistry* 24: 1587-1591.

Bechyné, J. & Bechyné, B. 1962. Liste der bisher in Rio Grande do Sul gefundenen Galeruciden. *Pesquisas (Zool.)*, 6:5-63.

Bechyné, J. & Bechyné, B. 1969. Die Galerucidengattungen in Sudbrasilien. *Iheringia (Zool.)* 36: 1-110.

Bechyné, J. & Bechyné, B. 1970. Beiträge zur Kenntnis der Insektenfauna Boliviens XX. Coleoptera XV. Beiträge zur Galeruciden fauna Boliviens. (Col. Phytophaga). *Veröffentlichungen Zoologischen der Staatssammlung München* 14: 121-190.

Behle, R. W. 2001. Consumption of residue containing cucurbitacin feeding stimulant and reduced rates of Carbaryl insecticide by western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) *Journal of Economic Entomology* 94: 1428-1433.

Bennett, F. D.; Rosen, D.; Cochereau, P. & Wood, B. J., 1976. Biological control of pests of tropical fruits and nuts. En: **Huffaker, C. B., Messenger, P. S.** (Eds.). *Theory and Practice of Biological Control*. Academic Press, New York. pp. 359-395.

Bernclau, E. J. & Bjostad, L. B. 1998. Reinvestigation of host location by western corn rootworm larvae (Coleoptera: Chrysomelidae): CO₂ is the only volatile attractant. *Journal of Economic Entomology* 91: 1331-1340.

Blackwelder, R. E. 1982. Checklist of the coleopterous insects of Mexico, Central America, The West Indies, and South America. Parts 1 - 6. Smithsonian Institution, United States National Museum, Bulletin 185. U.S. Government Printing Office, Washington.

Blanchard, E. E. 1937. Dípteros Argentinos nuevos o poco conocidos. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 9: 35-58.

Boppré, M. 1984. Redefining "pharmacophagy". *Journal of Chemical Ecology* 10: 1151-1154.

Boppré, M. 1986. Insects pharmacophagously utilizing defensive plant chemicals (pyrrolizidine alkaloids). *Naturwissenschaften* 73: 17-26.

Boppré, M. & Pitkin, B. P. 1988. Attraction of chloropid flies to sources of pyrrolizidine

alkaloids (Diptera: Chloropidae). *Entomologia Generalis* 13: 81-85.

Bosq, J. M. 1943. Segunda lista de Coleópteros de la República Argentina dañinos a la agricultura. *Ingeniería Agronómica* 4: 7-80.

Branson, T. F. & Ortman, E. E. 1967. Host range of larvae of the western corn rootworm. *Journal of Economic Entomology* 60: 201-203.

Branson, T. F. & Ortman, E. E. 1970. Host range of larvae of the western corn rootworm: further studies. *Journal of Economic Entomology* 63: 800-803.

Branson, T. F. & Ortman, E. E. 1971. Host range of larvae of the northern corn rootworm: further studies. *Journal of the Kansas Entomological Society* 44: 50-52.

Branson, T. F.; Guss, P. L.; Krysan, J. L. & Sutter, G.R. 1975. Corn rootworms: laboratory rearing and manipulation. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service Bulletin NC-28.

Branson, T. F. & Krysan, J. L. 1981. Feeding and oviposition behavior and life cycle strategies of *Diabrotica*: an evolutionary view with implications for pest management. *Environmental Entomology* 10: 826-831.

Branson, T. F.; Reyes, J. R. & Valdes, H. M. 1982. Field biology of Mexican corn rootworm, *Diabrotica virgifera zea* (Coleoptera: Chrysomelidae), in central Mexico. *Environmental Entomology* 11: 1078-1083.

Branson, T. F. & Jackson, J. J. 1988. An improved diet for adult *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 61: 353-355.

Branson, T. F.; Jackson, J. J. & Sutter, G. R. 1988. Improved method for rearing *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 81: 410-414.

Brewer, M. J.; Nelson, D. J.; Ahern, R. G.; Donahue, J. D. & Prokrym, D. R. 2001. Recovery and range expansion of parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae and Braconidae) released for biological control of *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) in Wyoming. *Environmental Entomology* 30: 578-588.

Brust, G. E. & Barbercheck, M. E. 1992. Effect of dietary cucurbitacin C southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) egg survival. *Environmental Entomology* 21: 1466-1471.

Bussart, J. E. 1937. The bionomics of *Chaetophleps setosa* Coquillet (Diptera: Tachinidae).

Entomological Society of America Annals 30: 285-295.

Cabrera, A.L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería ed. 2. Acme S.A.C.I., Buenos Aires.

Cabrera, A.L. & Willink, A. 1980. Biogeografía de América Latina. OEA, serie de biología 13. Washington.

Cabrera, N. 1999. Contribución para el conocimiento del género *Acalymma* en la Argentina (Coleoptera: Chrysomelidae). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 58: 91-105.

Cabrera, N. 2001a. Estudio sistemático de las especies de *Diabrotica* grupo *fucata* I. (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). Physis, Sección C 58: 47-56.

Cabrera, N. 2001b. Estudio sistemático de las especies de *Diabrotica* grupo *fucata* II. (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). Physis, Sección C 58: 57-66.

Cabrera, N. 2004. Galerucinae. En: **Cordo, H. A.; Lograzo, G. A.; Braun, K & Di Dorio, O.** (Eds.). Catálogo de insectos fitófagos argentinos y sus plantas asociadas. pp. 110-115.

Cabrera, N.; Alvarez Castillo, H. A.; López, A. & Vincini, A. 1997. Una nueva plaga de papa en Argentina, *Maecolaspis bridarollii* (Bechyné) (Coleoptera, Chrysomelidae, Eumolpinae). Revista Latinoamericana de la Papa 1996-1997: 188-199.

Cabrera, N., & Roig-Juñent, S. 1998. Chrysomelidae. En: **Morrone, J. J. & Coscarón, S.** (Eds). Biodiversidad de Artrópodos Argentinos. La Plata, Argentina, Ediciones Sur. pp. 244-256.

Cabrera, N. & Cabrera Walsh, G. 2004a. *Platybrotica misionensis* a new genus and species of Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) from Argentina. Annals of the Entomological Society of America 97: 6-14.

Cabrera, N. & Cabrera Walsh, G. 2004b. *Diabrotica calchaqui* a New Species of Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) from Argentina. Annals of the Entomological Society of America 97: 889-897.

Cabrera Walsh, G. 2001a. Laboratory rearing and vital statistics of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 60: 239-248.

Cabrera Walsh, G. 2001b. *Diabrotica speciosa*. Crop protection compendium, 2001. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Cabrera Walsh, G. 2003. Host range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar)

and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. *Environmental Entomology* 32: 276-285.

Cabrera Walsh, G. 2004. Field and reproductive observations on *Celatoria bosqi* Blanchard (Diptera: Tachinidae), a South American parasitoid of *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae). *Biological Control* 29: 427-434.

Cabrera Walsh, G.; Athanas, M. M.; Salles, L. A. B. & Schroder, R. F. W. 2003. Distribution, host range, and climatic constraints on *Centistes gasseni*, a South American parasitoid of cucumber beetles, *Diabrotica* spp. *Bulletin of Entomological Research* 93: 561-567.

Cabrera Walsh, G. & Cabrera, N. 2004. Distribution and Hosts of the Pestiferous and other Common Diabroticites from Argentina and Southern South America: a Geographic and Systematic View. Pp. 333-350. En: **Pierre H. Jolivet, P. H.; Santiago-Blay, J. A & Schmitt, M.** (Eds.). *New contributions to the biology of Chrysomelidae*. SPB Academic Publishers, The Hague, Netherlands. 804 pp.

Cabrera Walsh, G.; Eben, A.; Toepfer, S.; Zhang, F. & Kuhlmann, U. 2005. A critical review of the known host-parasitoid associations in the Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Applied Entomology*. En prensa

Campbell, J. E. & Jackson, J. J. 1987. Corn rootworm rearing methodologies. *Proceedings of the international symposium on methodologies for developing host plant resistance to maize insects*. CIMMYT, UNDP, GTZ, and USAID.

Cartas de precipitação e temperatura mensais. 1990. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos, Cachoeira Paulista, SP, Brasil.

Chalfant, R. B. & Mitchell, E. R. 1968. Continuous rearing and notes on biology in culture of the southern corn rootworm *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of the Gainesville Entomological Society* 3: 47-50.

Chandler, L.D.; Coppedge, J. R.; Edwards, C. R.; Tollefson, J. L. & Wilde, G. E. 2000. Corn rootworm area-wide management across the US. En: **Tan Penerbrit, K. H.** (Ed.). *Area-wide control of fruit flies and other insect pests*: University Sains, Penang Malaysia. pp. 159-167.

Christensen, J. R. 1943. Estudio sobre el género *Diabrotica* Chev. en la Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria* 10: 464-516.

Climatic atlas of the United States, 1977. U.S. Department of Commerce, Environmental

Science Service Administration, Environmental Data Service, Oceanic and Atmospheric Administration, Washington, DC.

Cobb, N. A. 1921. *Howardula benigna*, a nematode parasite of cucumber beetle (*Diabrotica*). Contributions to the Science of Nematology 10 : 345-352.

Contardi, H. G. 1939. Estudios genéticos en *Cucurbita* y consideraciones agronómicas. Physis 18: 332-347.

Corn Belt Growers Give Areawide IPM a Try. Agricultural Research, October 1997, p. 5.

Corn Rootworms Get Juiced. Agricultural Research, May 1998, p.11.

Creighton C. S., & Fassuliotis, G. 1980. Seasonal population fluctuations of *Filipjevimermis leipsandra* and infectivity of juveniles on the banded cucumber beetle. Journal of Economic Entomology 73: 296-300

Crop protection compendium, 2001. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Cruz, C. & Segarra, A., 1990. Recent biological control experiences in Puerto Rico. Proceedings of the Caribbean meetings on biological control, 5-7 November 1990, Guadeloupe, F.W.I.

Cuthbert, Jr., F. P.; Creighton, C. S. & Cuthbert, R. B., II. 1968. Mass rearing banded cucumber beetles, with notes on rearing spotted and striped cucumber beetles. Journal of Economic Entomology 61: 288-292.

Da Costa Lima, A. M. 1968. Quarto Catalogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil.

Danielson, S. D., Brandle, J. R. & Hodges, L. 2000. Parasitoids of the bean leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) found in Nebraska soybean fields. Journal of the Kansas Entomological Society 73: 242-244.

Daoust, R. A. & Pereira, R. M. 1986. Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle-attracting tubers and cowpea foliage in Brazil. Environmental Entomology 15: 1237-1243.

D'Araujo e Silva, A. G., Gonçalves, C. R. & Monteiro, G. D. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores. Ministerio da Agricultura, Depto. De Defesa em Inspeção Agropecuaria, Servicio de Defesa Sanitaria Vegetal, Laboratorio Central de Patología Vegetal, Rio de Janeiro, Brasil.

- D'Araujo e Silva, A.G., Gonçalves, C. R., Monteiro Galvão, D., Lobo Gonçalves, A. J., Gomes, J., Silva, M. N., & Simoni, L. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores. Min. Agric., Tomo 1, parte 2. Rio de Janeiro, Brasil.
- DeBach, P., Rosen, D. & Kennett, C. E. 1971.** Biological control of coccids by introduced natural enemies. En: **Huffaker, C. B.** (Ed.). Biological Control. Plenum press, New York, pp. 165-194.
- Deheer, C. J. & Tallamy, D. W. 1991.** Affinity of spotted cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae to cucurbitacins. Environmental Entomology 20: 1173-1175.
- Derache, J. 1990.** Toxicología y seguridad de los alimentos. Ediciones Omega, Buenos Aires.
- De Santis, L., 1979.** Catálogo de los himenópteros calcidoideos de América al sur de los Estados Unidos. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina.
- Dinan, L., Whiting, P., Girault, J., Lafont, R., Dhadialla, T. S., Cress, D. E., Mugat, B., Antoniewski, C. & Lepesant, J. 1997.** Cucurbitacins are insect steroid hormone antagonists acting at the ecdysteroid receptor. Biochemistry Journal 327: 643-650.
- Eben, A. 1999a.** New information on the natural history of *Diabrotica scutellata* Jacoby (Chrysomelidae: Luperini). Coleopterists Bulletin 53: 186.
- Eben, A. 1999b.** Host plant breadth and importance of cucurbitacins for the larvae of *Diabrotica* (Galerucinae: Luperini). En: **Cox, M. L** (Ed.). Advances in Chrysomelidae biology 1. Leiden, The Netherlands, Backhuys Publishers. pp. 361-374.
- Eben, A. 2002.** Notes on distribution, host plants and natural enemies of *Diabrotica amecameca* (Chrysomelidae: Galerucinae) in Puebla, Mexico. Coleopterists Bulletin 56, 69-70
- Eben, A., and M. E. Barbercheck. 1996.** Field observations on host plant associations and natural enemies of diabroticite beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in Veracruz, Mexico. Acta Zoologica Mexicana 67: 47-65.
- Eben, A., Barbercheck, M. E. & Aluja S. M. 1997.** Mexican diabroticite beetles: I. Laboratory test on host breadth of *Acalymma* and *Diabrotica* spp. Entomologia Experimentalis et Applicata 82: 53-62.
- Ellers-Kirk, C. D., Fleischer, S. J., Snyder, R. H. & Lynch, J. P. 2000.** Potential of entomopathogenic nematodes for biological control of *Acalymma vittatum* (Coleoptera:

- Chrysomelidae) in cucumbers grown in conventional and organic soil management systems. *Journal of Economic Entomology* 93: 605-612.
- Ellsbury, M. M., Exner, D. N. & Cruse, R. M. 1999.** Movement of corn rootworm larvae (Coleoptera: Chrysomelidae) between border rows of soybean and corn in a strip intercropping system. *Journal of Economic Entomology* 92: 207-214.
- Elsey, K. D. 1988a.** Reproductive diapause in the spotted cucumber beetle, *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Florida Entomologist* 71: 78-83.
- Elsey, K. D. 1988b.** Cucumber beetle seasonality in coastal South Carolina. *Environmental Entomology* 17: 495-502.
- Elsey, K. 1989.** Cold tolerance of adult spotted and banded cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 18: 1112-1116.
- Estadísticas Climatológicas. 1985.** Fuerza Aérea Argentina, Servicio Meteorológico Nacional, Buenos Aires.
- Farrell, B. & Mitter, C. 1990.** Phylogenesis of insect/plant interactions: have *Phyllobrotica* leaf beetles (Chrysomelidae) and the Lamiales diversified in parallel? *Evolution* 44: 1389-1403.
- Fischer, D. C. 1981.** Tachinid parasitoids of *Acalymma vittata*, *Diabrotica undecimpunctata* and *Diabrotica virgifera*. M.S. thesis, University of Illinois, Urbana.
- Fischer, D. C. 1983.** *Celatoria diabroticae* Shimer and *Celatoria setosa* Coquillett: tachinid parasitoids of the Diabroticite coleoptera. Ph.D. dissertation, University of Illinois, Urbana.
- Fronk, J. R. 1950.** Cultural and biological control of southern corn rootworm in peanuts. *Journal of Economic Entomology* 43: 22-24.
- Gahan, A. B. 1922.** A new hymenopterous parasite upon adult beetles. *Ohio Journal of Science* 22: 140-142.
- Gassen, D. N. 1984.** Insetos associados a cultivo do trigo no Brasil. EMBRAPA-CNPT. Circular técnica, 3. Passo Fundo, RS.
- Gassen, D. N. 1986.** Parasitos, patógenos e predadores de insetos associados à cultura do trigo. EMBRAPA-CNPT. Circular técnica, 1. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Gassen, D. N. 1989.** Insetos subterrâneos prejudiciais as culturas no sul do Brasil. EMBRAPA-CNPT. Documentos, 13. Passo Fundo, RS.
- Gillespie, J. J., Kjer, K. M., Duckett, C. N. & Tallamy, D. W. 2003.** Convergent evolution of

- cucurbitacin feeding in spatially isolated rootworm taxa (Coleoptera: Chrysomelidae; Galerucinae: Luperini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 161-175.
- Gordon, R., Ellington, J., Ferguson Faubion, G. & Graham, H. 1987.** A survey of the insect parasitoids from alfalfa and associated weeds in New Mexico. *Southwestern Entomologist* 12: 335-350.
- Guimarães, J. H. 1971. 104.** Family Tachinidae (Larvaevoridae). En: **Papavero, N.** (Ed.). A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States, pp. 1-333. Departamento de Zoologia, Secretaria da Agricultura, São Paulo, Brasil.
- Haddad, N. 2000.** Corridor length and patch colonization by a butterfly, *Junonia coenia*. *Conservation Biology* 14: 738-745.
- Hagen, K. S., van den Bosch, R. & Dahlsten, D. L., 1971.** The importance of naturally-occurring biological control in the western United States. En: **Huffaker, C. B.** (Ed.). *Biological Control*. Plenum press, New York, pp. 253-293.
- Halaweish, F. T., Tallamy, D. W. & Santana, E. 1999.** Cucurbitacins: a role in cucumber beetle steroid nutrition? *Journal of Chemical Ecology* 25: 2373-2383.
- Hamerschmidt, I. 1985.** Uso do tajuja e purungo como atraentes de vaquinha em olericultura. *Horticultura Brasileira* 3: 45.
- Hammack, L. 2001.** Single and blended maize volatiles as attractants for Diabrotica corn rootworm beetles. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1373-1390.
- Hammack, L. 2003.** Volatile semiochemical impact on trapping and distribution in maize of northern and western corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Agricultural and Forest Entomology* 5: 113-122.
- Hare, J. D. 1996.** Priming *Aphytis*: behavioral modification of host selection by exposure to a synthetic contact kairomone. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 263-269.
- Harries, V. 1975.** Zur innerartlichen Variabilität, Wirtspflanzen-Präferenz und Schadendeutung von Blattkäfern der U. F. Galerucinae (Col., Chrysomelidae) in Feldkulturen des Cauca-Flußtals Columbien. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie* 6: 491-497.
- Hayward, K. J. 1941.** Insectos de importancia económica en la región de Concordia (Entre Ríos). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 11: 68-109.
- Heineck-Leonel, M. A. & Salles, L.A.B. 1997.** Incidência de parasitoides e patógenos em

- adultos de *Diabrotica speciosa* (Germ.) (Coleoptera: Chrysomelidae) na região de Pelotas, RS. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 26: 81-85.
- Herzog, D. C. 1977.** Bean leaf beetle parasitism by *Celatoria diabroticae* (Shimer) and *Hyalomyodes triangulifer* (Leow). Journal of the Georgia Entomological Society 12: 64-68.
- Holling, C.S. 1959.** Some characteristics of simple types of predation and parasitism. Canad. Entomol. 91: 385-398.
- Holling, C. S. 1965.** The functional response of predators to prey density and its role in mimicry and population regulation. Memories of the Entomological Society of Canada 45: 1-60.
- Howe, W. L. & George, B. W. 1966.** Corn rootworms. En: **Smith, C. N.** (Ed.). Insect colonization and mass production. New York., Academic Press. pp. 367-383.
- Howe, W.L., Sanborn, J.R. & Rhodes, A.M., 1976.** Western corn rootworm adult and spotted cucumber beetle associations with *Cucurbita* and cucurbitacins. Environmental Entomology 5: 1043-1048.
- Huang, X.P. & Mack, T.P. 2002.** Collection and determination of lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Pyralidae) larval attractant from peanut plants. Environmental Entomology 31: 15-21.
- Jacobs, H. & Singh, T. 1990.** Isolation and C-NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa*, and *Gurania subumbellata*. Journal of Natural Products 53: 1600-1605.
- Jackson, J. J.** 1986. Rearing and handling of *Diabrotica virgifera* and *Diabrotica undecimpunctata howardi*, pp. 25-47. En: **Krysan, J. L. and T. A. Miller** (Eds.). Methods for the study of pest *Diabrotica*. Springer, New York.
- Jackson, J. J. 1996.** Field performance of entomopathogenic nematodes for suppression of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology 89: 366-372.
- Jackson, J. J. & Brooks, M. A. 1995.** Parasitism of western corn rootworm larvae and pupae by *Steinernema carpocapsae*. Journal of Nematology 27: 15-20.
- Jolivet, P. 1987.** Aperçu de la sélection trophique chez les Galerucinae. Etude par genre (Coleoptera: Chrysomelidae). Bulletin de la Société royale belge d'Entomologie 123: 283-307.
- Jolivet, P. 1988.** Food habits and food selection of Chrysomelidae. Bionomic and evolutionary

perspectives. En: **Jolivet, P., Petitpierre, E. & Hsiao, T. H.** (Eds.). *Biology of Chrysomelidae*. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers. pp. 1-23

Jolivet, P. & Hawkeswood, T. J. 1995. *Host-plants of Chrysomelidae of the World. An Essay about the Relationships between the leaf-beetles and their Food-plants*. Leiden, The Netherlands, Backhuys Publishers.

Krombein, K. V.; Hurd, Jr., P. D.; Smith, D. R. & Burks, B. D. 1979. *Catalog of Hymenoptera in America north of Mexico*. Smithsonian Inst. Press, Washington, DC.

Krysan, J. L. 1982. Diapause in the nearctic species of the *virgifera* group of *Diabrotica*: evidence for tropical origin and temperate adaptations. *Annals of the Entomological Society of America* 75: 136-142.

Krysan, J. L. 1986. Introduction: biology, distribution, and identification of pest *Diabrotica*. En: **Krysan, J. L. & Miller, T. A.** (Eds.). *Methods for the study of pest Diabrotica*. New York, Springer. pp. 1-23.

Krysan, J. L., Branson, T. F. & Diaz Castro, G. 1977. Diapause in *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae): a comparison of eggs from temperature and subtropical climates. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 22: 81-89.

Krysan, J. L., Branson, T. F., Schroder, R. F. W. & Steiner, W. E. 1984. Elevation of *Diabrotica sicuanica* (Coleoptera: Chrysomelidae) to the species level with notes on the altitudinal distribution of *Diabrotica* species in the Cuzco Department of Peru. *Entomological News* 95: 91-98.

Krysan, J. L. & Smith, R. F. 1987. Systematics of the *virgifera* species group of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae). *Entomography* 5: 375-484.

Kuhlmann, U. & van der Burgt, W.A.C.M. 1998. Possibilities for biological control of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, in Central Europe. *Biocontrol* 19: 59-68.

Ladd, T. L., Jr, Krysan, J. L. & Guss P. L. 1985. Corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae): responses to eugenol and 8 R-methyl-2R-decyl propanoate. *Journal of Economic Entomology* 78: 844-847.

Laguzzi, S. M. & C. R. Novara. 1988. Estadísticos vitales de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera - Chrysomelidae) en condiciones de laboratorio. Seminar I and II,

Universidad de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Lampman, R. L. & Metcalf, R. L. 1988. The comparative response of *Diabrotica* species (Coleoptera: Chrysomelidae) to volatile attractants. *Environmental Entomology* 17: 644-648.

Lance, D. R. 1990. Factors affecting capture of corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) at traps baited with nonpheromonal attractants. *Environmental Entomology* 19: 882-889.

Lance, D. R. & Sutter, G. R. 1990. Field-cage and laboratory evaluations of semiochemical - based baits for managing western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 1085-1090.

Lance, D. R. & Sutter, G. R. 1992. Field tests of a semiochemical toxic bait for suppression of corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 85: 967-973.

Levine, E. & Oloumi-Sadeghi, H. 1996. Western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larval injury to corn grown for seed production following soybeans grown for seed production. *Journal of Economic Entomology* 89: 1010-1016.

Link, D. & Costa, E. C. 1978. Danos causados por crisomelídeos em soja. *Revista do Centro de Ciências Rurais* 8: 245-250.

Long, W. H. 1954. The biology of the southern corn root worm, *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber, and its relation to peanut culture in North Carolina. M.S. Thesis, N. C. State Univ., Raleigh, NC.

Lorenzato, D. 1984. Controle integrado de *Diabrotica speciosa* (Germar 1824) em frutíferas de clima temperado com cairômonio encontrado em raízes de plantas nativas da família Cucurbitaceae. *Anais do VII Congresso Brasileiro de Fruticultura* 1: 347-355.

MacPhee, A. W., Caltagirone, L. E, van de Vrie, M. & Collyer, E, 1976. Biological control of pests of temperate fruits and nuts. En: **Huffaker, C. B., Messenger, P. S.** (Eds.). *Theory and Practice of Biological Control*. Academic Press, New York, pp. 337-358.

Magalhães, B. P. & E. D. Quintela. 1987. Níveis de parasitismo de *Urosigalphus chalcodermi* Wilkinson sobre *Chalcodermus bimaculatus* Fiedler e de *Celatoria bosqi* Blanchard sobre *Cerotoma arcuata* Olivier em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em Goiás. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 16: 235-238.

- Marrone, P. G., Brooks, W. M. & Stinner, R. E. 1983.** The incidence of tachinid parasites and pathogens in the adult populations of the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata* (Forster) (Coleoptera: Chrysomelidae) in North Carolina. *Journal of the Georgia Entomological Society* 18: 261-266.
- Marrone, P. G., F. D. Ferri, T. R. Mosley & L. J. Meinke. 1985.** Improvements in laboratory rearing of the southern corn rootworm, *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber (Coleoptera: Chrysomelidae), on an artificial diet and corn. *Journal of Economic Entomology* 78: 290-293.
- Martínez de Carvalho, S. & Hohmann, C. L. 1983.** Biology and leaf consumption of *Diabrotica speciosa* (Germ., 1824) in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L., 1753), under laboratory conditions. *Annual Report on Bean Improvement and Cooperation* 26: 65-66.
- Meinke, L. J. & Gould, F. 1987.** Thermoregulation by *Diabrotica undecimpunctata howardi* and potential effect on overwintering biology. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 45: 115-122.
- Meinke, L. J.; Mayo, Z. B. & Weissling, T. J. 1989.** Pheromone delivery system: western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) pheromone encapsulation in a starch borate matrix. *Journal of Economic Entomology* 82: 1830-1835.
- Mendoza, C. E. & Peters, D. C. 1963.** Mass rearing southern corn rootworms. *Proceedings of the North Central Branch of the Entomological Society of America* 18: 92-93.
- Metcalf, R. L. 1986.** Foreword. En: **Krysan, J. L. & Miller, T. A.** (Eds). *Methods for the study of pest Diabrotica*. New York, Springer. pp. vii-xv
- Metcalf, R. L. 1994.** Chemical ecology of Diabroticites. En: **Jolivet, P. H., Cox, M. L. & Petipierre, E.** (Eds.). *Novel aspects of the biology of Chrysomelidae*. Dordrecht, Kluwer Academic Publ. pp. 153-169.
- Metcalf, R. L., R. A. Metcalf, & A. M. Rhodes. 1980.** Cucurbitacins as kairomones for Diabroticite beetles. *Proceedings of the Academ of Sciences of the United States of America* 77: 3769-3772.
- Metcalf, R. L. & Lampman R. L. 1989.** The chemical ecology of Diabroticites and Cucurbitaceae. *Experientia* 45: 240-247.
- Millán, R. 1945.** Variaciones del zapallito amargo “*Cucurbita Andreana*” y el origen de

Cucurbita maxima. Revista Argentina de Agronomía 86-93.

Molinari, A. M. & Monetti, C. 1997. Parasitoides (Hymenoptera) de insectos plaga del cultivo de soja en el centro sur de la provincia de Santa Fe (Argentina). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 56: 43-46.

Munson, J. D., and T. J. Helms. 1970. Field evaluation of the nematode (DD-136) for control of corn rootworm larvae. Proc. North Cent. Branch Entomol. Soc. Am. 25: 97-99.

Nickle, W. R., Schroder, R.F.W. & Krysan, J. L. 1984. A new Peruvian *Hexameris* sp. (Nematoda: Mermithidae) parasite of corn rootworms, *Diabrotica* spp. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 51: 212-216.

Nishida, R. & Fukami, H. 1990. Sequestration of distasteful compounds by some pharmacophagous insects. Journal of Chemical Ecology 16: 151-164.

Noriega R., Ramberg, F. B. & Hagedorn, H. H. 2002. Ecdysteroids and oocyte development in the black fly *Simulium vittatum*. BMC Developmental Biology 2: 6.

Olalquiaga, F. G. 1980. Aspectos fitosanitarios de la Isla de Pascua. Revista Chilena de Entomología 10: 101-102.

Oliver, J. E., Dickens, J. C. & Glass, T. E. 2002. (S)-3, 7-Dimethyl-2-oxo-6-octene-1, 3-diol an aggregation pheromone of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Tetrahedron Letters 43: 2641-2643.

O'Neal, M. E., Gray, M. E. & Smyth, C. A. 1999. Population characteristics of a western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) strain in east-central Illinois corn and soybean fields. Journal of Economic Entomology 92: 1301-1310.

O'Neal, M. E., DiFonzo, C. D. & Landis, D. A. 2002. Western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) feeding on corn and soybean leaves affected by corn phenology. Environmental Entomology 31: 285-292.

Parker, H. L., Berry, P. A & Silveira Guido, A. 1951. Host-parasite and parasite-host lists of insects reared in the South American parasite laboratory. Apartados de la Revista de la Asociación de Ingenieros Agrónomos 92: 101 pp.

Pecchioni, M.T.D. de. 1988. Crianza de *Diabrotica speciosa* bajo condiciones de laboratorio. Revista Peruana de Entomología 31: 86-90.

Peng, C., Bartelt, R. J. & Weiss, M. 1999. Male crucifer flea beetles produce an aggregation

pheromone. *Physiological Entomology* 24: 98-99.

Peters, L. L. 1986. Corn rootworm larval control with nematodes, 1983. *Insecticide and Acaricide Tests* 10: 203-205.

Peterson, R. K., Smelser, R. B., Klubertanz, T. H., Pedigo, L. P. & Welbourn, W. C. 1992. Ectoparasitism of the bean leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) by *Trombidium hyperi* Vercammen-Grandjean, Van Driesche, and Gyrisco and *Trombidium newelli* Welbourn and Flessel (Acari: Trombidiidae). *Journal of Agricultural Entomology* 9: 99-107.

Petroski, R. J. & Hammack, L. 1998. Structure activity relationships of phenyl alkyl alcohols, phenyl alkyl amines, and cinnamyl alcohol derivatives as attractants for adult corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae: *Diabrotica* spp.). *Environmental Entomology* 27: 688-694.

Poinar, Jr., G. O. 1968. Parasitic development of *Filipjevimermis leipsandra* Poinar and Welch (Mermithidae) in *Diabrotica undecimpunctata* (Chrysomelidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 35: 161-169.

Price, P. W. 1997. *Insect Ecology*. 3ª edición. John Wiley & Sons Inc., New York. 874 pp.

Radin, A. M. & Drummond, F. A. 1994. Patterns of initial colonization of cucurbits, reproductive activity, and dispersion of striped cucumber beetle, *Acalymma vittata* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Agricultural Entomology*, 11: 115-123.

Reyes, H. E. & Castillo, L. J. 1988. Transmisión del virus del moteado clorótico del maíz (maize chlorotic mottle virus -MCMV-) por dos especies del género *Diabrotica*, familia Chrysomelidae. *Fitopatología* 23: 65-73.

Rocha Farias, M., & Schenkel, E. P. 1987. Caracterizaçõ de cucurbitacinas em espécies vegetais conhecidas popularmente como taiuiá. *Ciencia e Cultura* 39: 970-973.

Rose, R. I. & McCabe, J. M. 1973. Laboratory rearing techniques for the southern corn rootworm. *Journal of Economic Entomology* 66: 398-400.

Rosillo, M. A. 1944. Enumeración de insectos vinculados a la economía de Entre Ríos (1a. parte, Coleoptera). *Memoria del Museo de Entre Ríos* 22 (Zoología): 1-82.

Rouschop, P., Baudoin, J. P., Camarena Mayta, F., Drion, A. & Mergeai, G. 1999. Analyse préliminaire de la situation et des perspectives de la culture du haricot de Lima (*Phaseolus lunatus* L.) sur la côte péruvienne (vallées d'Ica, Pisco et Casma). *Biotechnology, Agronomy Society & Environment* 3: 115-126.

- Sarasola, A. A., Rocca de Sarasola, M. A., Montero, J. C. & Ferrando, J. C. 1980.** Influencia de sistemas de labranza sobre la predisposición del maíz y girasol a los daños causados por *Diabrotica speciosa*: falta de efectos en girasol. *Fitopatología* 15: 29-32.
- Schalk, J. M. 1986.** Rearing and handling of *Diabrotica balteata*, pp. 49-56. En: **Krysan, J. L. and T. A. Miller** (Eds.). *Methods for the study of pest Diabrotica*. Springer, New York.
- Schalk, J. M., McLaughlin, J. R. & Tumlinson, J. H. 1990.** Field response of feral male banded cucumber beetles to the sex pheromone 6,12--dimethylpentadecan--2--one. *Florida Entomologist* 73: 292-297.
- Scherer, G. & Boppré, M. 1997.** Attraction of *Gabonia* and *Nzerekorena* to pyrrolizidine alkaloids – with descriptions of 13 new species and notes on male structural peculiarities (Insecta, Coleoptera, Chrysomelidae, Alticinae). *Spixiana* 20: 7-38.
- Schroder, R.F.W., Martin, P.A.W. & Athanas, M. M. 2001.** Effect of a Phloxine B-Cucurbitacin Bait on Diabroticite Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 94: 892-897.
- Schroder, R. F. W. & Athanas, M. M. 2002.** Biological observations of *Centistes gasseni* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 104: 554-562.
- Schroder, R.F.W, Athanas, M. M. & Camp, M. J. 2002.** The Effect of Simulated Solar Radiation on Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) Adults Fed D & C Red # 28, a Photoactive Xanthene Dye. *Journal of Entomological Science* 37: 254-258.
- Seeno, T. & Wilcox, J. 1982.** Leaf Beetle Genera (Coleoptera, Chrysomelidae). *Entomography* 1: 1-221.
- Sell, R. A. 1915.** Some notes on the western twelve-spotted and the western striped cucumber beetle. *Journal of Economic Entomology* 8: 515-520.
- Servicio Meteorológico Nacional, Comisión Nacional del Agua, México. 2001.** Precipitación media mensual de la República Mexicana, período 1941-2000.
[HTTP://smn.cna.gob.mx/productos/ map-lluv/lluviah](http://smn.cna.gob.mx/productos/map-lluv/lluviah).
- Shaw, S. R. 1995.** A new species of *Centistes* from Brazil (Hymenoptera: Braconidae: Euphorinae) parasitizing adults of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae), with a key to New World species. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 97: 153-160.

- Siegfried, B. D. & Mullin, C. A. 1990.** Effects of alternative host plants on longevity, oviposition, and emergence of western and northern corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 19: 474-480.
- Silva-Werneck, J. O.; de Faria, M. R.; Abreu Neto, J.R.M.V.; Magalhães, B. P. & Schmidt, F.G.V. 1995.** Técnica de criação de *Diabrotica speciosa* (Germ.) (Coleoptera: Chrysomelidae) para bioensaios com bacilos e fungos entomopatogênicos. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 24: 45-52.
- Silveira Guido, A. & Ruffinelli, A. 1956.** Primer catálogo de los parásitos y predadores encontrados en el Uruguay. Boletín N° 32, Facultad de Agronomía de Montevideo.
- Skelton, T. E. & Hunter, P. E. 1970.** Laboratory rearing and reproduction of the spotted cucumber beetle. *Journal of Economic Entomology* 63: 948-950.
- Smith, R. F. 1966.** Distributional patterns of selected western North American insects: the distribution of diabroticites in western North America. *Bulletin of the Entomological Society of America* 12: 108-110.
- Smith, R. F. & Lawrence, J. F. 1967.** Clarification of the status of the type specimens of *Diabroticites* (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae). *University of California Publications on Entomology* 45: 174 pp.
- Smyth, R. R. & Hoffmann, M. P. 2002.** Correspondence between rates of host plant consumption and responses to the *Acalymma vittatum* male-produced aggregation pheromone. *Physiological Entomology* 27: 235-242.
- Smyth, R. R. & Hoffmann, M. P. 2003.** A male produced aggregation pheromone facilitating *Acalymma vittatum* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) early-season host plant colonization. *Journal of Insect Behavior* 16: 347-359.
- Southwood, T.R.E. 1978.** *Ecological methods*. Chapman & Hall, London.
- Steffey, K. L. & Tollefson, J. J. 1982.** Spatial dispersion patterns of northern and western corn rootworm adults in Iowa cornfields. *Environmental Entomology* 11: 283-286.
- Stireman III, J. O. 2002.** Learning in the generalist tachinid parasitoid *Exorista Mella* Walker (Diptera: Tachinidae). *Journal of Insect Behavior* 15: 689-706
- Stock, S. P. 1993.** *Micoletzkyia vidalae* n. sp. (Nematoda: Diplogasteridae), a facultative parasite of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Argentina. *Research and Reviews in*

Parasitology 53: 109-112.

Summers, T. E. & Stafford, E. W. 1953. *Diabrotica undecimpunctata howardi* parasitized by *Celatoria diabroticae*. Journal of Economic Entomology 46: 180.

Sutter, G. R.; Krysan, J. L. & Guss, P. L. 1971. Rearing the southern corn rootworm on artificial diet. Journal of Economic Entomology 64: 65-67.

SYSTAT 6.0 for Windows. 1996. Statistics. SPSS Inc., Chicago, IL.

Tallamy, D. W. & Gorski, P. M. 1997. Long- & short-term effect of cucurbitacin consumption on *Acalymma vittatum* (Coleoptera: Chrysomelidae) fitness. Environmental Entomology 26: 678-683.

Tallamy, D. W.; Gorski, P. M. & Pesek, J. D. 1997a. Intra- & interspecific genetic variation in the gustatory perception of cucurbitacins by Diabroticite rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology 26: 1364-1372.

Tallamy, D. W.; Stull, J.; Ehresman, N. P.; Gorski, P. M. & Mason, C. E. 1997b. Cucurbitacins as feeding and oviposition deterrents to insects. Environmental Entomology 26: 678-683.

Tallamy, D. W.; Whittington, D. P.; Defurio, F.; Fontaine, D. A.; Gorski, P. M. & Gothro, P. W. 1998. Sequestered cucurbitacins and pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Moniliales: Moniliaceae) on spotted cucumber beetle eggs and larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology 27: 366-372.

Tallamy, D. W., Mullin, C. A. & Frazier, J. L. 1999. An alternate route to insect pharmacophagy: the loose receptor hypothesis. Journal of Chemical Ecology 25: 1987-1997.

Tallamy, D. W., Gorski, P. M. & Burzon, J. K. 2000. Fate of Male-derived Cucurbitacins in Spotted Cucumber Beetle Females. Journal of Chemical Ecology 26: 413-427.

Townsend, C. H. T. 1928. New species of humid tropical American Muscoidea. Revista Chilena Historia Natural 32: 365-382.

Valladares, G, Díaz, N. & De Santis, L. 1982. Tres notas sobre dípteros agromícidos de la República Argentina y sus himenópteros parasitoides (Insecta). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 41: 319-330.

Van Lenteren, J. C. 2001. Harvesting safely from biodiversity: natural enemies as sustainable and environmentally friendly solutions for pest control. En: **Lockwood, J. A., Howarth, F. G. &**

- Purcell, M. F.** (Eds.). Balancing Nature: Assessing the Impact of Importing Non-Native Biological Control Agents (an International Perspective). Proceedings of the Thomas Say Publications in Entomology. Entomological Society of America. pp. 15-30.
- Ventura, M. U.; Ito, M. & Montalbán, R. 1996.** An attractive trap to capture *Diabrotica speciosa* (Ger.) and *Cerotoma arcuata tingomariana* Bechyné. Anáís da Sociedade Entomológica do Brasil 25: 529-535.
- Vet, L.E.M. 1985.** Olfactory microhabitat location in some eucoilid and alysine species (Hymenoptera), larval parasitoids of Diptera. Netherlands Journal of Zoology 35: 720-730.
- Viscarret, M. M.; Botto, E. N. & Polaszek, A. 2000.** Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of economic importance and their natural enemies (Hymenoptera: Aphelinidae, Signiphoridae) in Argentina. Revista Chilena de Entomología 26, 5-11.
- Warren, J.T.; Sakurai, S.; Rountree, D. B. & Gilbert, L. I. 1988.** Synthesis & secretion of ecdysteroids by the prothoracic glands of *Manduca sexta*. Journal of Insect Physiology 34: 571-576.
- Weissling, T. J. & Meinke, L. J. 1991.** Potential of starch encapsulated semiochemical-insecticide formulations for adult corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology 84: 601-609.
- Wilcox, J. A. 1972.** Chrysomelidae: Galerucinae: Luperini: Diabroticina. Pars. 78. Fasc. 2. In: **Wilcox, J. A.** (Ed.). Coleopterum Catalogus. Supplementa. s'Gravenhage, The Netherlands, Uitgeverij Dr W. Junk. pp. 296-343.
- Wilson, E. O. & Willis, E. O. 1975.** Applied biogeography. En: **Cody, M. L. & Diamond, J. M.** (Eds.). Ecology & Evolution of Communities. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. pp. 522-534.
- Wright, R. J.; Witkowski, J. F.; Echtenkamp, G. & Georgis, R. 1993.** Efficacy and persistence of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) applied through a center-pivot irrigation system against larval corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology 86: 1348-1354.
- Yaro, N. D.; Krysan, J. L. & Ladd, Jr., T. L. 1987.** *Diabrotica cristata* (Coleoptera: Chrysomelidae): Attraction to eugenol & related compounds compared with *D. barberi* & *D. virgifera virgifera*. Environmental Entomology 16: 126-128.

- Zhang, F.; Toepfer, S.; Riley, K.; & Kuhlmann, U. 2004.** Reproductive biology of *Celatoria compressa* (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biocontrol Science and Technology* 14: 5-16
- Zhang, Z. Q. 1998.** Biology and ecology of trombidiid mites (Acari: Trombidioidea). *Experimental and Applied Acarology* 22: 139-155.
- Zijp, J. P. & Blommers, L.H.M. 2002.** Biology of *Centistes delusorius*, a parasitoid of adult apple blossom weevil. *Agricultural and Forest Entomology* 4: 275-282.

Tabla 1. Lista de plantas hospederas de Diabroticina adultas del Cono Sur

Planta hospedera	Diabroticina	Planta hospedera	Diabroticina
GRAMINEAE		<i>Artemisia dracunculus</i> L.	Ds
<i>Avena barbata</i> Pott	Ds	<i>A. absinthium</i> L.	Ds
<i>A. sativa</i> L.	Ds	<i>Baccharis articulata</i> (Lamarck)	
<i>Avena</i> spp.	Ds, Pd	Persoon	Ds, Ps
<i>Bromus catharticus</i> Vahl	Ds	<i>Bellis</i> sp.	Ds
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Persoon	Ds	<i>Chrysanthemum</i> spp.	Ca, Dl, Ds, Dv, Ps
<i>Lolium perenne</i> L.	Ds	<i>Cichorium endivia</i> L.	Ds
<i>Oryza sativa</i> L.	Dl, Ds, Ps	<i>C. intybus</i> L.	Ds
<i>Sorghum halepense</i> (L.) Persoon	Ds	<i>Cynara cardunculus</i> L.	Ds, Ps
<i>S. bicolor</i> (L.) Moench	Ds	<i>C. scolymus</i> L.	Ds
<i>Triticum aestivum</i> L.	Ds, Dv	<i>Dhalia pinnata</i> Cavanilles	Dk, Dl, Ds, Dv, Ps
<i>Zea mays</i> (L.)	Ca, Da, Dk, Dl, Dm, Dp, Dr, Ds, Dv, Pm, Pd, Ps	<i>Helianthus annuus</i> L.	<i>Acalymma</i> sp., Dl, Ds,
		<i>H. tuberosus</i> L.	Ds, Pd, Ps
		<i>Lactuca sativa</i> L.	Ds
		<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Ds
		<i>Senecio</i> spp.	Ds, Ps
		<i>Solidago chilensis</i> Meyen	Ds, Dv
		<i>Taraxacum officinale</i> Weber	Ds
		<i>Viguiera tucumanensis</i> Grisebach	Dc, Ds
LILIACEAE		CONVOLVULACEAE	
<i>Allium sativum</i> L.	Ds	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lamarck	Dae, Dk, Ds, Dtr
<i>A. porrum</i> L.	Ds	<i>I. cairica</i> (L.) Sweet	Ds
<i>A. fistulosum</i> L.	Ds	<i>Pharbitis purpurea</i> Lamarck	Ds
<i>A. cepa</i> L.	Ds		
<i>Asparagus officinalis</i> L.	Ds	CRUCIFERAE	
<i>A. plumosus</i> Baker	Ds	<i>Brassica oleracea</i> L.	Ds, Pd
<i>Lilium maculatum</i> Thunberg	Ds	<i>B. napus</i> L.	Ds, Pd
		<i>B. chinensis</i> L.	Ds
MUSACEAE		<i>Coronopus didymus</i> (L.) Smith	Ds
<i>Musa</i> sp. (banana)	Ds	<i>Nasturtium officinale</i> Brown	Ds
		<i>Raphanus sativus</i> L.	Dn, Ds, Ps
ZINGIBERACEAE		CUCURBITACEAE	
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Ds	<i>Apodanthera</i> sp.	Ds
		<i>Cayaponia bonariensis</i> (Miller)	
AMARANTHACEAE		Martinez Crovetto	Aa, Ab, Abr, De, Ds, Ps
<i>Alternanthera filoxeroides</i> (Martius)		<i>C. citrullifolia</i> (Grisebach) Cogniaux	Aa, Ab, Abr, Ca, De, Ds, Ps
Grisebach	Ds		
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Ca, Ds, Ps	<i>C. podantha</i> Cogniaux	Aa, Ab, Abr, Ds, Ps
<i>A. quitensis</i> Kunth	Ca, Dk, Ds, Ps	<i>Cayaponia</i> spp.	Aa, Ca, De, Dl, Ds, Dv, Ps
AQUIFOLIACEAE		<i>Cucumis melo</i> L.	Aa, Ab, Abr, Av, De, Dl, Ds, Dv, Pd, Ps
<i>Ilex paraguariensis</i> Saint Hilaire	Ds	<i>C. sativus</i> L.	Aa, Ab, Abr, Ca, Da, De, Dl, Dr, Ds, Dv, Ps
ASCLEPIADACEAE		<i>Citrullus vulgaris</i> Schrader	Aa, Ab, Abr, Ca, Da, De, Dl, Ds, Dv, Ps
<i>Morrenia odorata</i> (Hook & Arnold)		<i>Cucurbita andreana</i> Naudin	Aa, Ab, Abr, De, Ds, Ps
Lindley	Ds	<i>C. maxima</i> Duchesne	Aa, Ab, Abr, Av, Ax, Ca, Da, Dc, De, Dk, Dl, Dp, Dr, Ds, Dse, Dsp, Dt, Dv, Ib, Ibo, Pd, Pm, Ps, Pt
CARICACEAE			
<i>Carica papaya</i> L.	Ds, Ps		
CHENOPODIACEAE			
<i>Beta vulgaris</i> L.	Ds, Dsep		
<i>Chenopodium quinoa</i> Willdenow	Ds		
<i>C. album</i> L.	Ds		
<i>Spinacia oleracea</i> L.	Ds		
ASTRACEAE			
<i>Anthemis</i> sp.	Ds		

<i>C. moschata</i> Duchesne	Aa, Ab, Abr, Av, Ca, Da, De, Dl, Dp, Ds, Dsp, Dt, Dv, Ps	PASSIFLORACEAE <i>Passiflora coerulea</i> L.	Ds
<i>C. pepo</i> L.	Aa, Ab, Abr, Av, Ca, De, Dl, Dp, Dr, Ds, Dsp, Dv, Pd, Ps	ROSACEAE <i>Fragaria vesca</i> L. <i>Prunus domestica</i> L. <i>P. insititia</i> L.	Ds, Ps Ds Ds
<i>Cucurbitella asperata</i> (Gillies) Walpers	Aa, Ab, Abr, De, Ds, Ps	<i>P. persica</i> (L.) Batsch <i>Rosa</i> spp.	Asp, Dk, Ds Dl, Ds
<i>C. duriaei</i> (Naudin) Cogniaux	Ds		
<i>Cyclanthera hystrix</i> (Gillies) Arnott	Ds	RUTACEAE	
<i>Lagenaria siceraria</i> (Molina) Standley	Aa, Ab, De, Dk, Dl, Dr, Ds, Dv	<i>Citrus</i> spp.	Cp, Dk, Dr, Ds, Ps
<i>Luffa cylindrica</i> (L.) Roemer	Aa, Ab, Abr, Av, De, Dk, Dl, Dr, Ds, Dv, Ibo	SOLANACEAE <i>Capsicum annuum</i> L. <i>C. frutescens</i> L. <i>Cyphomandra betacea</i> Sendtner <i>Datura arborea</i> L. <i>D. ferox</i> L.	Dl, Ds Dl, Ds Ds De, Dl, Ds, Dv, Ps Ds
<i>Melothria cucumis</i> Vellozo	Ds	<i>Lycopersicon esculentum</i> Miller <i>Nicotiana tabacum</i> L.	Dl, Ds Ds, Ps
<i>Sechium edule</i> Swartz	Ds, Dv	<i>Physalis viscosa</i> L. <i>Solanum tuberosum</i> L. <i>S. melongena</i> L.	Ds Ds, Ps Acalymma sp., Cp, Dk, Ds, Dsep; Pd, Ps
<i>Sicyos polyacanthus</i> Cogniaux	Aa, Ab, Abr, De, Dl, Ds, Dv, Pm	<i>S. viarum</i> Dunal <i>S. bonariense</i> L. <i>S. sisymbriifolium</i> Lamarck	Ds, Ps Ds, Ps Ds, Ps
Cucurbitaceae sp.	Ds, Pc		
LABIATAE		THEACEAE	
<i>Lavandula officinalis</i> Chaix	Ds	<i>Thea sinensis</i> L.	Ds
<i>Mentha arvensis</i> L.	Ds		
<i>M. rotundifolia</i> (L.) Hudson	Ds		
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Ds		
<i>Origanum vulgare</i> L.	Ds		
FABACEAE		TROPEOLACEAE	
<i>Arachis hypogaea</i> L.	Am, Ca, Ds, Dv, Pd, Ps	<i>Linum usitatissimum</i> L. <i>Tropaeolum majus</i> L.	Ds Ds
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill	Ca, Ds, Ps		
<i>Lathyrus</i> sp.	Ds		
<i>Melilotus albus</i> DesrousseauxDs		UMBELLIFERAE	
<i>Phaseolus coccineus</i> L.	Ca, Ds, Dv, Ps	<i>Apium graveolens</i> L. <i>Coriandrum sativum</i> L. <i>Daucus carota</i> L. <i>Petroselinum crispum</i> (Miller) Nyman	Ds Ds Ds Ds Ds
<i>P. lunatus</i> L.	Ca, Ds, Dv, Ps		
<i>P. vulgaris</i> L.	Ca, Ds, Dv, Ps, Isotes sp.		
<i>Trifolium</i> spp.	Ds	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Ds
MALVACEAE		VITACEAE	
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Ds, Ps	<i>Vitis vinifera</i> L.	Ds
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	Ds		
<i>H. esculentus</i> L.	Ds		
<i>Malva</i> spp.	Ds		

Aa, *A. albidovittata*; Ab, *A. bivittula*; Abr, *A. bruchii*; Am, *Amphelasma* sp.; As, *Acalymma semifemorata* (Gahan); Av, *Acalymma vittigera* (Boheman); Ax, *Acalymma xantographa* Bechyné; Ca, *Cerotoma arcuata* Olivier; Cp, *Cochabamba polychroma* Bechyné; Da, *Diabrotica*

amoena Dalman; Dae, *Diabrotica aequifacta* Bechyné & Bechyné; Dc, *D. calchaqui* Cabrera & Cabrera Walsh; De, *D. emorsitans*; Dk, *Diabrotica kirbyi* Baly; Dl, *D. limitata*; Dm, *Diabrotica moseri* Weise; Dp, *D. panchroma* Bechyné; Dr, *D. rufolimbata*; Ds, *D. speciosa*; Dse, *Diabrotica semiviridis* Bowditch; Dsep, *Diabrotica septemplagiata* Bowditch; Dsp, *Diabrotica* spp.; Dt, *D. tripunctata*; Dtr, *Diabrotica travassosi* (Marques); Dv, *D. viridula*; Ib, *Isotes bertonii* (Bowditch); Ibo, *I. borrei* (Baly); Pc, *Paranapiacaba costalimai* (Marques); Pd, *P. duodecimmaculata*; Pm, *Platybrotica misionensis* Cabrera & Cabrera Walsh; Ps, *Paranapiacaba significata*.

Tabla 2. Estadísticas de cría en laboratorio de *Diabrotica speciosa*

Respuesta a densidad de huevos		Resp. a t° de incubación ^a		Resp. a tiempo en cultivo inicial ^a	
huevos/recipiente	% adultos emergidos	temp (°C)	% adultos emergidos	Días hasta transferencia	% adultos emergidos
100-200	32 a	20-22	20	5-7	24
300	18 ab	25	19.8	9-11	18
400	18 ab	28	15.9	13 +	18
500	22 ab	30-32	12.4		
600	14 b				
700-800	11 b				
900 +	3 c				

^a: Datos de densidades sin diferencias significativas (300-800 huevos/recipiente).
Celdas con las mismas letras indican diferencias no significativas.

Tabla 3. Estadísticas de cría en laboratorio de *Diabrotica viridula*

Respuesta a densidad de huevos		Resp. a t° de incubación ^a		Resp. a tiempo en cultivo inicial ^a	
huevos/recipiente	% adultos emergidos	temp (°C)	% adultos emergidos	Días hasta transferencia	% adultos emergidos
100-200	25a	20-22	17.8	5-7	16.7
300-400	19a	25	18.8	9-11	18.7
500-600	15a	28	16.4	13 +	18
800 +	5.7b				

^a: Datos de densidades de siembra sin diferencias significativas (100-600 huevos/recipiente). Celdas con la misma letra indica diferencias no significativas.

Tabla 4. Preferencias de hospederos de varias Diabroticites Sudamericanas en relación con las estaciones

Proporción de adultos coleccionados^a				
Especies	Hospedero	Primavera/verano	Otoño	Invierno
<i>Acalymma</i> spp.	<i>C. maxima</i>	1	1	-
	<i>C. bonariensis</i>	0.05	0	-
	Remolacha	0	0	0.5
	Lechuga	0	0	0.5
	Soja	0	0	-
	Maíz	0	0	0
<i>D. emorsitans</i>	<i>C. maxima</i>	1	1	-
	<i>C. bonariensis</i>	1	1	-
	<i>D. arborea</i>	-	-	1
	Maíz	0	0	0
	Soja	0	0	-
<i>D. limitata</i>	<i>C. maxima</i>	0.8	0.7	-
	Maíz	0.3	0.3	1
	<i>D. arborea</i>	-	-	0
<i>D. speciosa</i>	<i>C. maxima</i>	0.78	0.79	-
	Yuyo colorado	0.7	0.52	0.9
	Girasol	0.5	0.5	-
	Alfalfa	0.05	0.78	-
	Maíz	0.14	0.2	0.8
	Espinaca, <i>B. oleracea</i>	0.03	0.1	0.76
	Papa	0.2	0.08	-
	<i>Datura arborea</i>	0	-	0.3
	Soja, poroto	0.086	0.31	0
	Pimiento	0.13	0.15	0.05
	Maní	0.1	0.08	-
<i>D. viridula</i>	Maíz	0.83	0.6	1
	Girasol	0.3	0.4	-

	<i>C. maxima</i>	0.45	0.2	-
	Maní	0	-	-
	<i>D. arborea</i>	-	-	0
<i>P. significata</i>	Girasol	0.75	0.8	1
	<i>C. maxima</i>	0.61	0.4	-
	<i>S. sisymbriifolium</i>	0.5	-	-
	Yuyo colorado	0.7	-	-
	Soja	0.02	0.33	-
	Maní	0.25	-	-
	Pasturas mixtas	0	-	-
	Maíz	0	0	-

^a Medido como el promedio de proporciones de vaquitas coleccionadas en cada hospedero/horas hombre.

Tabla 5. Lista de especies atraídas a trampas de cucurbitacina: comparación de trampas vs. colección manual a igual tiempo

Especies	Trampas	Col. manual	Proporción
<i>D. speciosa</i>	14349	12631	1.14
<i>D. viridula</i>	205	433	0.47
<i>D. tripunctata</i>	11	2	3.67
<i>D. limitata</i>	6	28	0.21
<i>D. kirbyi</i>	11	2	5.5
<i>A. bivittula</i>	3	345	0.0
<i>C. arcuata</i>	2	54	0.03
<i>P. misionensis</i>	114	13	8.77

Tabla 6. Oviposición en distintos hospederos (multiple choice) de varias especies de Diabrotici t

Especie	N° promedio de huevos/día ± SE					
	Maíz	Zapallo ^f	Maní	Poroto ^g	Papa	Y. c
<i>A. albidovittata</i> ^d	5.12 ± 1.90	43.36 ± 12.12	8.12 ± 4.51	6.10 ± 1.55	2.21 ± 0.18	9.00
<i>A. bivittula</i> ^d	85.23 ± 50.53	156.80 ± 41.78	17.17 ± 3.30	26.06 ± 5.46	0	18.3
<i>D. emorsitans</i> ^b	22.02 ± 4.46	2.03 ± 0.76	0	-	-	-
<i>D. limitata</i> ^c	3.00 ± 0.83	34.26 ± 6.28	-	-	-	-
<i>D. speciosa</i> ^a	470.00 ± 76.27	87.92 ± 23.09	321.83 ± 33.66	219.00 ± 44.27	34.00 ± 4.98	19.0
<i>D. tripunctata</i> ^b	62.86 ± 11.14	23.57 ± 3.86	-	-	-	-
<i>D. viridula</i> ^a	430.00 ± 43.17	152.91 ± 30.54	48.24 ± 5.50	66.13 ± 5.86	4.00 ± 0.86	8.22
<i>P. significata</i> ^c	16.16 ± 3.36	8.20 ± 1.48	-	-	-	-

^a N° inicial de hembras = 50; ^b N° inicial de hembras = 10; ^c N° inicial de hembras = 8; ^d N° inicial de hembras = 35; ^e N°

^fIncluyendo *C. andreaana*.

^gIncluyendo soja

Tabla 7. Lista de Chrysomelidae, hospederos y no hospederos de los parasitoides *Celatoria bosqi* y *Centistes gasseni*

Especies de vaquitas	Nº colec.	<i>C.gasseni</i>	<i>C. bosqi</i>
Galerucinae: Diabroticina			
<i>Diabrotica speciosa</i>	99.200	1830	2579
<i>D. viridula</i>	2483	25	2
<i>D. limitata</i>	117	7	0
<i>D. amoena</i> Dalman	22	0	0
<i>D. tripunctata</i> (F.)	81	0	0
<i>D. marginata</i> Harold	12	0	0
<i>D. emorsitans</i> Baly	186	0	0
<i>D. panchroma</i> Bechyné	23	0	0
<i>Diabrotica</i> sp.	18	0	1
<i>Acalymma bivittula</i> (Kirsch)	3690	1*	0
<i>A. bruchii</i> (Bowditch)	192	0	0
<i>A. albidovittata</i> (Baly)	690	0	0
<i>A. vittigera</i> (Boheman)	25	0	0
<i>Paranapiacaba significata</i> (Gahan)	455	0	0
<i>P. duodecimmaculata</i> (Klug)	240	0	0
<i>Paranapiacaba</i> sp.	8	0	0
<i>Cochabamba rufolimbata</i> (Baly)	50	0	0
<i>Cerotoma arcuata</i> Olivier	232	0	0
<i>Cerotoma</i> sp.	32	0	0
<i>Platybrotica misionensis</i> Cabrera & Cabrera Walsh	118	0	0
<i>Amphelasma</i> spp.	45	0	0
Alticinae			

<i>Disonycha</i> sp.	41	0	0
<i>Caeporis</i> sp.	36	0	0
<i>Epitrix</i> sp.	26	0	0
Chrysomelinae			
<i>Phaedon</i> sp.	220	0	0
Eumolpinae			
<i>Colaspis</i> sp.	33	0	0
<i>Maecolaspis</i> spp.	72	0	0
Megascelinae			
<i>Megascelis</i> sp.	36	0	0
TOTAL	108.383	1863	2582

***Podría ser un evento azaroso (ver texto).**

Tabla 8. Porcentaje de prevalencia de *Celatoria bosqi* en *Diabrotica speciosa* en sus áreas de distribución templadas y subtropicales/tropicales, según zonas climáticas

Clima	Templado ^a		Subtropical ^b	
	Nº vaquitas	% <i>C. bosqi</i>	Nº vaquitas	% <i>C. bosqi</i>
Húmedo	20099	2.16 ± 0.45	65274	3.01 ± 0.33
Semiárido	3130	0.11 ± 0.11	8607	5.28 ± 1.43
Arido	440	0	1650	2.37 ± 1.76
Total	23669	1.83 ± 0.39	75531	3.40 ± 0.35

^a Prevalencia promedio ± SE de *C. bosqi* dentro de su área de distribución templada.

^b Prevalencia promedio ± SE de *C. bosqi* dentro de su área de distribución subtropical/tropical.

Tabla 9. Parasitoides de Diabroticina adultas en Sudamérica

Parasitoide	Diabroticina	% parasit.	País	Cita
<i>C. bosqi</i> Blanchard	<i>Cerotoma arcuata</i> Olivier	1-32%	Brasil	Magalhães & Quintela, 1987
	<i>Diabrotica speciosa</i> (Germar)	1-28%	Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay	Blanchard, 1937; Christensen 1943; Parker <i>et al.</i> , 1951; D'Araujo e Silva <i>et al.</i> , 1968; Gassen 1984, 1989; Heineck- Leonel & Salles, 1997; Cabrera Walsh 2004
	<i>D. viridula</i> (F.)	<0.1%	Argentina	Cabrera Walsh 2004
	<i>Diabrotica</i> sp.	Rara (¿?)	Argentina	Cabrera Walsh 2004
<i>Celatoria</i> sp.	<i>D. limitata</i> (Sahlberg)	2.5%	Argentina, Brasil	No publicado

Tabla 10. Prevalencia porcentual \pm SE de *Centistes gasseni* en sus áreas de distribución templada y subtropical en relación con la estación del año

Estación	Templado ^a		Subtropical ^b	
	Nº vaquitas	% <i>C. gasseni</i>	Nº vaquitas	% <i>C. gasseni</i>
Primavera/Verano	17997	0.67 \pm 0.34	4282	0.02 \pm 0.02
Otoño	26654	3.80 \pm 0.67	4617	0.82 \pm 0.4
Invierno	320	0.3 \pm 0.00	4821	0.07 \pm 0.07
Total	44971	1.60	13720	0.30

^aPrevalencia promedio \pm SE de *C. gasseni* dentro de su área de distribución templada. (aprox. 28° - 32°S; 49° - 55°W).

^bPrevalencia promedio \pm SE de *C. gasseni* dentro de su área de distribución subtropical (aprox. 25 - 27°S; 49° - 56°W).

Tabla 11. Duración, en días, de las etapas de desarrollo de *Centistes gasseni* (media \pm SE), y N° de ataques exitosos en función de la edad de la hembra (capullos promedio \pm SE)

	23°C	26°C	
Huevo + larva (días)	21.4 \pm 0.3	16.3 \pm 0.3	
Cocon (días)	19.7 \pm 1.7	15.0 \pm 0.6	
% Superv. capullo	66%	58%	
N° capullos/hembra^a			
<24 h	48 h	72 h	>96 h
7.2 \pm 2.9	3.5 \pm 1.5	0.5 \pm 0.2	0.2 \pm 0.03

N° total de capullos incubados = 928.

^a N° total de capullos/hembra de ataques ocurridos <24, 48, 72, y >96 hs después de la cópula a 25 \pm 2°C.

Tabla 12. Lista de cucurbitáceas silvestres evaluadas en el laboratorio, con observaciones biológicas y de atractivo para *Diabroticina*

Especies	Cultivada	Amargor		Atractivo ^a		Distribución y Observaciones
		Fruto	Raíz	Fruto	Raíz	
<i>Cayaponia bonariensis</i>	si	+++	+++	+++	+++	Este y norte argentino, Uruguay. Perenne. Trepadora
<i>C. citrullifolia</i>	si	-	++	-	+	Norte argentino, Uruguay. Perenne. Trepadora
<i>C. podantha</i>	si	+	+	++	+	Norte argentino, Brasil, Uruguay. Perenne. Trepadora
<i>C. tayuya</i> (?)	si	+++	+++	+++	+++	Sur de Brasil. Perenne. Trepadora.
<i>C. martiana</i>	no	+	-	+	-	Sur de Brasil. Perenne. Trepadora.
<i>Cayaponia</i> sp.1	no	+	++	++	++	Noreste Argentino. Perenne. Trepadora
<i>Cayaponia</i> sp.2	no	++	++	++	++	Norte Argentino. Perenne. Trepadora.
<i>Cayaponia</i> sp.3	no	++	++	+	+	Sur de Brasil. Trepadora.
<i>Cucurbitella asperata</i>	si	-	+++	+++	++	Norte Argentino. Perenne. Trepadora.
<i>C. duriaei</i>	si	-	+++	+++	++	Norte Argentino. Perenne. Trepadora.
<i>Cucurbita andreana</i>	si	+++	+	++	+	Cento y norte Argentino. Anual. Rastrera.
<i>Sicyos poliacanthus</i>	no	-	-	-	-	Noeste Argentino. Anual. Trepadora.
<i>Sicyos</i> sp.	no	-	-	-	-	Norte Argentino. Anual. Trepadora.
<i>Cyclanthera hystrix</i>	no	NA	-	NA	-	Norte Argentino, sur de Brasil. Anual. Trepadora.
<i>Apodanthera</i>	si	+++	+	+++	NA	Centrosur Argentino. Anual.

sp.?							Rastrera.
<i>Melothria cucumis</i>	no	-	-	-	-		Norte Argentino. Anual. Trepadora.
<i>M. schultzi</i>	no	-	-	-	-		Norte Argentino. Anual. Trepadora.

^a Atractivo evaluado en términos de N° de vaquitas congregadas en trampas comparado con una trampa cebada con extracto de frutos de *Cayaponia bonariensis*.

Tabla 13. Colecciones comparadas de Diabroticina en trampas vs manuales

Especies	Manual^a	Trampa^b	Fecha	Localidad	Observaciones
<i>D. speciosa</i>	800	1100	31-I-98	Pelotas, RGDS	
“	500	700	1-II-98	Vacaria, RGDS	
“	1700	500	2-II-98	Sertao	Lluvioso
“	120	700	13-II-98	Otamendi, BA	
“	1365	154	20-V-98	Cardales, BA	12 °C
“	850	2400	14-II-99	Santa Rita, PA	
“	614	450	4-V-99	Pelotas, RGDS	
“	427	375	26-I-00	“	Caluroso
“	285	400	28-I-00	Tacuarembó, UR	
“	10	50	“	Paysandú, UR	
“	72	50	10-IV-00	Cerro Azul, MI	Baja densidad
“	33	160	11-IV-00	Capioví, MI	“
“	750	1100	12-IV-00	F. do Iguaçu, PR	
“	555	750	13-IV-00	Itaiópolis, SC	
“	2170	1630	14-IV-00	Pelotas, RGDS	Caluroso
“	175	50	23-II-01	Purmamarca, JU	Baja densidad
“	700	1500	22-IV-01	P. Fundo, RGDS	
“	250	600	23-IV-01	Sertao, RGDS	

Especies	Manual ^a	Trampa ^b	Fecha	Localidad	Observaciones
“	700	150	5-III-02	Balcozna, CA	Fresco, lluvia
“	400	300	6-III-02	Coneta, CA	Caluroso
“	330	1500	8-III-02	Chajan, CB	
“	1800	6500	6-V-02	Cardales, BA	
“	580	1130	31-V-02	Posadas, MI	
“	800	600	1-VI-02	Roca, MI	
“	170	400	3-VI-02	Saenz Peña, CH	
<i>D. viridula</i>	433	205	II-99 a VI-02	MI, PA, RGDS, SC, PR	
<i>P. misionensis</i>	23	114	VI-02	MI	
<i>Acalymma</i> spp.	2690	24	II-99 a VI-02	MI, RGDS	
<i>D. limitata</i>	28	26	“	“	
<i>D. kirbyi</i>	7	11	“	“	
<i>D. tripunctata</i>	2	11	“	“	
Total ^c	16.639	23.616			

BA, Buenos Aires; CA, Catamarca; CB, Córdoba; CH, Chaco; JU, Jujuy; MI, Misiones; PA, Paraguay; PR, Parana, Brasil; RGDS, Rio Grande do Sul, Brasil; SC, Santa Catarina, Brasil, UR, Uruguay

^a N° de vaquitas coleccionadas/hombre. Cuando hubo más de un colector, se dividió el N° total de vaquitas por el N° de ellos.

^b N° de vaquitas atrapadas durante periodos de tiempo iguales a los de colección manual en cada sitio en 1.5 m² de tela trampa.

^c Total menos *Acalymma* spp., que no fueron atraídas a las telas trampa.

Tabla 14. Tachinidae parasitoides de Diabroticina adultos en América Central y del Norte

Parasitoide	Diabroticina	Parasitismo	País	Referencia
<i>Celatoria compressa</i> Wulp	<i>Acalymma blomorum</i> Munroe & Smith	1%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996; inédito
	<i>A. fairmairei</i> (F.)	3%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>A. innubum</i> (F.)	2 - 8%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996; inédito
	<i>A. trivittata</i> (Mannerheim)	8%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>Cerotoma atrofasciata</i> Jacoby	-	Méjico	inédito
	<i>D. amecameca</i> Krysan & Smith	0.5 - 7.5%	Méjico	Eben, 2002; inédito
	<i>D. balteata</i>	4%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>D. porracea</i> Harold	0.5 - 7.5%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996; inédito
	<i>D. scutellata</i> Baly	10%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>D. sexmaculata</i> Baly	-	Méjico	inédito
	<i>D. tibialis</i> Baly	11%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>D. undecimpunctata duodecimnotata</i> Harold	-	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996; inédito
	<i>D. viridula</i>	0.5 - 7.5%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996; inédito
	<i>D. v. virgifera</i>	6.6 - 16%	Méjico	inédito
	<i>D. v. zaeae</i>	Rara*	Méjico	inédito
	<i>Celatoria diabroticae</i> (Shimer)	<i>Gynandrobrotica lepida</i> (Say)	<0.1%	Méjico
<i>G. nigrofasciata</i> (Say)		-	Méjico	inédito
<i>A. trivittata</i> (Mannerheim)		Rara*	U.S.A.	Arnaud, 1978
<i>A. vittatum</i> (F.)		Rara*	U.S.A.	Bussart, 1937; Arnaud, 1978
<i>Celatoria diabroticae</i> (Shimer)	<i>C. trifurcata</i> (Forster)	1 - 20%	U.S.A.	Fronk, 1950; Herzog, 1977
	<i>D. u. howardi</i> Barber	2 - 25%	U.S.A.	Sell, 1915; Fronk, 1950; Summers & Stafford, 1953; Arnaud, 1978; Fischer, 1981; Gordon <i>et al.</i> , 1987; Meinke & Gould, 1987; Elsey, 1988b
	<i>D. u. undecimpunctata</i> Mannerheim	1 - 35%	U.S.A.	Arant, 1929; Arnaud, 1978; Fischer, 1981

	<i>D. v. virgifera</i> Le Conte	<1%	U.S.A.	Fischer, 1983
	<i>D. longicornis</i> (Say)	3%	U.S.A.	Fischer, 1983
<i>Celatoria setosa</i> (Coquillett)	<i>A. trivittata</i>	-	Méjico	inédito
	<i>A. vittatum</i>	4 - 44%	U.S.A.	Bussart, 1937; Arnaud, 1978; Fischer, 1981; Elsey, 1988b
	<i>D. u. howardi</i>	Rara*	U.S.A.	Fischer, 1981
	<i>D. u. undecimpunctata</i>	Rara*	U.S.A.	Bussart, 1937; Fischer, 1981
<i>Celatoria</i> sp.	<i>C. trifurcata</i>	<1%	U.S.A.	Danielson <i>et al.</i> , 2000
<i>Hyalomyodes</i> <i>triangulifer</i> (Leow)	<i>C. trifurcata</i>	Rara*	U.S.A.	Herzog, 1977
<i>Pseudomyothyria</i> <i>ancillus</i> Walker	<i>D. u. undecimpunctata</i>	Rara*	U.S.A.	Arnaud, 1978

* Referencias de casos raros o que no han sido verificados en muestreos posteriores.

Tabla 15. Nematodos de Diabroticina

Nematodo	Diabroticina, estadio afectado	parasitismo	País	Referencias
<i>Agamermis</i> sp.	<i>A. fairmairei</i> , adulto	Rara	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
<i>Filipjevimermis leipsandra</i> Poinar & Welch	<i>D. balteata</i> , larva	50 - 96%	U.S.A.	Cuthbert <i>et al.</i> , 1968; Creighton & Fassuliotis, 1980
	<i>D. u. howardi</i> , larva	-	U.S.A.	Cuthbert <i>et al.</i> , 1968
	<i>D. u. undecimpunctata</i> , larva	-	U.S.A.	Poinar, 1968
<i>Heterorhabditis</i> sp.	<i>D. balteata</i> , adulto	-	U.S.A.	Creighton & Fassuliotis, 1980
<i>Hexamermis amecamecae</i> Stock & Eben	<i>D. amecameca</i> , adulto	9 - 13%	Méjico	Eben, 2002
<i>Hexamermis</i> sp.	<i>A. fairmairei</i> , adulto	Rara	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>D. balteata</i> , adulto	0.6%	Méjico	Eben & Barbercheck, 1996
	<i>D. speciosa vicens</i> Erickson , adulto	5 - 90%	Peru	Nickle <i>et al.</i> , 1984
	<i>D. speciosa</i> , adulto	2.8%	Brasil	Heineck-Leonel & Salles, 1997
	<i>D. speciosa</i> , adulto	0.9%	Argentina, Paraguay, Uruguay	No publicado
<i>Howardula benigna</i> (Cobb)	<i>A. vittatum</i> , adulto	2 - 34%	U.S.A.	Fischer, 1981
	<i>D. u. howardi</i> , adulto	-	U.S.A.	Cobb, 1921
<i>Howardula</i> sp.	<i>D. u. howardi</i> , larva	-	U.S.A.	Elsely, 1988b

<i>Micoletzkyia vidalae</i> Stock	<i>D. speciosa</i> , larva	-	Argentina	Stock, 1993
<i>Mycoletzkyia</i> sp.	<i>D. v. virgifera</i> , larva	Rara	Hungría	No publicado
<i>Panogrolaimu</i> sp.	<i>D. v. virgifera</i> , larva	Rara	Hungría	No publicado
Nematoda	<i>D. virgifera zae</i> Krysan & Smith, larva, pupa	-	Méjico	Branson <i>et al.</i> , 1982

Tabla 16. Comparación de las áreas foliares consumidas (en mm²) en tres hospederos de adultos de *D. speciosa*, y la oviposición promedio total por hembra en las mismas

Maíz			Poroto			Yuyo colorado		
Area inicial	Area final	% consumo	Area inicial	Area final	% consumo	Area inicial	Area final	% consumo
990	828	16,36	73	42	42,47	355	137	61,41
1456	895	38,53	151	0	100,00	126	53	57,94
370	316	14,59	110	0	100,00	214	137	35,98
569	408	28,30	129	91	29,46	125	39	68,80
544	525	3,49	146	69	52,74	43	36	16,28
363	278	23,42	155	90	41,94	252	128	49,21
508	314	38,19	62	49	20,97	133	73	45,11
418	255	39,00	56	17	69,64	105	35	66,67
474	383	19,20	52	42	19,23	93	49	47,31
394	312	20,81				298	127	57,38
215	154	28,37				127	102	19,69
228	203	10,96				126	99	21,43
						273	134	50,92
						81	43	46,91
						128	106	17,19
						89	49	44,94
% consumo promedio =23,43			=52,94			=44,2		
			Oviposición Promedio					
776			542			47		

Figura 1. Cámara de emergencia de vaquitas adultas

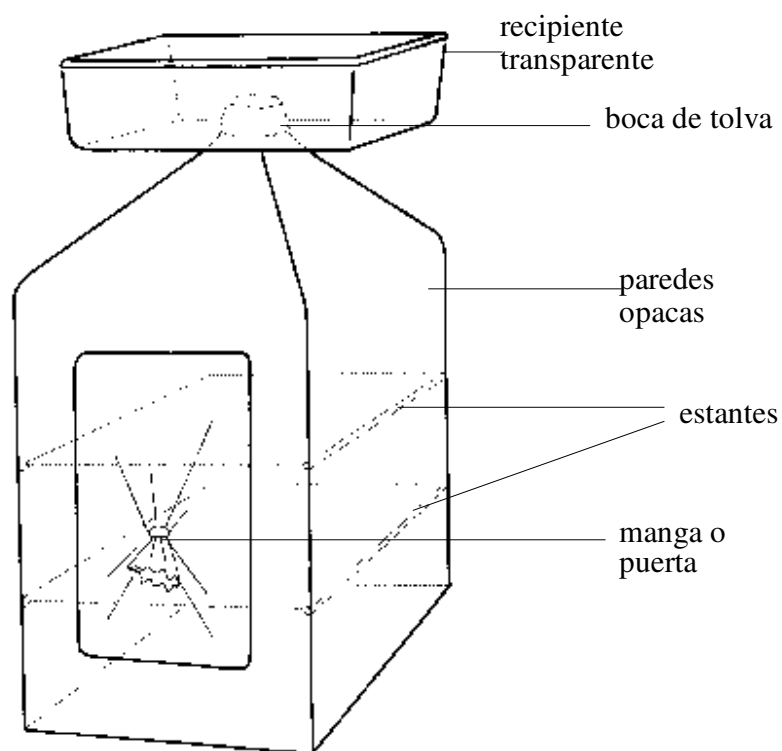


Figura 2. Supervivencia de huevos refrigerados de *D. speciosa* y *D. viridula*

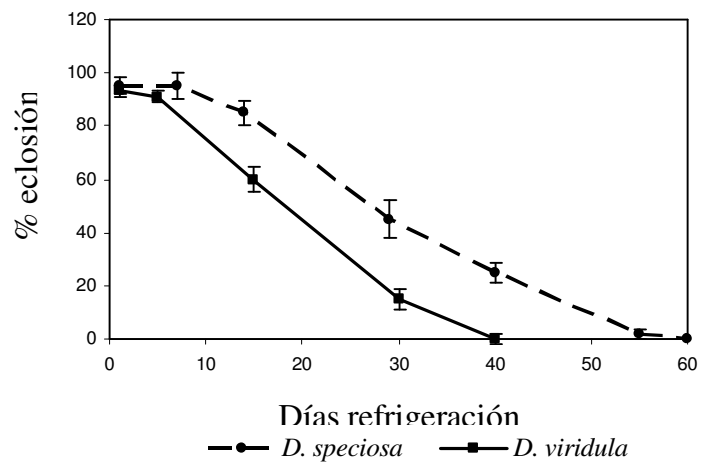


Figura 3. Supervivencia y fertilidad de hembras de *D. speciosa*

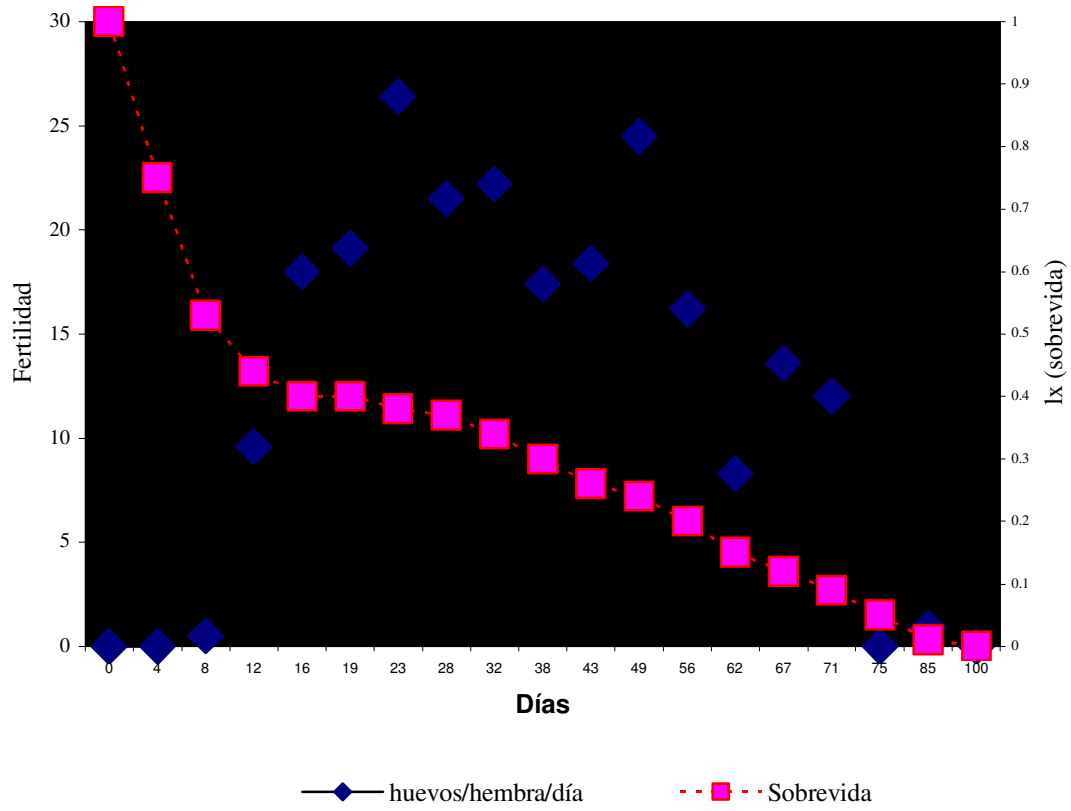


Figura 4. Supervivencia y fertilidad de hembras de *D. viridula*

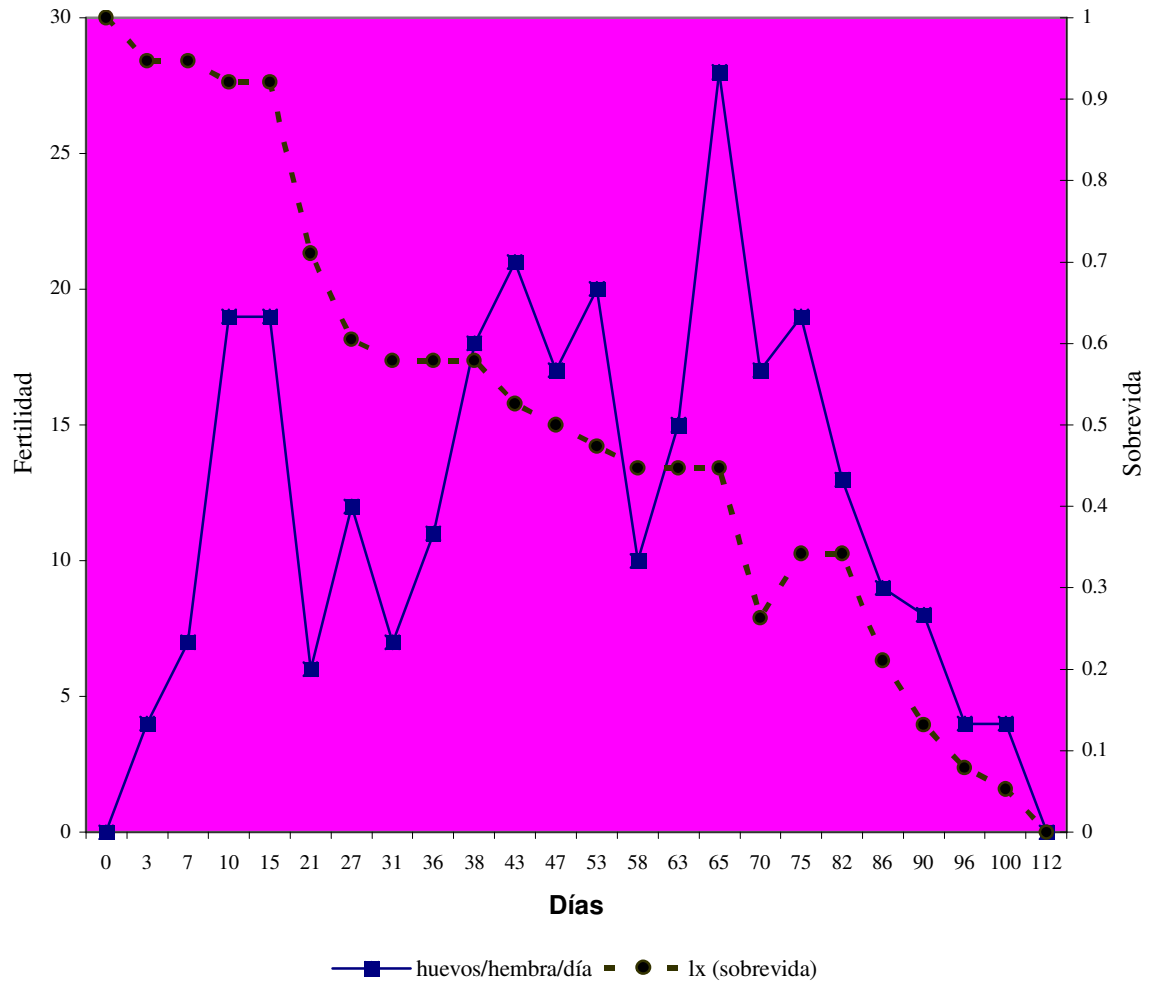


Figura 5. Proporción de machos/hembras de *D. speciosa* por hospedero

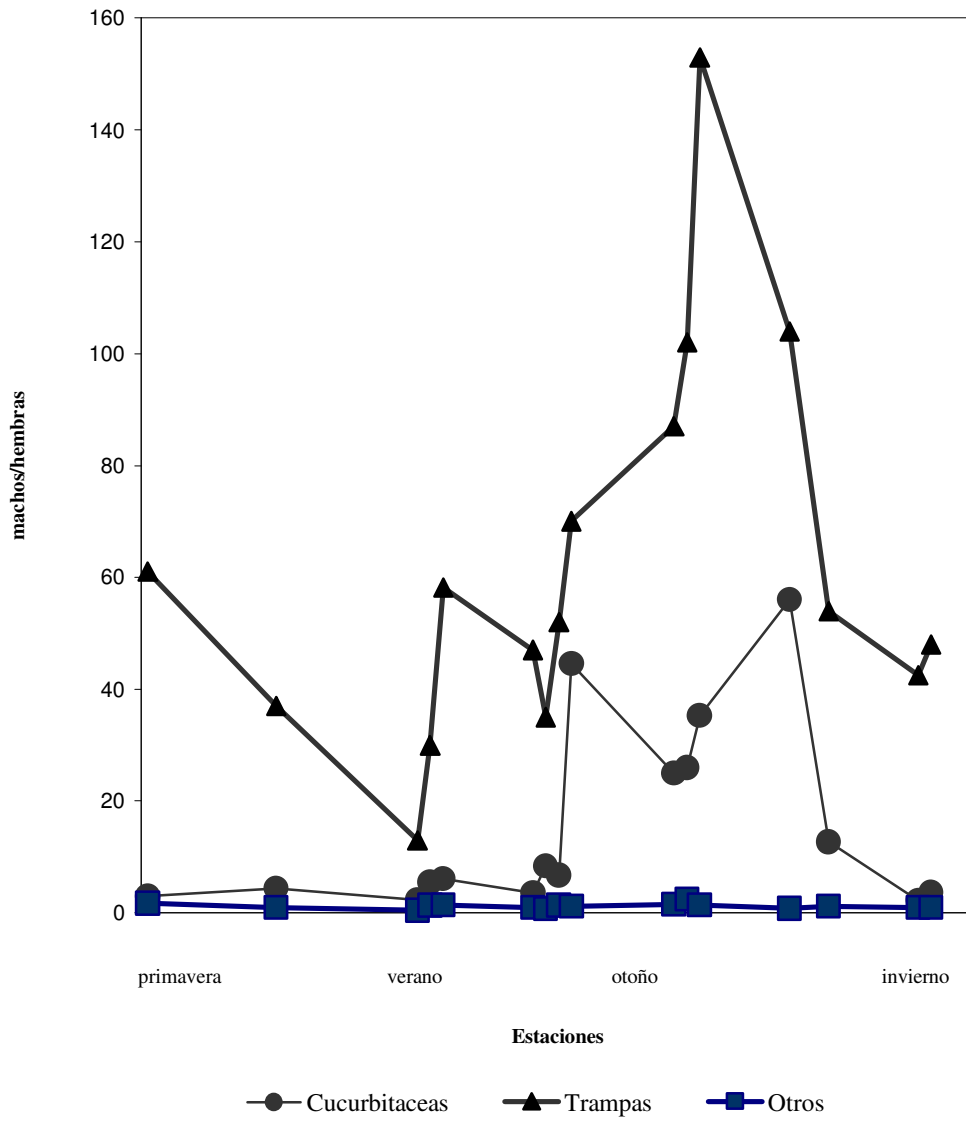


Figura 6. Consumo de dietas regulares (capa superior) y dieta adicionada con cucurbitacinas (polvo de raíz de *Cayaponia bonariensis*, capa inferior): nótese el mayor consumo de esta última, y la alimentación “obsesiva” reflejada en los claros puntuales dentro de la capa.



Figura 7. Consumo comparativo de dieta (dieta + cucs/dieta regular) en relación con la concentración de cucurbitacina, tiempo de exposición y sexo para *D. speciosa*

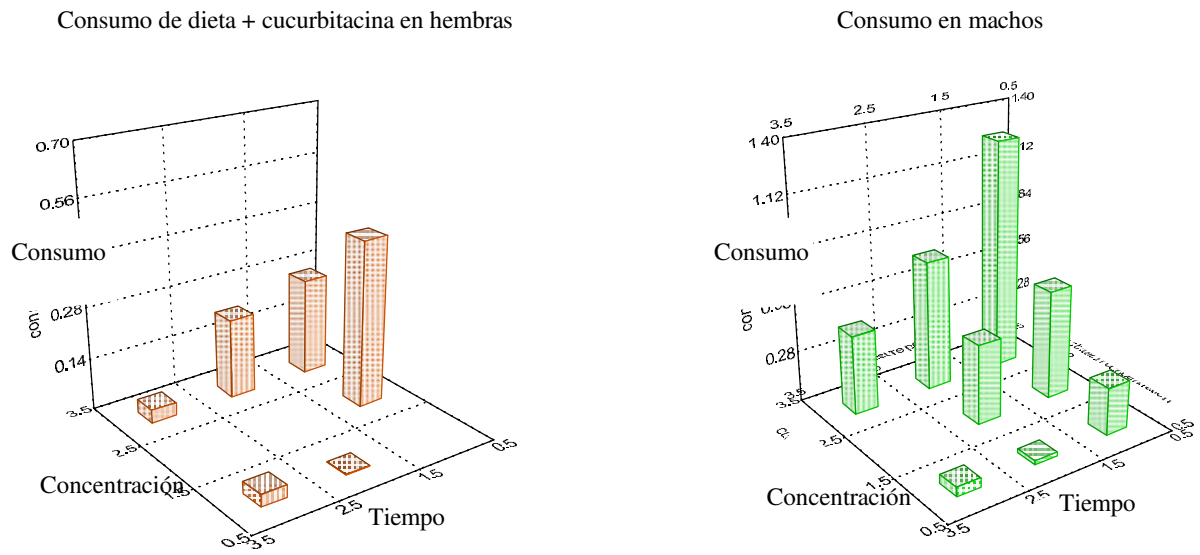


Figura 8a-d. Oviposición en el tiempo de cuatro especies de Diabroticites sud-americanas a fotoperiodos cortos (menos de 13 horas)

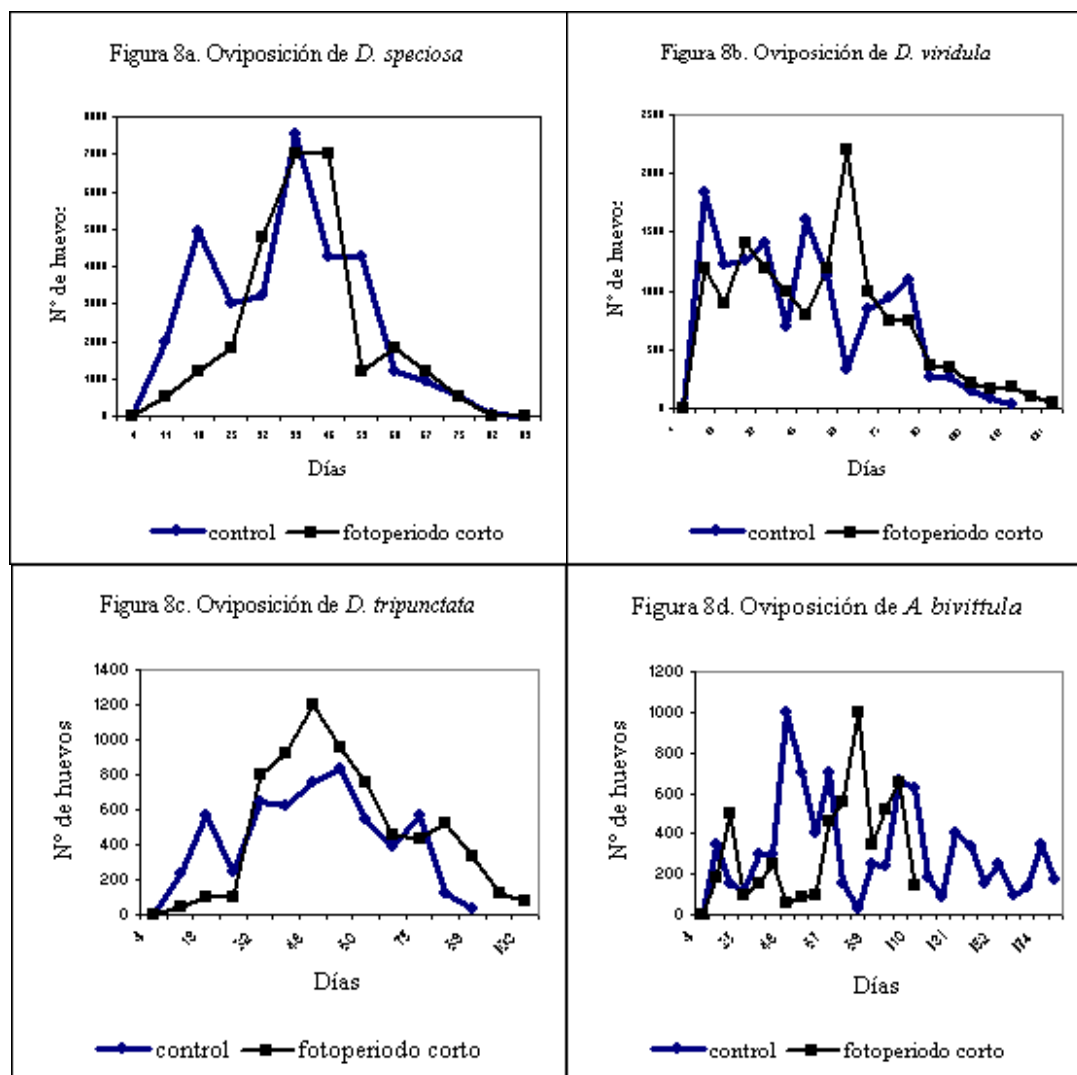


Figura 8e. Oviposición de *D. speciosa* según el fotoperíodo

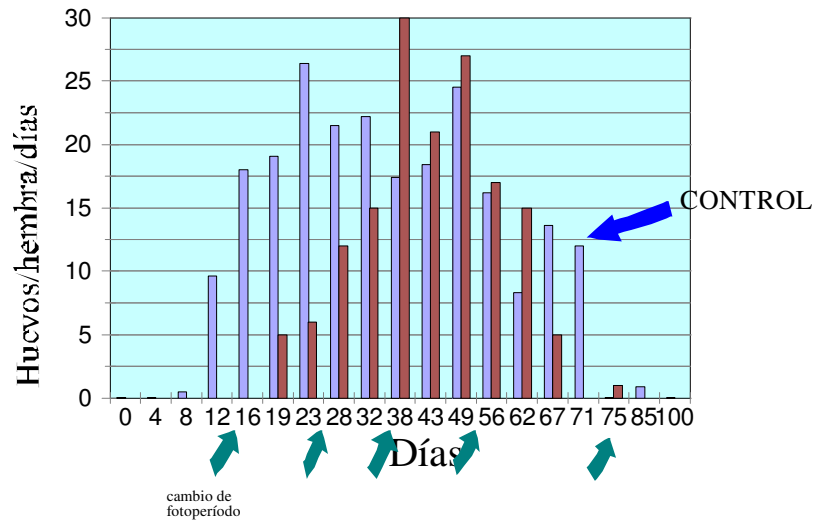


Figura 8f. Oviposición de *Acalymma bivittula* según el fotoperíodo

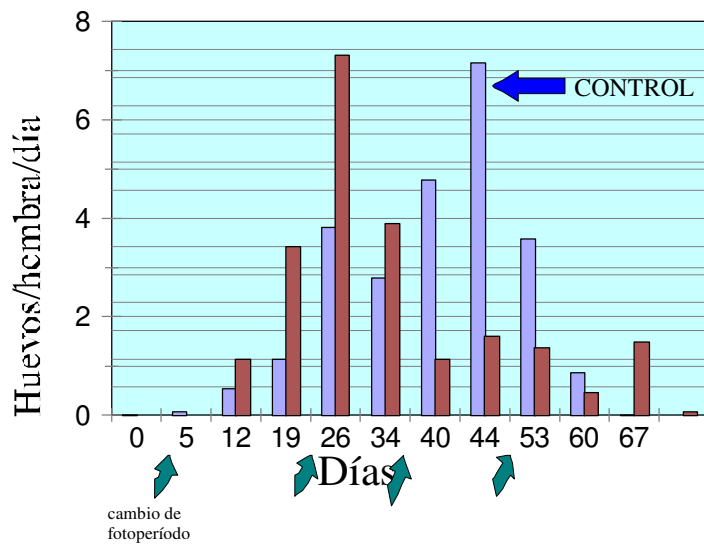
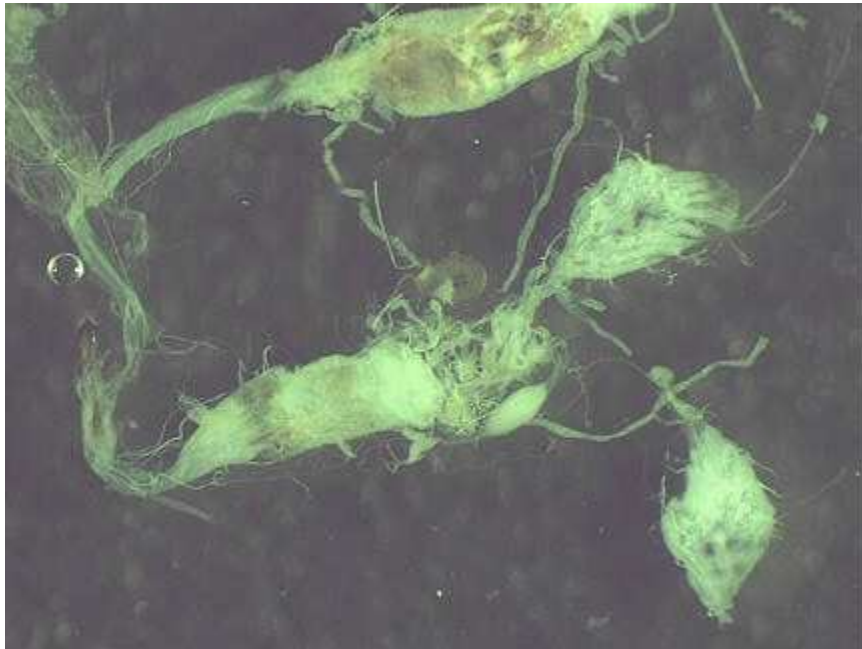
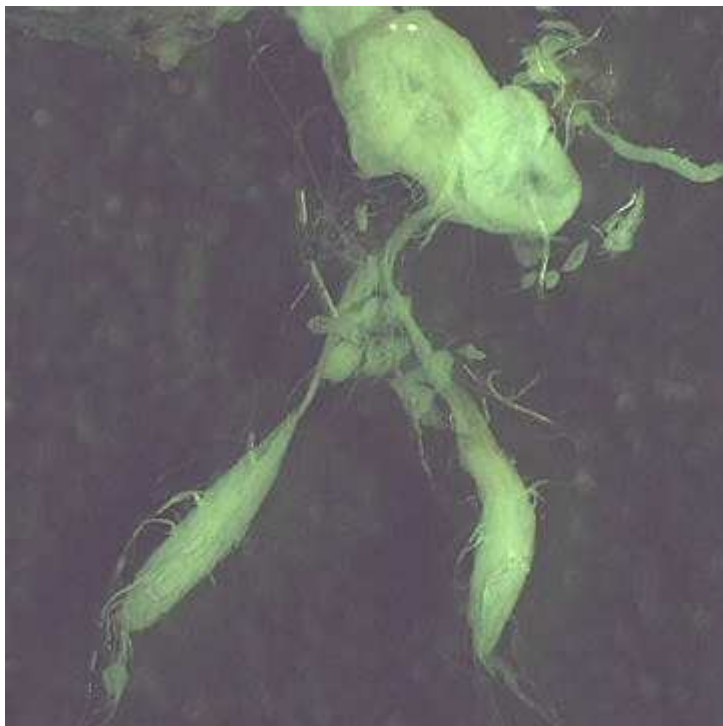


Figura 9. Distintos estados de madurez de los ovarios de hembras de *D. speciosa* durante el periodo preinvernal, y la primavera.



Aparato reproductor de una hembra preinvernante



Aparato reproductor de una hembra teneral



Hembra grávida. Nótese el abdomen fisiogástrico, y los huevos observables por transparencia.



Totalmente desarrollado

Figura 10. Área de colección de *Diabroticina* y otros crisomélidos (área dentro de línea de guiones), y área de *Celatoria bosqi* (área punteada)

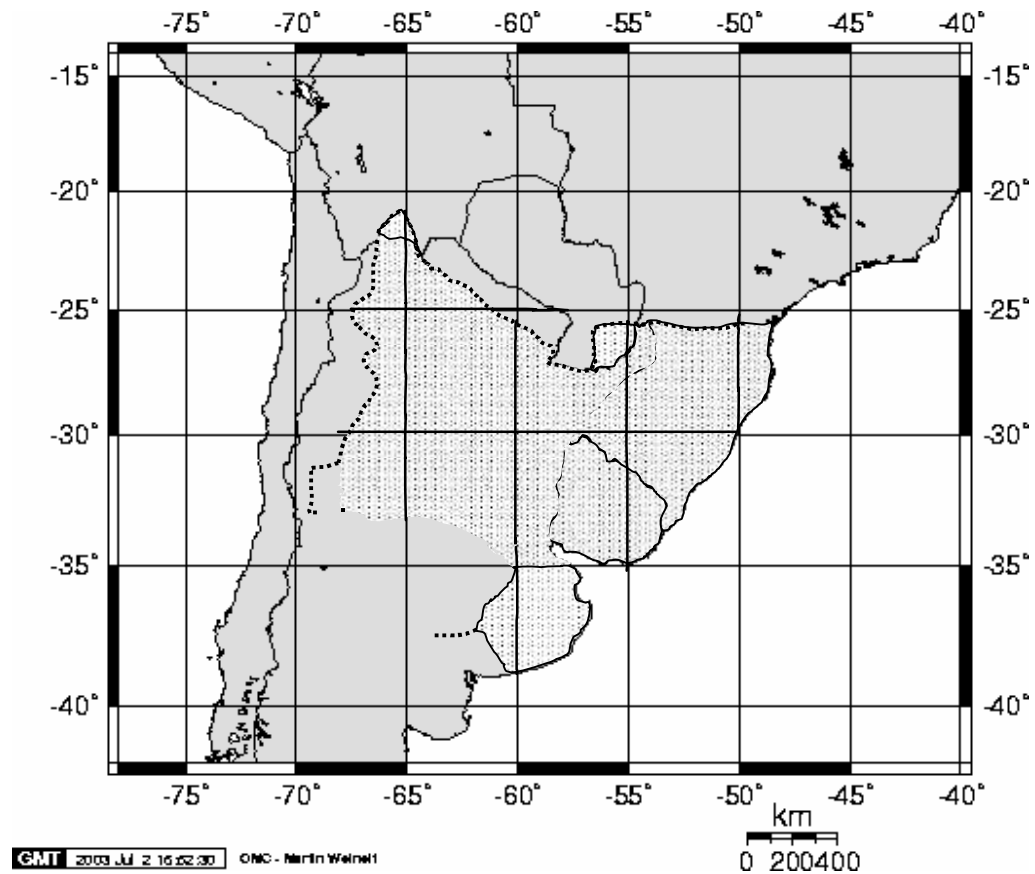


Figura 11. Mapa de distribución potencial de *C. bosqi* en América del Norte (área punteada), según presencia de hospederos potenciales, y mínimas de temperatura y precipitación adecuadas

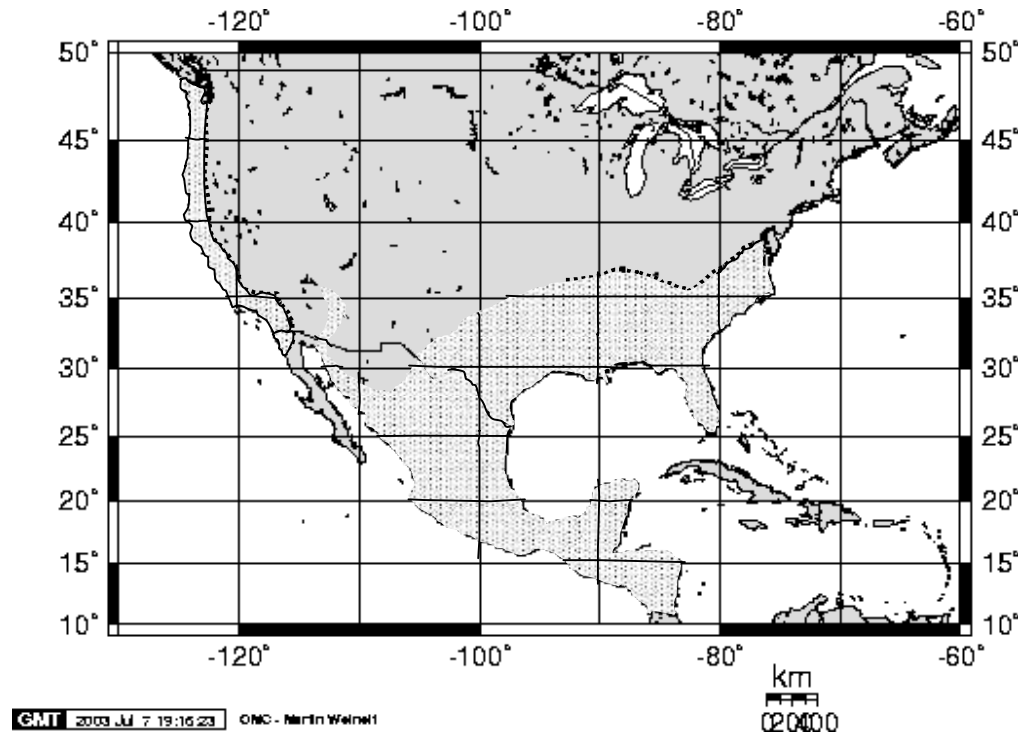


Figura 12. Área de colección de *Diabroticina* y otros crisomélidos (área demarcada en guiones), y zonas de colección de *Centistes gasseni* (C rojas)

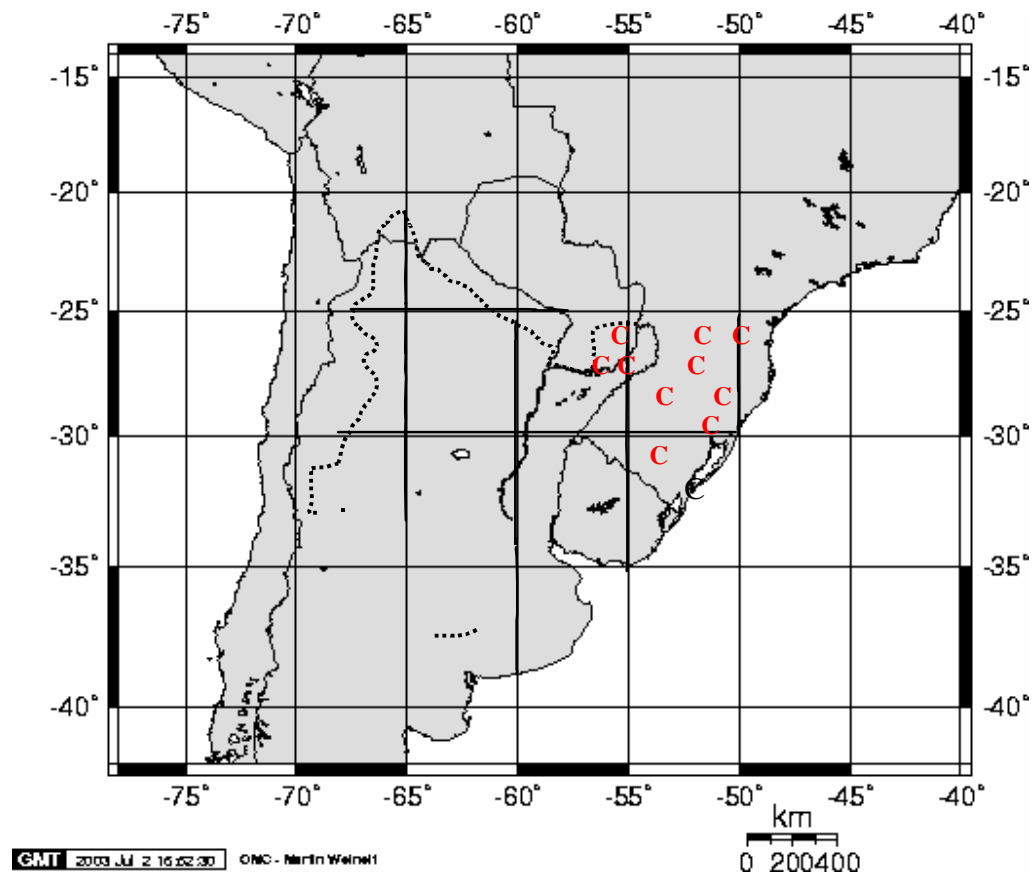
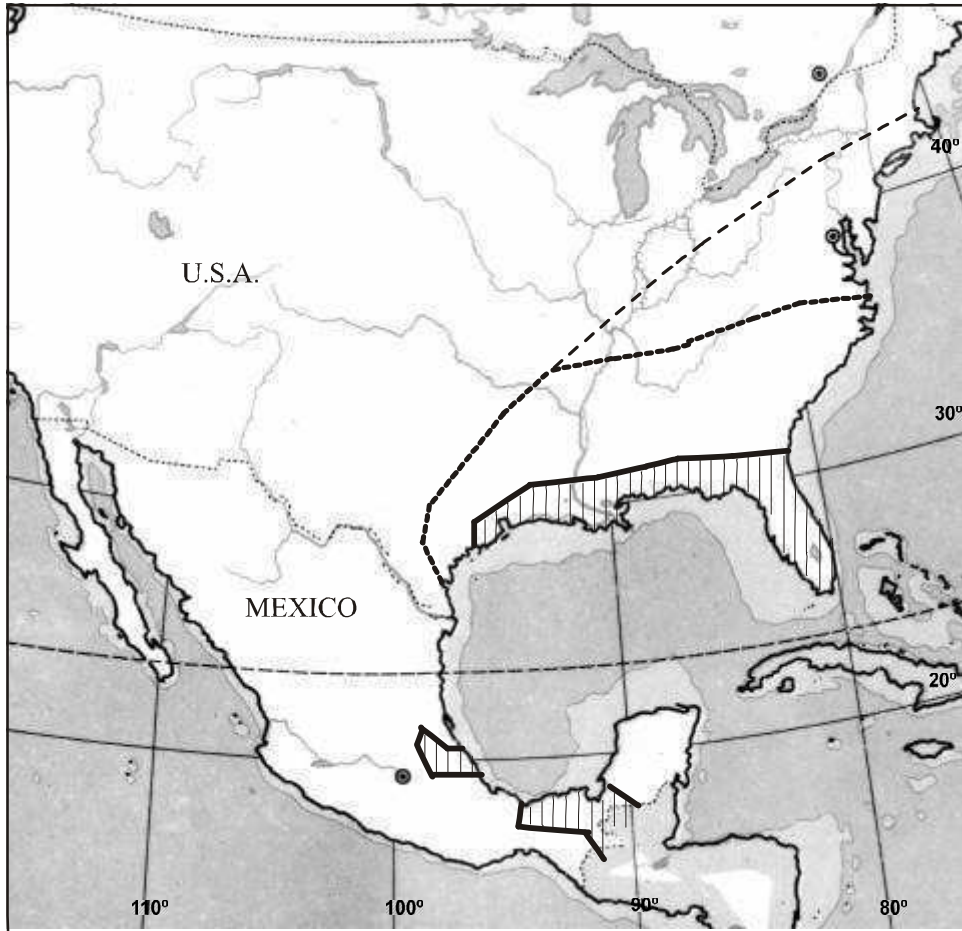


Figura 13. Distribución potencial de *C. gasseni* en América del Norte según factores climáticos y hospederos adecuados



- Areas rayadas: plena coincidencia de temperaturas mínimas, y volumen y distribución de precipitaciones
- Línea entera: área de distribución permanente (con invernación) de hospederos potenciales, intersecado con precipitaciones anuales regulares mayores a 1100 mm
- Línea de guiones: área de distribución extendida (migratoria) de hospederos potenciales, intersecado con precipitaciones anuales regulares mayores a 1100 mm

Figura 14. Comparación del consumo (mm^2) de superficie foliar con oviposición promedio en tres hospederos comunes de *D. speciosa*

