

Tesis Doctoral

Estudio del barrenador de tallos
Apagomerella versicolor (Boh.) (Coleoptera:
Cerambycidae) como candidato para el
control biológico del abrojo grande,
Xanthium strumarium L. en los EE.UU.

Logarzo, Guillermo A.

2007

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:

Logarzo, Guillermo A. (2007). Estudio del barrenador de tallos *Apagomerella versicolor* (Boh.) (Coleoptera: Cerambycidae) como candidato para el control biológico del abrojo grande, *Xanthium strumarium* L. en los EE.UU.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Logarzo, Guillermo A. "Estudio del barrenador de tallos *Apagomerella versicolor* (Boh.) (Coleoptera: Cerambycidae) como candidato para el control biológico del abrojo grande, *Xanthium strumarium* L. en los EE.UU.". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2007.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD de BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Estudio del barrenador de tallos *Apagomerella versicolor* (Boh.)
(Coleoptera: Cerambycidae) como candidato para el control
biológico del abrojo grande, *Xanthium strumarium* L. en los
EE.UU.**

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

Autor: Guillermo A. Logarzo

Director de tesis: Hugo Alberto Cordo

Consejero de estudios: Axel Bachmann

USDA- ARS South American Biological Control Laboratory

Buenos Aires, Mayo de 2007

**Estudio del barrenador de tallos *Apagomerella versicolor* (Boh.)
(Coleoptera: Cerambycidae) como candidato para el control
biológico del abrojo grande, *Xanthium strumarium* L. en los
EE.UU.**

Estudio del barrenador de tallos *Apagomerella versicolor* (Boh.) (Coleoptera: Cerambycidae) como candidato para el control biológico del abrojo grande, *Xanthium strumarium* L. en los EE.UU.

Resumen: Con el objetivo de evaluar las potencialidades de *Apagomerella versicolor* (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae) como agente de control biológico de *Xanthium strumarium* L. (Asteraceae) en los Estados Unidos, se realizaron estudios de laboratorio y de campo sobre el ciclo de vida, la fenología, las plantas hospedadoras, la especificidad, y el daño producido a *Xanthium cavanillesii*. Además, se realizaron estudios de laboratorio sobre preferencia de oviposición, ADN mitocondrial y pruebas de éxito reproductivo para estudiar la variabilidad intraespecífica en la utilización de las plantas hospedadoras. El ataque de *A. versicolor* redujo la producción de frutos en *X. cavanillesii*, el componente sudamericano del complejo *Xanthium*, en un 66%, y mató a las plantas jóvenes. En Buenos Aires *A. versicolor* es univoltino y los adultos aparecen en el campo a principios de la primavera. En el laboratorio los adultos vivieron en promedio 18.5 días. Cada hembra puso un promedio de 38 huevos, un huevo en cada oviposición; la larva se alimentó barrenando el tallo en dirección a la raíz. A principios del otoño, la larva realizó un corte circular interno en el tallo a la altura de la corona cuando las plantas ya estaban maduras causando la caída de su parte aérea. El último estadio larval entra en una diapausa obligada y empupa en la raíz de las plantas muertas y ya secas en la primavera. En el laboratorio, las larvas invernantes sobrevivieron a exposiciones continuas de temperaturas de -8°C por 3 días y a la inmersión en agua por un período de 20 días. El cerambícido uso en el campo siete plantas hospedadoras pertenecientes a tres géneros de la familia Asteraceae: *Xanthium*, *Ambrosia*, y *Pluchea*. La variación geográfica en el uso de las plantas hospedadoras estuvo determinada genéticamente y estuvo asociada a por lo menos tres razas geográficas, indicando que *A. versicolor* puede estar en un proceso de expansión de plantas hospedadoras. El cerambícido evolucionó de ser bivoltino y monófago sobre *Pluchea sagittalis* en el norte, a ser oligófago y univoltino en poblaciones derivadas en el centro y sur de Argentina. Los cambios parecen haber sido desencadenados por presión selectiva de ciertos rasgos de las plantas hospedadoras como la fenología. Por último, a partir de características de *A. versicolor*, como los parámetros del ciclo de vida, la amplia distribución y tolerancia ecológica y de hábitat, sumado al daño que provoca a la planta objeto de control biológico, se estima que *A. versicolor* podría controlar a *Xanthium strumarium*. Sin embargo, dado que *A. versicolor* no es específico sobre el género *Xanthium* ni sobre la subtribu Ambrosinae, que lo contiene, y además es posible que esté en un proceso de formación de razas por plantas hospedadoras su uso como agente de control biológico es riesgoso ya que no están garantizados los requisitos mínimos de especificidad. Por lo tanto, no se recomienda su utilización como agente de control. Sin embargo, *A. versicolor* y su variación intraespecífica en la utilización de plantas hospedadoras constituye un interesante modelo de estudio de procesos evolutivos recientes.

Palabras clave: *Xanthium*; *Pluchea*; *Ambrosia*; abrojo; control biológico; maleza; Cerambycidae; Asteraceae; expansión de plantas hospedadoras

Study of the stem-borer *Apagomerella versicolor* (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae) a candidate for biological control of cocklebur, *Xanthium strumarium* L. in the United States.

Abstract: Laboratory and field studies on *Apagomerella versicolor* (Boheman), life cycle, phenology, host use, host specificity and amount of damage on *Xanthium* spp. were carried out in Argentina to evaluate its potential as a biocontrol agent of *Xanthium strumarium* L. in the United States. Also, laboratory studies on oviposition preference, mtDNA and mating choice were performed to study intraspecific variation in host use. Attack by *A.versicolor* reduced fruit production in *X. cavanillesii*, the South American component of *Xanthium* complex, by 66%, and killed young plants. In Buenos Aires, *A. versicolor* is univoltine and adults appear in the field in early spring. In the laboratory, the adults lived an average of 18.5 days. Each female laid an average of 38 eggs, one egg per oviposition; larvae fed boring their way toward the root. At the beginning of the fall, larvae girdled the stem of the mature plant near the crown, causing the dry aerial part of the plant to fall over. The last instar entered diapause and pupated within the roots in dead and dry plants until spring. All overwintering larvae survived continuous exposure to -8°C for 3 days, and immersion of larvae in tap water for 20 days did not affect their survival. The insect used in the field seven hosts in three genera, *Xanthium*, *Ambrosia*, and *Pluchea* belonging to the Asteraceae family. Host use had genetically-determined geographical variation resulting in at least three geographic races indicating that the insect may be in the process of host expansion. *Apagomerella versicolor* has evolved from being bivoltine and monophagous on *Pluchea sagittalis* in the north to being oligophagous and univoltine in derived populations in central and southern Argentina; and changes seem to have been triggered by selective pressure of host plants traits, i.e. phenology. Finally, characteristics of *A. versicolor*, like the life cycle parameters, the broad ecological tolerance and habitat distribution, and the damage provoked to attacked plants may result in an effective control of the target plant *Xanthium strumarium* in the field. However, the fact that *A. versicolor* is not specific on *Xanthium* spp. or the subtribe Ambrosinae and that may be in the process of host race formation indicates its use as a biocontrol agent may not be safe since host specificity is not guaranteed. Therefore its utilization in alien areas for biocontrol purposes is not recommended. Nevertheless, *A. versicolor* and its pattern of host utilization constitute an interesting case-study of a recent or on-going evolution process

Keywords: *Xanthium*; *Pluchea*; *Ambrosia*; Cocklebur; Biological control; Weed; Cerambycidae; Asteraceae; host expansion

AGRADECIMIENTOS

Empiezo por Hugo Cordo porque con él me inicié en el control biológico. Quiero agradecerle por su permanente apoyo, por la confianza que depositó en mi persona y la libertad con la que me permitió trabajar durante todos estos años.

A Juan Briano, por su decidido apoyo como director del SABCL para terminar la tesis. Su calidez humana y sentido práctico allanan muchos caminos y generan un ambiente de trabajo muy agradable. Siempre sentí que podía contar tanto con Juan como con Hugo en los momentos oscuros por los que atravesé esta tesis.

Al Dr. Axel Bachmann, “El Doctor”, un ejemplo de sabiduría, corrección y sentido común. Sus palabras de aliento y su decisión fueron un sostén estructural sin cuyo apoyo este proyecto hubiese naufragado irremediadamente.

A Daniel Gandolfo le agradezco por los buenos momentos compartidos y por todo lo que trabajamos juntos. Con él empecé el trabajo de investigación de esta tesis y juntos recorrimos toda la primer parte. Aquellos tiempos fueron de los más alegres en el laboratorio, quizás con más entusiasmo que con neuronas, pero fueron muy buenos y productivos. Lamento profundamente su pérdida.

A Miguelito Casalinuovo, el gordo, siempre lamente su salida del lab, trabajamos mucho y muy bien y todavía me duele que este viviendo tan lejos. Gracias por tu amistad...

Hay un grupo de personas, Arabella Bugliani, Karen Braun, Willie Cabrera, a quienes torturé para que mejoraran el inglés de mis papers, quiero agradecerles por su paciencia y buena onda y quiero que sepan que hoy día, los sufrientes son los editores. También quiero agradecerle a Arabella por su constante alegría y solidaridad que son a toda prueba y que nos regala diariamente.

Un agradecimiento especial para mis asistentes Martín Carranza, Verónica Manrique, Laura Varone, Vanina Varni y Florencia Palottini, que sin importar lo tedioso o agotador del trabajo siempre lo hicieron con su mejor onda y con muchas ganas (si no fue así, lo disimularon muy bien). No quiero olvidarme de los solucionadores-problemas del laboratorio, Javier Jara, y Cristian Otamendi, que sin importar lo que se les pida, ellos siempre hicieron el máximo esfuerzo para encontrar la solución.

Trabajar en el SABCL es gratificante, no solo porque hay mucha libertad y medios para investigar, sino por la buena onda de la gente. No quiero dejar de agradecer a Alejandro Sosa, por sus charlas tan amistosas. A Cristina Hernández, que nos enseñó que lo importante en la vida es no rendirse ni bajar los brazos aun ante la peor adversidad. A Laura Varone por su charla, calidez, pragmatismo y energía (positiva). A Joaquín Sacco, Fernando McKay y Luis Calcaterra por sus ocurrencias en los almuerzos que nos divierten a todos, en fin a toda la gente del lab.

A mis hijos, Tico y Eliseo, por su amor y tolerancia, a mis padres y amigos, el Gallego, Solari, Edu, el Chiara, Leo, Valeria que siempre estuvieron presentes.

Finalmente y para terminar esta lista, la persona más importante, Karen. No tengo palabras de agradecimiento que expresen lo mucho que aprecio su confianza, aliento, comprensión y tolerancia. Es la fuerza y el apoyo que ayudaron a concretar muchos de mis proyectos, incluido éste.

Para mi esposa, Karen, y mis dos hijos, Tico y Eliseo, que son mi felicidad.

A Jarita, de quien extraño su amistad.

Investigadores que colaboraron en diferentes momentos del proyecto.

Daniel E. Gandolfo y Hugo A. Cordo, en los estudios de la biología de *A. versicolor* y en el trabajo donde se estimó el daño a la maleza.

Daniel E. Gandolfo, Miguel A. Casalinuovo y Hugo A. Cordo, en los estudios de especificidad.

Daniel Vazquez Miguel Casalinuovpo y Daniel Gandolfo en los estudios de diapausa.

Miguel A. Casalinuovo, Esteban Hasson, Romina Piccinali, y Karen Braun en los estudios de expansión del rango de plantas hospedadoras de *A. versicolor*.

Mi más sincero agradecimiento a todos ellos!!!

Publicaciones relacionadas al trabajo de investigación de la tesis.

1. Gandolfo, D. E., Logarzo, G.A. y H.A. Cordo. 1997. *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) Candidato para el Control Biológico de *Xanthium strumarium* en USA. Estimación del Daño de *Xanthium cavanillesii* en Laboratorio. **Rev. Soc. Entomol. Argentina** 56 (1-4):147-150.

2. Logarzo, G.A, Gandolfo, D. E., and H.A. Cordo. 2002. Biology of *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a Candidate for Biological Control of Cocklebur (*Xanthium* spp.) in U.S. **Biological Control** 25: 22-29.

3. Logarzo, G. A. y D. E. Gandolfo. 2005 Análisis de voltinismo y la diapausa en poblaciones de *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) en el gradiente latitudinal de su distribución en la Argentina. **Rev. Soc. Entomol. Argent.** 64: 143-146.

Enviado para su publicación.

1. Logarzo, G.A, Gandolfo, D. E., Casalinuovo, M. A. and H.A. Cordo. Host range of the stem borer *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae), a candidate for the biological control of cocklebur, *Xanthium strumarium* (Asteraceae), in the United States. **Biocontrol Science and Technology**

En preparación.

Logarzo, G. A., Casalinuovo, M. A. Hasson, E. Piccinali, R. and K, Braun. Geographic variation in the host specificity of *Apagomerella versicolor* (Cerambycidae): evolution of its host range expansion

TABLA DE CONTENIDOS

CAPITULO I: Control Biológico de *X. strumarium*

INTRODUCCIÓN	10
Definición del Problema y Perjuicios Ocasionados por el Complejo <i>Xanthium strumarium</i> ...	10
Antecedentes de Control Biológico de <i>Xanthium strumarium</i>	11
Información Previa Sobre <i>A. versicolor</i>	12
Concepto de Maleza.....	13
Estrategias del Control Biológico.....	15
Información sobre <i>Xanthium</i> spp.....	16
Taxonomía.....	16
Origen y Distribución Mundial de las Especies Presentes en Argentina.....	17
Fenología.....	18
Suelo.....	19
Germinación.....	19
Objetivo General.....	21
Objetivos Específicos.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Recolección de <i>A. versicolor</i> para las Diferentes Pruebas.....	24
Bionomía.....	25
Estudios de Campo.....	25
Ciclo de Vida.....	25
Parasitoidismo.....	27
Distribución Geográfica.....	27
Estudios de Laboratorio.....	28
Fecundidad y Longevidad.....	28
Tasa de Desarrollo de las Pupas.....	28
Resistencia de las Larvas Invernantes al Frío y a la Inmersión.....	29
Diapausa.....	30
Estimación del Daño en el Laboratorio.....	30
Estudios de Especificidad.....	33
Pruebas de No Elección.....	33
Plantas Hospedadoras en el Campo.....	35
RESULTADOS	36
Bionomía.....	36
Ciclo de vida.....	36
Parasitoidismo.....	40
Distribución Geográfica.....	41
Resistencia de las Larvas Invernantes al Frío y a la Inmersión.....	42
Diapausa.....	44

Estimación del Daño en Laboratorio.....	44
Estudios de Especificidad.....	46
Pruebas de No Elección.....	46
Plantas Hospedadoras en el Campo... ..	49

DISCUSIÓN.....	52
Bionomía.....	52
Estimación del Daño en Laboratorio.....	54
Estudios de Especificidad.....	57

CAPITULO II: Expansión del Rango de Plantas Hospedadoras de *A. versicolor*

INTRODUCCIÓN.....	61
--------------------------	-----------

MATERIALES Y MÉTODOS.....	64
Plantas hospedadoras estudiadas.....	64
Estudios de Campo.....	65
Área de Estudio.....	65
Oferta de Plantas Hospedadoras.....	66
Patrón de Utilización de <i>A. versicolor</i> de sus Plantas Hospedadoras.....	66
Estudios de Laboratorio.....	67
Prueba de Apareamiento Diferencial.....	67
Preferencia de Oviposición y Capacidad de Desarrollo de las Larvas.....	68
Estudios Genéticos, Secuenciación de ADN.....	68

RESULTADOS.....	71
Estudios de Campo.....	71
Oferta de Plantas Hospedadoras.....	71
Patrón de Utilización de <i>A. versicolor</i> de sus Plantas Hospedadoras.....	71
Estudios de Laboratorio.....	73
Prueba de Apareamiento Diferencial.....	73
Preferencia de Oviposición y Capacidad de Desarrollo de las Larvas.....	75
Estudios Genéticos, Secuenciación de ADN.....	76

DISCUSIÓN.....	78
-----------------------	-----------

CAPÍTULO III: Conclusiones.....	84
--	-----------

LITERATURA CITADA.....	86
-------------------------------	-----------

APÉNDICE.....	101
----------------------	------------

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Definición del Problema y Perjuicios Ocasionados por el Complejo *Xanthium strumarium*.

Las especies que forman el complejo *X. strumarium* están consideradas entre las peores malezas del mundo (Holm et al. 1977). Son plantas anuales, de verano, y con reproducción sexual únicamente. Invaden pasturas, banquinas, zanjas, y una amplia variedad de cultivos. Causan pérdidas en las cosechas al competir por espacio, CO₂, luz y especialmente por agua y nutrientes (McWhorter & Hartwig 1972). Es una de las malezas más problemáticas en el sudeste de los Estados Unidos (Bridges & Bauman 1992; Norsworthy 2003; Webster & Coble 1997). Está considerada entre las más competitivas malezas de soja (*Glycine max* Merr.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), y maní (*Arachis hypogaea* L.) (Byrd Jr. & Coble 1991; Royal et al. 1997; Rushing & Oliver 1998). En soja, una planta de abrojo por metro cuadrado de surco puede reducir la cosecha en un 20%, densidades mayores de la maleza pueden reducir un 50% o más de la cosecha (Barrentine 1974; Bloomberg et al. 1982; Marwat & Nafziger 1990; Rushing & Oliver 1998). Con respecto al algodón, *X. strumarium* está entre la 10 malezas más comunes de este cultivo en Alabama, Florida, Georgia, Missouri, Mississippi, North Carolina, Oklahoma, South Carolina, y Tennessee (Webster 2001). A una densidad de 6.6 plantas de abrojo por metro cuadrado de surco de algodón, Buchanan & Burns (1971) encontraron que la pérdida de la cosecha llegaba a un 80%. Sorprendentemente, Byrd & Coble (1991), encontraron que densidades de abrojo bajas, 0.48 plantas metro cuadrado de surco de algodón, reducían la cosecha en un 31%.

Cuando invade los corrales y pasturas, reduce la producción animal. Los abrojos se adhieren al pelaje de los animales, y en el caso de las ovejas la limpieza de la lana incrementa los costos de producción (Wapshere 1974 a). La semilla es tóxica para el ganado, especialmente para los porcinos (Marzocca 1976), por la presencia de una carboxiatractilosida (Cole et al. 1980). Los plantines de abrojo tienen grandes concentraciones de carboxiatractilosida que dura hasta la aparición de la primera hoja verdadera, momento en el cual la planta deja de ser tóxica. La carboxiatractilosida es un inhibidor del crecimiento de las plantas y causa hipoglucemia en animales que la consumen, probablemente porque interfiere en la fosforilación oxidativa.

Para el ganado en general se estimó que una ingesta de aproximadamente un 2% del peso del animal en semillas y plantines de reciente germinación es letal (Seddon & King 1938). Sin embargo, el efecto tóxico disminuye rápidamente después de la germinación. Además, los pelos glandulares de las hojas secretan una sustancia que produce dermatitis cuando es tocada por personas alérgicas (King 1966). En los Estados Unidos, el abrojo (cocklebur) es un hospedador alternativo de *Alternaria helianthi* (Schw), que produce una de las principales enfermedades que afectan al girasol, la "alternaria leaf spot" (Quimby 1983).

Antecedentes de Control Biológico de *Xanthium* spp.

Australia es el país que más activamente ha trabajado en la búsqueda de agentes de control biológico para *Xanthium*. Desde 1931 ha llevado a cabo exploraciones de enemigos naturales en los Estados Unidos, India y Pakistán para la selección de candidatos para el control biológico (Baloch & Ghani 1969). Hasta el presente Australia ha introducido cinco especies de enemigos naturales, uno de ellos en forma accidental. En 1932 fue introducida una mosca que ataca las semillas del abrojo, *Euaresta aequalis* Loew (Diptera: Tephritidae), desde

los Estados Unidos. Esta mosca se estableció en muy bajas densidades no produciendo ningún control. Probablemente, la falta de sincronización entre la maduración del abrojo y el período de oviposición del insecto fue la causa (Julien & Griffiths 1998). En 1962 fue introducido desde los Estados Unidos un cerambícido barrenador de tallos, *Mecas saturnina* Le Conte; que después de varias liberaciones en áreas con alta infestación, logró establecerse. El insecto no logró aumentar su densidad y no realizó control alguno quedando solo una población marginal (Wapshere 1974a, 1974b). En 1964 fue liberado otro cerambícido barrenador de tallos, *Nupserha vexator* Pascoe (= *N. antennata* Gahan) introducido desde la India (Julien & Griffiths 1998). Si bien se estableció ampliamente en los primeros años, su población declinó después de la introducción de *Epiblema strenuana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) en 1984 (Julien & Griffiths 1998). *Epiblema strenuana* inicialmente introducida desde los Estados Unidos para el control de *Parthenium hysterophorus* L. y confirmando las predicciones de las pruebas de especificidad, atacó a *X. strumarium*, *X. spinosum* y *Ambrosia artemisiifolia* (McFadyen 1985). Sin embargo, el control alcanzado sobre *Xanthium* spp. fue bajo (McFadyen 1985).

Hasta el presente el mejor agente de control ha sido la roya *Puccinia xanthi* Schweinitz, (Fungae: Uredinales) introducida accidentalmente desde los Estados Unidos en 1974. Produce excelente control en la mayor parte de Queensland, lugar donde la maleza produce un gran perjuicio, pero no en las áreas secas, menos afectadas por el abrojo (Julien & Griffiths 1998).

Información Previa Sobre *A. versicolor*

En la Argentina se llevo a cabo durante 1985 una búsqueda de enemigos naturales de *X. cavanillesii*. Uno de los mejores candidatos que surgió de dicha búsqueda en términos de abundancia, daño y frecuencia en su ocurrencia fue el barrenador del tallos *Apogomerella*

versicolor (Boheman). Lane (1974) revisó la tribu Aerenicina y listó la siguientes sinonímias para este cerambícido: *Saperda versicolor* Boheman, *Phytoecia sanguinicornis* Burmeister, *Emphytoecia versicolor* Boheman, *Apagomera suturella* Bates y *Apagomerella suturella* (Bates).

Concepto de Maleza

Antes de que el hombre comenzara a modificar el ambiente, los cambios en la distribución y abundancia de las plantas estaban determinados por las fluctuaciones ambientales (glaciaciones, cambios climáticos, cambios en la composición atmosférica) y por interacciones biológicas. Naturalmente el área de distribución espacial de las plantas se encuentra en constante expansión y contracción (West 1991) y es un elemento importante en la sucesión ecológica de todo sistema. Las actividades humanas alteraron la tasa de esos procesos naturales llevándolos a niveles alarmantes durante la última centuria. Las plantas al no tener mecanismos propios de dispersión, siempre dependieron de factores exógenos. Las actividades del hombre incrementaron la capacidad de dispersión de las plantas y produjeron un aumento dramático en el área de distribución de éstas.

Hay tres conceptos que se relacionan con aquellas plantas que incrementan su área de distribución alterando la composición y riqueza de biomas naturales: maleza, planta colonizadora y planta invasora. Si bien estos conceptos pueden utilizarse como sinónimos tienen significados diferentes (Williamson 1993). Los tres se refieren a perspectivas diferentes. Desde el punto de vista antropocéntrico, las malezas son plantas no deseadas y perjudiciales para el hombre; biogeográficamente, una planta es invasora cuando expande su área de distribución hacia lugares donde no se encontraba previamente y desde un punto de

vista ecológico es una planta que posee atributos que hacen que aparezca temprano en la sucesión es colonizadora.

Además de estas diferencias, existen otras en la taxonomía y el origen pudiendo ser estas nativas o exóticas. Por ejemplo, hay más familias con especies de plantas invasoras que familias con especies de malezas (Cronk & Fuller 1995). En 14 definiciones de planta maleza, invasora y colonizadora, Pysek (1995) encontró grandes discrepancias cuando se las caracterizaba según su origen. De hecho el 73% de las malezas de cultivos son exóticas y en ambientes naturales moderadamente alterados sólo lo son el 41% (Pimentel 1986). Las diferencias en estos porcentajes (32%) se explicaría por la condición de colonizadora de las plantas malezas. En ambientes naturales no perturbados, las malezas colonizadoras (exóticas o no) tienen menos oportunidades de establecerse.

Las malezas son plantas ecológicamente adaptadas a áreas y cultivos determinados. Aquellas que invaden cultivos comúnmente presentan un ciclo biológico semejante a este. Tienen gran vigor vegetativo, y poseen dispositivos muy eficaces para su diseminación. Resisten factores adversos como sequías, temperaturas extremas, humedad ambiente y parásitos. Son muy plásticas, lo que les permite crecer vigorosamente en suelos fértiles y soportar las condiciones rigurosas de los suelos áridos. Sobreviven a los períodos de sequía por tener alta presión osmótica, restándole agua del suelo a las plantas cultivadas (Parodi 1945). También ocasionan perjuicios e inconvenientes a las explotaciones ganaderas y agrícolas así como a la salud humana y a la calidad y costo de los productos obtenidos.

Los factores más importantes que determinan los daños a la agricultura y la ganadería son: competencia directa con plantas cultivadas restándoles espacio, luz, agua y nutrientes; transmisión de mal gusto, olor, color o sustancias tóxicas a los productos agropecuarios;

dificultad en el acceso a las aguadas; inconvenientes en el manejo de los animales, propagación de incendios una vez secas y presencia de agentes alergógenos y alelopáticos (DeLoach et al.1989). En los últimos años ha comenzado a evaluarse el impacto de las malezas en las áreas protegidas, y se han comenzado a proteger áreas naturales de la amenaza de las malezas (Pieterse 2000, Cordo 2004).

Como consecuencia de la acción de las malezas, los costos del manejo agropecuario aumentan por el incremento de laboreos y de aplicación de herbicidas, por el mayor gasto de secado, limpieza y transporte de los granos y por la depreciación del valor de la tierra, lana y cueros.

Estrategias del Control Biológico

Un elemento básico para obtener una producción agropecuaria eficiente es el control de las malezas. Este control puede realizarse por varios métodos: manual, mecánico, cultural, químico, biológico y más conveniente aún, es utilizar la integración de dos o más prácticas adecuadas a la situación particular (De Loach et al.1989).

El control biológico clásico de malezas es la introducción de organismos (en general insectos y microorganismos) a nuevas áreas donde una especie de planta es maleza (generalmente exótica) para reducir su población por debajo del nivel de daño económico. También existen otros tipos de control biológico, inoculativo y aumentativo, en los cuales se pueden utilizar enemigos naturales nativos. Históricamente, el control biológico clásico de malezas tuvo muchos éxitos y la metodología utilizada para probar la seguridad de los agentes de control fue aceptada como muy confiable. De hecho los profesionales del control biológico de malezas mostraban, basados en sus resultados, que en 100 años de práctica no se produjeron

ataques a plantas de interés para el hombre en las introducciones de agentes de control. Sin embargo, en las últimas décadas comenzó a discutirse que el control biológico no era tan ambientalmente seguro como se lo mostraba por su potencialidad en producir efectos no deseados al ambiente, como el caso de ataque a especies no objeto de control y en peligro de extinción (ver Follet & Duan 2000), y comenzó una dura crítica sobre los efectos adversos al ambiente y al hombre (McEvoy 1996, Second & Kareiva 1996). Se debe tener presente que el control biológico de malezas es una poderosa herramienta, que utilizada correctamente es muy beneficiosa pero que tiene sus limitaciones: es difícil, si bien existen unos pocos casos, que el bioherbicida reemplace a un herbicida en un monocultivo, pero sí que complemente su acción, y por sobre todo, se deben evaluar todos los efectos no deseados que puede provocar la liberación del agente de control en el nuevo ambiente. Toda acción de control de una maleza está basado en una ecuación de costo-beneficio donde se tienen que evaluar las distintas alternativas de estrategias que se puedan aplicar, el costo que cada una genere (económico, ambiental, etc.) y el monto de los perjuicios que produce la maleza.

Información sobre *Xanthium* spp.

Taxonomía: El género *Xanthium* pertenece a la tribu Heliantheae (Asteracea), subtribu Ambrosiinae (Robinson 1981), siendo probablemente de origen Sudamericano (Ragonese & Milano 1984), aunque Love & Dansereau (1959) afirman que el origen es Centro y Sudamericano. La taxonomía de este género es muy confusa. En EE.UU. fueron descriptas más de 50 especies de *Xanthium* basadas principalmente en las diferencias morfológicas de las infrutescencias (Love & Dansereau 1959). Sin embargo, es bien conocida la gran variación inter e intraespecífica de las espinas involucrales y estilóforas del fruto en su tamaño, color,

forma, número, longitud y morfología, así como la altura de la planta, y la forma y tamaño de las hojas (Love & Dansereau 1959, Nadeau 1961, Hicks 1971, McMillan 1975, Weaver & Lechowicz 1983). A esto se le debe agregar los efectos de la hibridación, que son muy comunes en este género.

La gran cantidad de especies descritas y la discrepancia entre los taxónomos sobre la validez de las especies motivó a que el género fuera objeto de varias revisiones (Widder 1923, Millspaugh & Sherif 1919, Love & Dansereau 1959, McMillan 1975, P. W. Michael, pers. comm. en Hocking & Liddle 1986). La más aceptada, según Weaver & Lechowicz (1983), fue la realizada por Love & Dansereau (1959) quienes reducen todas las especies de abrojos a dos, *X. strumarium* L., la cual no presenta espinas en el tallo y *X. spinosum* L., con espinas en el tallo. La primera es una especie muy variable y fue subdividida en muchas entidades taxonómicas (jerárquicamente en subespecies, variedades, formas y notofomas), y la segunda es una especie relativamente estable. De acuerdo con esta clasificación, la especie nativa de la Argentina, *X. cavanillesii*, pasaría a ser *X. strumarium cavanillesii*. Sin embargo, dado el carácter provisional de esta clasificación y que los botánicos argentinos no la utilizan, para la presente tesis se tomaron las especies de *Xanthium* utilizadas en las publicaciones argentinas.

Origen y Distribución Mundial de las Especies Presentes en Argentina.

X. ambrosioides Hooker et Arnott: nativa de América del Sur (Ridley 1930, Cunningham et al. 1981) posiblemente de la Argentina (Holm et al. 1979), muy raramente presente en el viejo mundo. Fue hallada en Ginebra, Suiza y Australia, probablemente llegó como contaminante de la lana (Hocking & Liddle 1986, Parodi 1964).

X. cavanillesii Schouw: es originaria de Sudamérica, Argentina, Chile y Uruguay y fue introducida en Australia en el siglo XIX (Holm et al. 1979); de acuerdo a Parodi (1964), se encuentra distribuida desde México hasta Argentina.

X. saccharatum Wallroth: se considera como nativa de EE.UU. y México (Michael 1981) y ha sido introducida en Argentina, Asia, Australia, Hawaii y Tahití (McMillan 1975b, Holm et al. 1979)

X. spinosum L.: nativa de América del Sur, probablemente de Chile, ha sido introducida en Australia, Norteamérica y resto de Sudamérica, Asia, Nueva Zelanda, costas africanas, Europa Central y del Sur (Hilgendorf 1967, Holm et al. 1977). De hecho se la considera casi cosmopolita en regiones templadas cálidas y semiáridas del planeta (Wilson 1960). Ragonese y Milano (1984) también asignan un origen Sudamericano a esta especie.

X. strumarium L.: nativa del sur de los EE.UU. y México (Michael 1981), ha sido introducida a Canadá, Trinidad, Europa, África, Australia y otras islas del Pacífico, incluyendo Fiji y Filipinas, y Asia, especialmente India, Pakistán, y en el sudeste asiático, China, Japón, Taiwan y Tailandia, (Mune & Parham 1959, Holm et al. 1977, 1979). En la década del 80, fue hallada como maleza en cultivos de soja en el departamento de Constitución, Provincia de Santa Fe. Probablemente llegó como contaminante de semillas de soja (Mitidieri et al. 1988). En el transcurso de la investigación de esta tesis el autor encontró a *X. strumarium* en las orillas de los ríos Paraná, a la altura de Santo Tomé en manchones muchísimo más densos y extensos que los de *X. cavanillesii*, y como maleza en cultivos de algodón en Saenz Peña, Chaco.

Fenología: Todas las especies del género *Xanthium* son anuales. Las plántulas emergen de 7 a 10 días luego de iniciada la germinación. Los cotiledones son grandes y fotosintéticamente activos. Además, contienen lípidos, proteínas y minerales de reserva, lo que les permite establecerse rápidamente (Hocking & Liddle 1986).

En Buenos Aires el pico de la germinación de *X. cavanillesii* se produce en años lluviosos a mediados de septiembre y puede prolongarse hasta mediados de octubre. Florece y fructifica desde mediados de diciembre hasta fines de marzo. En abril y mayo la planta se seca (Parodi 1964).

Suelo: Para la mayoría de la especies de abrojo parece no haber preferencias por ningún tipo de suelo (Kaul 1965), aunque todas las especies crecen mejor en suelos arenosos, con un poco de contenido de materia orgánica (Love & Dansereau 1959).

En India, *X. strumarium* germina y crece en un rango de pH de suelo de 5,2 a 8.0 y tolera inundaciones frecuentes y condiciones salinas. (Weaver & Lechowicz 1983). Sin embargo, *X. cavanillesii* puede ser más tolerante a suelos alcalinos que otras especies del género (Mc Millan 1975).

Las plantas de los abrojos de tallos no espinosos toleran inundación en todos los estadios de crecimiento. Las raíces de plantas en condiciones anaeróbicas desarrollan grandes espacios aéreos en la corteza y están menos suberizadas que las raíces de plantas que crecen en condiciones aeróbicas (Weaver & Lechowicz 1983). En cambio los abrojos espinosos perecen en condiciones de inundación (Hocking & Liddle 1986).

Germinación: En las especies de *Xanthium* estudiadas, incluyendo *X. cavanillesii* y *X. strumarium*, las dos semillas de cada abrojo difieren en su tamaño y en los requerimientos de germinación (Kaul 1965, Hicks 1971). La semilla inferior (más grande) germina en la

primavera, y la semilla superior (más pequeña) no germina hasta finales de la primavera o más a menudo en los años siguientes (Hocking & Liddle 1986), pero hay poblaciones en donde las dos semillas son del mismo tamaño y germinan en la misma primavera (Hick 1971).

Los requerimientos de la dormición y de la germinación de las semillas de los abrojos fueron estudiados en detalle. La estructura del fruto es importante para el retraso de la germinación de las semillas. El 90% de las semillas inferiores y superiores pueden germinar en 48 horas luego de quitarlas del abrojo pero menos del 1% de las semillas encerradas en el abrojo germinarán luego de 2 semanas (Moran & Marshall 1978).

La dormición de las semillas está influida por la cubierta seminal y los procesos que determinan la germinación o la dormición parecen depender de interacciones entre temperatura, ambiente gaseoso y niveles de inhibidores endógenos. Si estos factores son favorables, las semillas germinan cuando el tegumento de la semilla es removido (Wareing & Foda 1957). La diferencia en la capacidad de germinación entre la semilla inferior y superior parece depender de la relación entre el volumen de la semilla y la testa. Una vez que es quitada la testa, las semillas (superior e inferior) muestran similar capacidad germinativa (Esashi & Leopold 1968). Cualquier acción microbiana o mecánica que rompa la testa ayudará a romper la dormición (Liddle 1986).

En *X. strumarium*, la absorción de agua por parte de la semilla ocurre en 2 fases. La primera dura 5 horas y es pasiva, la segunda o activa comienza 15 a 20 horas después y es inhibida en medio anaeróbico (Esashi & Leopold 1968). El efecto de inhibición en semillas remojadas durante largos períodos, como ocurre luego de una inundación parece que se debe a la ausencia de oxígeno (Liddle 1986).

Las semillas *X. strumarium* tienen altos requerimientos de humedad para germinar y lo hacen escasamente en suelos con contenido de humedad por debajo del 95% de su capacidad de campo (Kaul 1965). También se sabe que tienen diferentes temperaturas óptimas para germinar una vez que han alcanzado sus requerimientos de "descanso", 21° a 24°C, germinando más rápidamente de 30° a 34°C, mientras que las semillas superiores germinan bien sólo en los rangos de temperatura más elevados (Crocker 1906, Kaul 1965). El porcentaje de germinación es máximo con temperaturas alternantes en 30-20°C o 33-25°C y cuando las semillas son enterradas de 1 a 8 cm bajo la superficie del suelo.

Entre el 88% y el 95% de los abrojos enterrados germinan el primer año y sólo el 25% de los que permanecen en la superficie germinan por la falta de humedad

El aspecto básico y casi excluyente para rechazar o no un insecto para ser utilizado en cualquier proyecto de control biológico es el grado de especificidad hacia la maleza objeto del control biológico y por ende la evaluación de los riesgos de los efectos no deseados que podría producir el agente de control si fuera liberado. Una vez que se establece la especificidad del insecto y se confirma que el grado de la misma es lo suficientemente alto y el insecto es seguro, se profundizan los estudios que evalúan algunos atributos biológicos del agente de control, como fecundidad de las hembras, número de generaciones por año, adaptabilidad a diferentes climas, estimación del daño que provoca el insecto, etc., que sirven para tomar la decisión final sobre si se lo libera o no.

Objetivo General

El objetivo general de este trabajo fue estudiar las potencialidades de *A. versicolor* como agente de control biológico del abrojo grande, *X. strumarium* en los EE.UU. Para ello se

llevaron a cabo estudios sobre aspectos básicos de la biología del cerambícido, su distribución y plantas hospedadoras.

Objetivos Específicos

1) Estudiar la Biología de *A. versicolor*.

Mediante estudios de campo se estableció el ciclo de vida, el complejo de parasitoides y la distribución geográfica en Argentina; y en laboratorio se estudió la tasa de desarrollo de las pupas, la diapausa larval, la fecundidad y longevidad de los adultos, y la resistencia al frío y a la inmersión de las larvas invernantes.

2) Estimar el Daño Producido a *X. cavanillesii* por *A. versicolor*.

En el laboratorio se estimó la reducción de la producción de abrojos ocasionado por el daño que producen las larvas con su barrenado a la planta.

3) Estudiar el Rango de Plantas Hospedadoras Fisiológico y de Campo de *A. versicolor*.

Se determinó la especificidad en el laboratorio mediante pruebas de no elección sobre más de 50 plantas seleccionadas como potenciales hospedadoras, y en el campo a través de la búsqueda e identificación de plantas hospedadoras en el área de distribución de *A. versicolor* en Argentina.

4) Estudiar la Variabilidad Intraespecífica del Uso de Plantas Hospedadoras de *A. versicolor*.

Se analizó si la variación geográfica observada en el uso de plantas hospedadoras es una respuesta ecológica a la oferta de estas o es el resultado de un proceso evolutivo. Para ello se combinaron estudios de oferta y uso de plantas hospedadoras en el campo con experimentos controlados sobre preferencia de oviposición de las hembras y pruebas de éxito en la cópula en relación al origen geográfico o de la planta hospedadora de los adultos junto a estudios de variabilidad genética. La hipótesis es que *A. versicolor* se encuentra en un proceso de diversificación iniciado por la expansión en el rango de plantas hospedadoras seguida por un proceso de formación de razas (host race formation).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios de laboratorio se realizaron en el USDA-ARS South American Biological Control Laboratory (SABCL), ubicado en Hurlingham, Buenos Aires. Los trabajos de campo y la mayoría de las pruebas de laboratorio para los estudios de la bionomía del insecto y de especificidad fueron realizados entre 1986 y 1993. Para los estudios de campo se usó una población de *X. cavanillesii* procedente de una pastura ubicada en los márgenes del río Reconquista entre Hurlingham y San Miguel, a 10 km del SABCL. Los registros del clima presentados en este trabajo (1981-1990) fueron provistos por la estación meteorológica del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias del INTA, sito en Castelar, 10 km al sur del sitio de estudio.

Todos los resultados están expresados como el promedio \pm DS, excepto en unas pocas ocasiones donde fue utilizado el rango y está aclarado.

Recolección de *A. versicolor* para las Diferentes Pruebas.

Los adultos de *A. versicolor* fueron capturados con una red de arrastre. Las pupas fueron encontradas únicamente en las raíces de las plantas secas o en tocones, compuestos por la raíz de la planta más una pequeña porción del tallo, 3-4 cm, producidos por las larvas de *A. versicolor* en el otoño (en la sección resultados se explica más detalladamente su estructura y posible función). Los adultos, utilizados para las diferentes pruebas o para obtener huevos o estados inmaduros, fueron confinados dentro de tubos de vidrio de 10 cm de diámetro y 25 cm de alto, cubiertos con una red de nylon, y alimentados con hojas frescas y tallos de *X. cavanillesii*. El máximo número de adultos por tubo fue de 20. Huevos y larvas del primer

estadio fueron obtenidos mediante la disección de plantas jóvenes, y las larvas del último estadio (séptimo) fueron obtenidas por disección de plantas maduras con frutos, tallos secos de plantas senescentes y los tocones producidos por el insecto. Las pupas fueron encontradas en raíces de plantas secas y tocones. Los primeros estadios larvales no aceptaron dieta artificial. Las larvas recién emergidas fueron transferidas a porciones de tallos de *X. cavanillesii* de aproximadamente 10 cm de largo y 1 cm de sección hasta alcanzar al menos el cuarto estadio. A partir del cuarto estadio, las larvas fueron alimentadas con dieta artificial (Harley & Wilson 1968). Tanto larvas maduras como pupas fueron criadas individualmente en recipientes plásticos de 34 ml conteniendo papel tissue húmedo (3/4 del total de su volumen) para proveer así un sustrato húmedo. Las larvas, las pupas y los adultos se mantuvieron a 25-30°C y a 70-80% HR, con un fotoperíodo de 14/10 L:O.

Bionomía

Estudios de Campo.

Ciclo de vida. *Xanthium cavanillesii* es una maleza anual de verano, que presenta reproducción sexual únicamente. En Buenos Aires, las plántulas aparecen a principios de la primavera y las plantas crecen durante toda la estación estival. En diciembre las plantas comienzan a florecer; durante el otoño mientras los frutos maduran las plantas comienzan a secarse.

La estimación de la densidad de los diferentes estadios de *A. versicolor* se hizo a través de un muestreo de plantas y tocones de *X. cavanillesii* desde septiembre de 1987 hasta agosto de 1988. Debido a que, 1) las plantas de *X. cavanillesii* son anuales y que el insecto permanece en la misma aun cuando las plantas están secas, y 2) que coexisten dos generaciones de *A.*

versicolor, una en plantas secas germinadas el año anterior y otra con plantas germinadas ese año, se debieron realizar muestreos simultáneos sobre distintas generaciones de las plantas para estudiar los diferentes estados del insecto.

La abundancia de pupas y adultos se estimó a partir de 18 muestras (tomadas cada 8-10 días) de tocones y plantas secas de *X. cavanillesii* (germinadas el año anterior) tomadas entre septiembre de 1987 y enero de 1988.

Para estimar la densidad de larvas se tomaron al azar 16 muestras de 100 plantas germinadas a mediados de septiembre de 1987, las muestras se realizaron cada dos semanas desde octubre de 1987 hasta septiembre de 1988. Entre los meses de octubre de 1987 y abril de 1988 se realizaron los muestreos de plantas verdes, mientras que en el período comprendido entre abril y septiembre de 1988 sólo se encontraron plantas secas y tocones. El número total de plantas muestreadas durante todo el período de estudio fue de aproximadamente 1100 plantas.

La presencia de adultos de *A. versicolor* en el campo fue estimada en forma indirecta contando los orificios de emergencia de los adultos en los tocones y en las plantas secas. Mediante muestreos sucesivos fue establecido el porcentaje de los adultos emergidos en cada período. La incidencia de huevos fue estimada combinando los resultados de fertilidad de los adultos, a partir de una tabla de fecundidad obtenida en el laboratorio, y el porcentaje de adultos que emergieron en el campo. Mediante el conteo directo fue calculada la proporción de larvas y pupas. La incidencia de los parasitoides fue obtenida a través del conteo de los capullos hallados dentro de los tocones y de los parasitoides emergidos de las larvas colectadas en el campo.

Durante los veranos de 1987-1988 y 1988-1989 el porcentaje de plantas atacadas por *A. versicolor* fue estimado por el muestreo de 1061 y 1832 plantas de *X. cavanillesii* respectivamente.

Para determinar los sitios de preferencia de oviposición de *A. versicolor*, se recolectaron en el campo alrededor de 300 plantas de *X. cavanillesii* de diferentes edades y estados fenológicos y se disecaron en el laboratorio para la búsqueda de huevos.

El número de estadios larvales fue establecido a través de la medición del ancho de la gula de las larvas capturadas en el campo. En el laboratorio, el desarrollo de las larvas se continuó en cámaras de cría donde se midió el ancho de la gula en las larvas y en las exuvias después de cada muda. La medida del ancho de la cápsula cefálica no fue utilizada debido a que la exuvia se rompía y se deformaba completamente en la ecdisis. Si bien la gula también se rompía, ésta lo hacía por el centro lo que facilitó su medición. Los datos de las mediciones de la gula fueron analizados utilizando la regla de Dyar (Dyar 1890).

Parasitoidismo. Los parasitoides de *A. versicolor* se estudiaron estacionalmente sobre *X. cavanillesii* en el mismo lugar donde se estudió el ciclo de vida del insecto desde 1987 hasta 1989. Las larvas, pupas y adultos de *A. versicolor* fueron criados individualmente en recipientes de 34 ml y se revisaron dos veces por semana para la obtención de parasitoides. Para el estudio estacional, durante los veranos de 1987-1988 y 1988-1989 se examinaron 213 y 264 larvas de *A. versicolor* respectivamente.

Distribución Geográfica. La distribución geográfica de *A. versicolor* (en la Argentina) fue determinada mediante la colección de larvas en 77 sitios diferentes entre 1986 y 1989. También se examinaron especímenes de *A. versicolor* de las colecciones del Museo Argentino

de Ciencias Naturales de Buenos Aires, del Museo de La Plata y de la Fundación Miguel Lillo en Tucumán.

Estudios de Laboratorio.

Se realizaron estudios de fecundidad, longevidad de los adultos, resistencia de las larvas a las bajas temperaturas y a la inmersión. Se calculó la constante térmica para el estado pupa, y se estudiaron los requerimientos térmicos para romper la diapausa en larvas invernantes.

Fecundidad y Longevidad. Para este estudio se utilizaron 18 parejas de adultos que emergieron de pupas recolectadas en el campo. Cada pareja fue introducida en un tubo de vidrio que contenía una planta de *X. cavanillesii* en una maceta. La planta fue utilizada para alimentar a los adultos y para permitir la oviposición de las hembras. Las plantas se reemplazaron cada tres días, y se realizaron disecciones de los tallos para contar el número de huevos. El comportamiento de oviposición fue analizado tanto en estas condiciones como en el campo. Se midieron la longitud, el ancho, la supervivencia y el período de incubación de 50 huevos a 25°C y a 80% HR.

Tasa de Desarrollo de las Pupas. La tasa de desarrollo de las pupas se estudió para facilitar el manejo de la colonia y para facilitar futuras introducciones de *A. versicolor* al hemisferio norte. Se midió el tiempo de desarrollo del estado de pupa a diferentes temperaturas. Las larvas fueron colocadas en cabinas de cría a 15°, 20° y 25°C (n= 10 para cada temperatura) y fueron examinadas diariamente. Se midió el tiempo de desarrollo desde el día en que la larva se transformó en pupa hasta el día en que esta alcanzó el estado adulto. La temperatura umbral de desarrollo y la constante térmica K se estimaron por el método de intersección usando una regresión lineal. La constante térmica K, expresada en días-grados,

fue calculada usando la fórmula $K = y_i (t_i - z)$, donde y_i representa el número promedio de días necesario para completar el estado pupa a la temperatura t_i , y z es la temperatura umbral de desarrollo, bajo el supuesto que la inversa del tiempo de desarrollo y la temperatura están linealmente relacionadas (Andrewartha & Birch 1958).

Resistencia de las Larvas Invernantes al Frío y a la Inmersión. *Xanthium strumarium* y *X. cavanillesii* aparecen frecuentemente en áreas que suelen estar inundadas por varios días, de hecho el complejo de las especies de *Xanthium* con tallo no espinoso son resistentes a la inundación (Weaver & Leichovicz 1983). Durante el estudio se observó que las larvas también podían sobrevivir en condiciones de inmersión. En consecuencia se examinó la capacidad del insecto a sobrevivir bajo esas condiciones. Para ello se mantuvieron bajo agua durante diferentes períodos de tiempo (entre 3 y 20 días) 6 grupos de diez larvas cada uno, utilizando dos metodologías diferentes: 1) Las larvas fueron extraídas de los tocones, y luego se ubicaron en pequeños cilindros de vidrio con ambos extremos cerrados por una malla de nylon y se sumergieron en agua a 12 cm de profundidad. 2) Las larvas se dejaron dentro de los tocones y estos se enterraron hasta la altura del cuello de la raíz dejando libre los 3-4 cm del tallo (simulando lo que sucede en el campo) en un cubo de arena. Los tocones se sumergieron en agua cubriéndolos 12 cm por encima del nivel superior de los tallos. En ambos métodos, la temperatura se mantuvo a $15 \pm 2^\circ\text{C}$.

La resistencia de las larvas a las bajas temperaturas se estudió para identificar potenciales áreas donde el insecto se podría establecer en los Estados Unidos. Larvas invernantes del último estadio (VII) fueron extraídas de las raíces, ubicadas individualmente en recipientes de vidrio sellados y sumergidos en etanol a diferentes temperaturas. Doscientas ocho larvas se dividieron en 26 grupos (8 larvas cada uno). Un grupo se dejó como control a 25°C y los 25

restantes se mantuvieron a cinco temperaturas (+4°, 0°, -4°, -8° y -14°C) durante cinco períodos de tiempo (1, 3, 7, 10 y 13 días). Toda larva que permaneció viva 5 días después de terminada la prueba se la consideró como no afectada por el tratamiento.

Diapausa. En estudios preliminares se observó que en Buenos Aires, las larvas de *A. versicolor* tienen diapausa invernal. Menos del 10% de larvas de *A. versicolor* colectadas a fines del verano (no expuestas previamente a temperaturas menores a los 15°C) y colocadas en una cámara de cría a 30°C continuaron su desarrollo y alcanzaron el estado pupal (mostrando ausencia de diapausa). El restante 90% permaneció en el último estadio larval (séptimo) un mínimo de 6 semanas.

Para encontrar las condiciones necesarias para romper la diapausa se expusieron larvas en diapausa a diferentes temperaturas e intervalos de tiempo. A fines del verano se separaron 259 larvas del último estadio en 37 grupos de 7 larvas cada uno. Uno de los grupos fue utilizado como control y mantenido a 30°C. El resto fue expuesto a seis temperaturas (-4°, 0°, 4°, 8° y 12°C) durante seis intervalos de tiempo (1, 2, 4, 8, 16 y 32 días). Al finalizar cada tratamiento, los grupos de larvas fueron colocados en cámaras de cría a 30°C y 80% HR. A cada larva se le contabilizó el número de días en que alcanzó el estado pupa.

Estimación del Daño en el Laboratorio

En el laboratorio se estimó el daño que producían las larvas de *A. versicolor* sobre *X. cavanillesii* medido en términos de reducción del número de abrojos de las plantas atacadas en relación a la producción de las plantas control.

La prueba se realizó dentro de una clausura debido a que las instalaciones del laboratorio están dentro del área de distribución del insecto. La clausura constaba de una estructura

metálica que soportaba una malla de nylon que no permitía el ingreso de adultos silvestres de *A. versicolor*.

Plantines de 3 semanas (12 cm de altura) de *X. cavanillesii* fueron plantados en la clausura, una parcela de 5.5 x 3.5 m. Las plantas se ubicaron equidistantes a 25 cm resultando una distribución uniforme con una densidad de 16 plantas/m². Las plantas ubicadas en el perímetro no fueron utilizadas en la prueba. La máxima diferencia de edad entre los plantines fue de dos días. La edad de las plantas en el momento de la prueba fue considerada crítica porque la producción de abrojos esta relacionada al tamaño de la planta en el momento de la inducción floral (Zimmerman & Weiss 1984), que a su vez depende del fotoperíodo.

Los adultos de *A. versicolor* utilizados fueron colectados como larvas y pupas sobre los márgenes del Río Luján en la localidad de Pilar, Provincia de Buenos Aires. Se formaron cuatro grupos de 40 plantas de *X. cavanillesii* cada uno mediante el empleo de una tabla de números al azar. Un grupo fue utilizado como control y los tres restantes se utilizaron para sucesivas infestaciones a los 45, 75 y 105 días desde la germinación de las plantas. Las infestaciones de las plantas se hicieron en forma individual, para ello cada planta fue cubierta con una jaula cilíndrica (25 cm de diámetro y 50 cm de altura) de pared de alambre tejido. Cuando fue necesario (en plantas infestadas a los 75 y 105 días de edad) dos o tres jaulas fueron acopladas para cubrir la totalidad de la planta.

Las plantas infestadas a los 45 días de edad tenían en el momento de la infestación una altura de $18,6 \pm 4,55$ cm y un diámetro en la base del tallo de $0,57 \pm 0,07$ cm. Las plantas infestadas a los 75 días de edad tenían una altura de $93,74 \pm 27,15$ cm y un diámetro de $1,14 \pm 0,33$ cm. Las plantas infestadas a los 105 días tenían una altura de $197,15 \pm 51,23$ cm y un diámetro de $1,38 \pm 0,35$ cm. Llegado el momento de la infestación se tomaban dos hembras de

A. versicolor previamente fecundadas y se introdujeron en la jaula de la planta seleccionada. Al cabo de 24 horas las plantas fueron revisadas y si se observaban al menos dos marcas de oviposición sobre el tallo, las hembras eran retiradas. Caso contrario, se prolongaba la permanencia de las hembras a 48 horas. El número de huevos depositados en cada planta no afectó los resultados de la prueba dado que *A. versicolor* presenta un marcado canibalismo y en plantas monocaulas como las utilizadas en la prueba solo sobrevive una única larva.

La prueba se dio por finalizada a los 175 días desde la germinación de las semillas, cuando la mayoría de los frutos comenzaron a secarse. Al contabilizarse la producción de frutos, los abrojos verdes en diferentes estados de madurez fueron considerados como frutos maduros. En las 160 plantas se midió la altura y el diámetro del tallo a la altura del cuello en la primera infestación y al final de la prueba. Se midió la longitud de las galerías (producidas por el barrenado de la larva) en aquellas plantas atacadas por *A. versicolor*.

Las producciones de abrojos, las alturas y los diámetros de los tallos del control y los tratamientos se compararon a través de un ANOVA de un factor. Las medias fueron separadas mediante la prueba de Mínima Diferencia Significativa (DSM). Las longitudes de las galerías producidas por las larvas en los diferentes tratamientos fueron comparadas a través de una prueba de *t*. El número de abrojos producido por cada planta fue normalizado por medio de una transformación logarítmica. Solo fueron consideradas para el análisis estadístico aquellas plantas en las cuales la larva se halló presente al final del experimento, o aquellas plantas donde se encontraron restos de larvas muertas de los dos últimos estadios.

Estudios de Especificidad

Para determinar el rango de plantas hospedadoras se realizaron pruebas de no-elección en laboratorio y una búsqueda de plantas en el campo. De las características biológicas que enumeran Heard & van Klinen, (1998) como las más utilizadas en pruebas de especificidad (oviposición de las hembras, desarrollo larval, alimentación de larvas y adultos, oogénesis y longevidad de adultos), en este estudio se utilizaron la capacidad de oviposición de la hembra y de desarrollo de la larva para alcanzar el estado adulto sobre la planta probada. No fue posible medir ninguna variable alimentaria debido al comportamiento barrenador de las larvas de *A. versicolor*. En pruebas de laboratorio se estableció que el daño de la larva de *A. versicolor* produce una reducción de abrojos que no está correlacionada con la longitud del barrenado de la larva. Con respecto a la alimentación de los adultos, estos producen un daño mínimo a la planta y su medición no aporta información relevante para este estudio.

El esquema de clasificación utilizado para las Asteraceae es el indicado por Cabrera (1963, 1974, 1978); dentro de la tribu Helianthea se utilizó el sistema provisto por Robinson (1981), y para las *Plucheeae*, Anderberg (1991).

Estudios de Laboratorio

Pruebas de No Elección.

Las plantas utilizadas en esta prueba fueron seleccionadas básicamente de acuerdo al Sistema Centrífugo Filogenético (Wapshere 1974b). Este sistema indica que la selección de las plantas a ser expuestas al ataque del insecto debe seguir una secuencia filogenética que se inicia con aquellas especies de plantas más emparentadas con la maleza, es decir otras especies dentro del género que la incluye. Luego se agregan a la lista aquellas especies de plantas cuyos

géneros esta relacionados filogenéticamente al genero de la maleza, y así se continúa con las subtribus, tribu hasta llegar a cubrir toda familia. Al método de selección descrito, se le agregan plantas seleccionadas por otros criterios, en el caso de *A. versicolor*, estos criterios fueron: 1) asteráceas de valor económico independientemente de la cercanía filogenética a la maleza, 2) plantas atacadas por cerambícidos relacionados a *A. versicolor* y 3) especies de géneros atacados por otros agentes de control biológico del género *Xanthium*. Como resultado de este proceso se seleccionaron 52 especies dentro de la familia Asteraceae (en 12 tribus y 7 sub-tribus).

Las plantas para las pruebas fueron, 1) obtenidas en el laboratorio a partir de semilla, 2) compradas en viveros, 3) colectadas en el campo y transplantadas a macetas. Las plantas obtenidas en el laboratorio se sembraron a principios de primavera en macetas de turba prensada (50 cm³) completadas en $\frac{3}{4}$ partes de su volumen con arena esterilizada. Cuando las plántulas alcanzaron una altura de 5-7 cm se transplantaron a macetas de 30 cm de diámetro y 35 cm de altura con una mezcla de arena, vermiculita y tierra (1:1:1). En los casos en que las plantas fueron compradas, se dejó transcurrir un lapso de 20 días antes de su utilización para favorecer la eliminación de insecticidas en casos de que hubieran sido utilizados. Las plantas colectadas en el campo fueron plantadas en macetas durante el invierno o a principios de la primavera y utilizadas en el verano siguiente.

Las pruebas se realizaron en el jardín del laboratorio durante los meses de diciembre, enero y febrero. Todas las pruebas se hicieron en plantas en macetas. Cada planta fue cubierta por una bolsa de tela de material sintético de malla cerrada y dentro de la misma se dejaron 2 hembras, previamente fecundadas, por un lapso de 48 horas. Al cabo de las mismas se retiraron los insectos y las plantas se dejaron en el jardín hasta el otoño siguiente. Los días con lluvia o

anormalmente fríos en los que la actividad de *A. versicolor* era baja, no se hicieron infestaciones. Si la infestación ya había comenzado, se dejaba a las hembras en contacto con las plantas por un período total de 72 horas. Durante el otoño y el invierno las plantas fueron disecadas para la búsqueda de larvas. Cuando se hallaron larvas se las puso en recipientes de acrílico transparente de 30 cm³ rellenos con papel tissue húmedo para que alcanzaran el estadio adulto. Se hicieron 5 repeticiones por cada especie de planta utilizada excepto en unos pocos casos, como con *Helianthus annuus* L, considerada una planta crítica en estas pruebas.

Plantas Hospedadoras en el Campo. Se examinaron 58 especies de Asteraceae en 6 tribus. El área examinada incluyó toda el área de distribución geográfica de *A. versicolor* en Argentina. El criterio para seleccionar las plantas examinadas fue el mismo que para el estudio de especificidad en laboratorio, más el agregado de aquellas especies de asteráceas que tenían el mismo tipo de hábitat que *Xanthium* spp.

Los tallos de las plantas seleccionadas fueron disecados desde la corona hasta el ápice para la búsqueda de los estados inmaduros o el daño de *A. versicolor*. También se revisaron los tallos secundarios cuando su diámetro superaba los 5 mm. Observaciones previas revelaron que las hembras de *A. versicolor* no atacan plantas cuyos tallos son menores a ese diámetro. Todos los estados inmaduros de cerambícidos encontradas fueron criados con la metodología utilizada para *A. versicolor*: las larvas de los primeros 3 estadios fueron transferidas a trozos de tallos de *X. cavanillesii* donde se las dejó hasta que alcanzaran el cuarto estadio, momento en que fueron transferidas a dieta artificial (Harley & Willson 1968). Las larvas del cuarto, quinto y sexto estadio fueron alimentadas con dieta artificial y las del último estadio (séptimo), que no se alimentan, y pupas fueron criadas individualmente en vasitos de acrílico (34 ml) completos hasta $\frac{3}{4}$ partes de su volumen con papel tissue humedecido.

RESULTADOS

Bionomía

Ciclo de Vida. En Buenos Aires, los adultos de *A. versicolor* aparecen en el campo desde mediados de la primavera, cuando las plantas de *X. cavanillesii* alcanzan una edad de 30-40 días, hasta mediados del verano. La mayor densidad de adultos se encontró a principios de diciembre (Fig. 1), coincidiendo con el período de mayor densidad de huevos en el campo. Las hembras ponen huevos en forma individual dentro de los tallos de *X. cavanillesii*. Al eclosionar el huevo, la larva barrena el tallo en dirección a la raíz. Durante el otoño, la larva, que ya alcanzó los últimos estadios (6° ó 7° estadio), hace un corte circular en el tallo desde el lado interno, a la altura de la corona. Este corte debilita el tallo produciendo la caída de la parte aérea de las plantas hacia mediados del invierno. El período larval en el campo duró

entre 9 y 12 meses incluyendo el periodo en que la larva del 7° estadio pasa en diapausa el invierno (Fig. 1). Si se excluye el tiempo en que la larva pasa en diapausa, el desarrollo larval se completa en un lapso de 3,5 a 4,5 meses. En el campo se colectaron pupas desde principios de octubre hasta finales de diciembre,

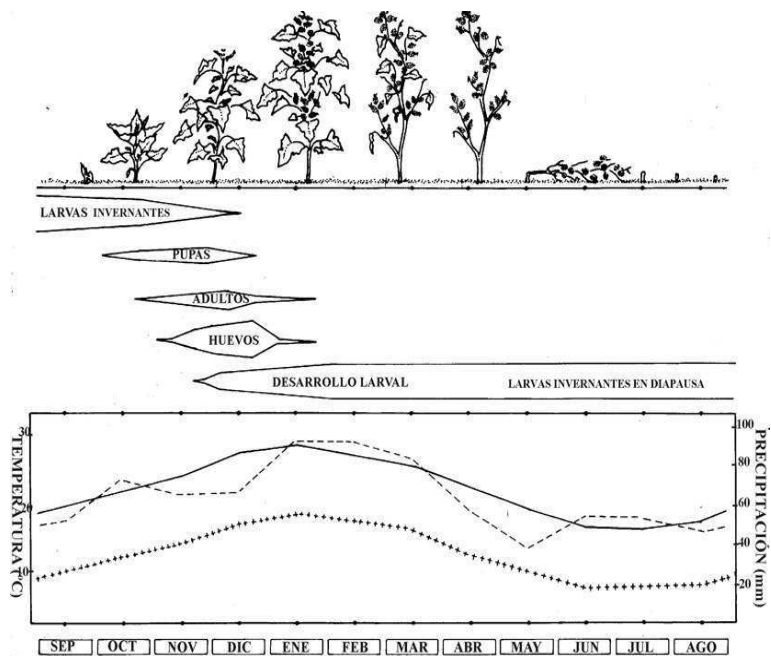


Fig. 1. Correlación entre el ciclo de vida de *A. versicolor* y la fenología de *X. cavanillesii*, relacionada con la media mensual de la temperatura máxima (—), la temperatura mínima (+++) y la precipitación (----) (datos climáticos del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias INTA Castelar, Buenos Aires, 1981-1990).

registrándose la máxima abundancia durante la segunda mitad de noviembre (Fig. 1). En los veranos de 1987-1988 y 1988-1989, el 22,9% y el 59,0% de las plantas de *X. cavanillesii* fueron atacadas por *A. versicolor* respectivamente.

Adultos. Son diurnos y su máxima actividad tiene lugar entre las 10 y 16 h. Los adultos le provocan poco daño a las plantas hospedadoras, se alimentan sobre las nervaduras y tejidos adyacentes en el envés de las hojas. Ambos sexos tienen la capacidad de estridular al ser perturbados. La longitud promedio de los adultos de *A. versicolor* fue de $8,4 \pm 1,1$ mm. En el laboratorio, la longevidad promedio fue de $18,5 \pm 5,8$ días (rango= 8-44, n=36). No se

encontraron diferencias significativas entre la longevidad de hembras y machos ($t=-1,31$; g.l.= 1; $P= 0,19$). Cada hembra puso un promedio de 38 ± 16 huevos (rango=12-116), el 66% de los huevos fueron puestos durante la primer semana

de vida de la hembra (Fig. 2).

En el laboratorio y en el campo, las hembras de *A. versicolor* utilizaron los

mismos sitios de oviposición: depositaron los huevos dentro del tejido vegetal de los tallos, debajo de la inserción de los pecíolos y de las ramas secundarias. En el sitio elegido, la hembra rompió con sus mandíbulas el tejido externo de la planta y luego insertó el ovipositor depositando un único huevo. La hembra deposita el huevo paralelo a la superficie del tallo a una profundidad de 2 ó 3 mm. Finalizada la oviposición, en la planta se observaba un pequeño orificio circular (de 1 mm de diámetro aprox.). Cada oviposición duró entre 2 y 3 minutos. Las

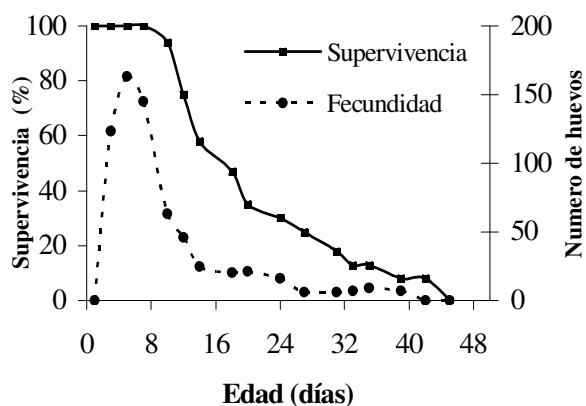


Fig. 2. Fecundidad y supervivencia por edades de *A. versicolor* (n= 36). La supervivencia está expresada en porcentaje y la fecundidad como número total de huevos para cada porcentaje de hembras que sobrevivían a cada edad.

marcas de oviposición no se pudieron utilizar para estimar el número de huevos debido a que algunas veces las hembras no depositaron huevos al introducir el ovipositor dentro de la planta. Ni en el laboratorio, ni en el campo, las hembras de *A. versicolor* depositaron huevos en plantas con un diámetro de tallo menor a los 5 mm.

Huevos. La longitud de los huevos en estado de turgencia, aproximadamente después de 2 horas de ser depositados, fue de $1,31 \pm 0,1$ mm de largo, con un ancho de $0,48 \pm 0,03$ mm. La mayoría de los huevos tuvieron una forma ovoidal ($n = 39$), pero algunos fueron cilíndricos ($n = 11$). El período de incubación promedio fue de 10 días $\pm 0,5$ (rango: 9-11); y la viabilidad estimada en laboratorio fue de un 88%.

Larvas. El estado larval de *A. versicolor* se completó después de siete estadios. El ancho de la gula mostró que las mediciones no fueron muy diferentes de los valores esperados calculados utilizando la proporción de Dyar. La Tabla 1 muestra los valores de ancho de gula, el rango, el valor esperado y la diferencia entre ambos valores expresado en porcentaje para cada estadio. La larva emergió del huevo a través de un orificio en el corion causando su desgarró con las espinas de su mandíbula. Luego de la eclosión, la larva comenzó el barrenado del tejido vegetal sin una dirección determinada, sin embargo, a los pocos días, el barrenado del tallo lo dirigió en dirección a la raíz. En el campo, múltiples larvas barrenando un único tallo de *X. cavanillesii* mostraron una marcada exclusión competitiva debido a canibalismo. Este comportamiento se desencadenaba cuando se encontraban 2 o más larvas, y fue observado tanto en larvas jóvenes como en larvas maduras. En plantas monocaulas (de un solo tallo) siempre se encontró una única larva al final de la temporada.

Tabla 1. Estadios larvales de *A. versicolor*. En la tabla se comparan los valores observados del ancho de la gula con los esperados, calculados a partir de la Ley de Dyar ($r = 1.27$).

Estadio	Moda	Rango	Esperado	Diferencia (%)
I	0.22	0.20-0.24	0.22	0.0
II	0.28	0.26-0.30	0.28	0.0
III	0.33	0.30-0.37	0.35	+6.1
IV	0.45	0.39-0.54	0.45	0.0
V	0.59	0.52-0.63	0.57	-3.4
VI	0.72	0.62-0.76	0.73	+2.8
VII	0.87	0.75-1.00	0.92	+6.1

Como se mencionó anteriormente, en el otoño las larvas de los últimos estadios realizaron el corte circular interno en la base del tallo que con el viento o el paso de los animales permitía el quiebre y caída de la parte aérea de la planta seca dejando un tocón formado por la raíz y una pequeña porción del tallo. La parte visible de los tocones (la porción del tallo por encima del nivel del suelo) midió $3,5 \pm 1,5$ cm ($n=114$ plantas). Dentro del tocón se encontraba la larva, que estaba aislada del exterior por un tapón hecho de fibras del mismo tallo. Las larvas pasaron el invierno en una diapausa obligada dentro de los tocones.

No está claro cual es el valor adaptativo del comportamiento del corte circular del tallo que provoca la caída de la parte aérea de la planta. Observaciones de campo sugieren que las larvas podrían usar este comportamiento para evitar predadores. Durante el invierno, se observó que una gran proporción de los tallos secos de las plantas de *X. cavanillesii* (no atacadas por *A. versicolor*) se quebraban (a diferentes alturas). También se observó que en

aquellas plantas donde se quebraba el tallo y la larva aun no había colocado el tapón de viruta que sellaba la salida al exterior, rápidamente era atacada por hormigas. El corte interno del tallo y la formación del tocón serían un forma controlada de cortar el tallo. Algo que irremediabilmente sucede en forma espontánea y que como consecuencia expondría las larvas a los predadores, también podría servir para evitar el ataque de otra larva de *A. versicolor* que coexista en la planta.

Pupas: La pupación se produjo dentro de los tocones desde mediados de septiembre hasta mediados de diciembre. El estado pupa tuvo una duración de $23,1 \pm 2,2$ a 20°C ; $13,3 \pm 2,0$ a 25°C y $8,7 \pm 1,1$ a 30°C . La temperatura umbral de desarrollo pupal fue de $11,7^{\circ}\text{C}$, la constante K presentó un valor de 154 días-
 grados. La curva de regresión utilizada para estimar la temperatura umbral de desarrollo se muestra en la Fig. 3.

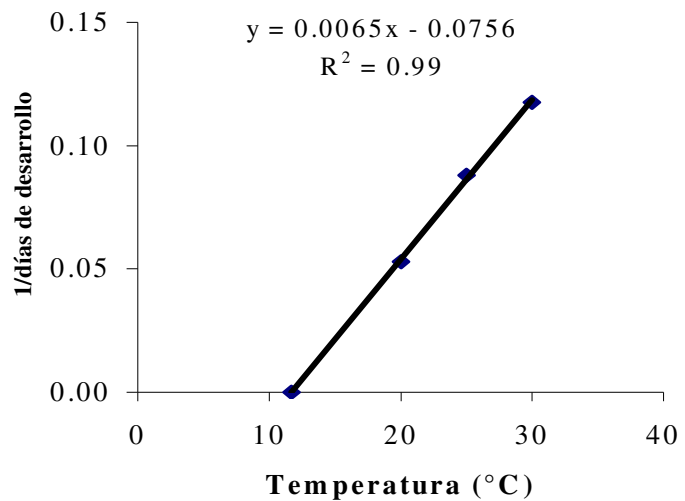


Fig. 3. Requerimientos térmicos de *A.versicolor* para completar el estado pupa. La temperatura umbral de desarrollo fue de 11.7°C ($K= 154$ días/grados).

Parasitoidismo. En el sitio del muestreo estacional, se encontraron larvas de *A. versicolor* parasitadas por *Nealiolus* sp. (Hymenoptera: Braconidae), *Agonocryptus* sp.(Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Bracon* sp.(Hymenoptera Braconidae).

Tabla 2. Ocurrencia y abundancia de parasitoides de *A. versicolor* en Buenos Aires, Argentina.

Parasitoides	Parasitoides emergidos n (%)	
	1987/88 ^{a/}	1988/89 ^{b/}
<i>Nealiolus</i> sp.	40 (18)	162 (61.5)
<i>Agonocryptus</i> sp.	5 (2)	12 (4.5)
<i>Bracon</i> sp.	0 (0)	11 (4.2)

^{a/} En 1987-88, el 23 % de 1.000 plantas de *X. cavanillesii*, estaban infestadas con *A. versicolor*, 213 larvas fueron examinadas por parasitoides.

^{b/} En 1988-89, el 59% de 1.800 plantas *X. s. cavanillesii*, estaban infestadas con *A. versicolor*, 264 larvas fueron examinadas por parasitoides..

Entre 1987 y 1988 y entre 1988 y 1989, 40 (18 %) y 162 (61,5 %) de las larvas de *A. versicolor* fueron parasitadas por *Nealiolus* sp. (Tabla 2). El parasitismo por *Bracon* sp. y *Agonocryptus* sp. fue menor al 5 % en las dos estaciones que se realizaron muestreo. Los adultos de *Bracon* sp. emergieron desde mediados de marzo hasta principios de abril, cuando las plantas de *X. cavanillesii* comenzaban a secarse. Por su parte, los adultos de *Agonocryptus* sp. emergieron desde mediados de noviembre hasta finales de diciembre.

En el laboratorio, *Nealiolus* sp. utilizó $5,0 \pm 2,2$ días (n = 10) para alcanzar el estado pupa desde que dejaba a su hospedador como larva. A la pupa le tomó 15 días (rango: 11-21) para llegar a adulto a 30°C (n = 36). Si bien las larvas de *A. versicolor* fueron parasitadas durante los primeros estadios, los parasitoides emergieron de larvas invernantes (VII estadio).

Distribución Geográfica. En Argentina, *A. versicolor* fue encontrado desde el norte del país, en la provincia de Salta (23° S), hasta la provincia de Río Negro (40° S) (Fig. 4). Se lo encontró en todas las provincias al norte del paralelo 40, con la excepción de Jujuy y San Juan,

donde se cree que está presente pero aun no fue colectado. Si bien el esfuerzo de colección no fue el mismo para todas las regiones, *A. versicolor* fue más abundante en el este de su distribución en las provincias de Formosa, Corrientes, Entre Ríos y Buenos Aires, posiblemente relacionado a la abundancia de sus plantas hospedadoras *X. cavanillesii* y *Pluchea sagittalis*. Desde el punto de vista fitogeográfico, *A. versicolor* fue colectado en las principales regiones:

Yungas, selva Paranaense Chaco, Monte, Espinal y Pampeana con excepción de la Meseta Patagónica.

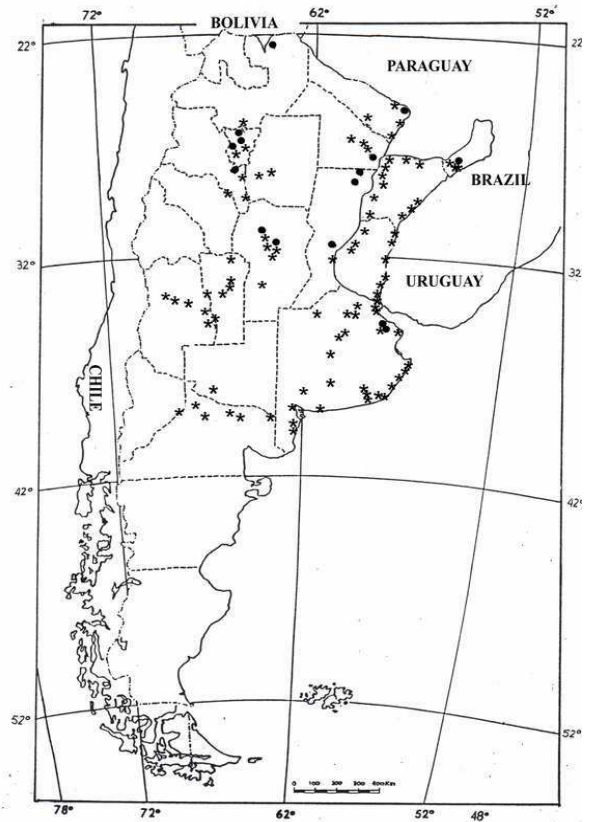


Fig. 4. Distribución de *A. versicolor* en Argentina realizada con datos de colecciones de campo (*), y de museo (•).

Resistencia de Larvas Invernantes al Frío y a la Inmersión. La supervivencia de las larvas no fue afectada por exposiciones a temperaturas de 4° y 0°C por intervalos de tiempo de hasta 13 días (Tabla 3). Tampoco la supervivencia fue afectada en aquellas larvas expuestas a temperaturas de -4°C por 7 días, o a -8°C por 24 horas. A temperaturas de -8° C, la supervivencia disminuyó con incrementos del tiempo de exposición: que pasó de un 100% de supervivencia en exposiciones de un 1 día, a un 37,5 % de supervivencia después de 13 días. La supervivencia fue severamente afectada en aquellas larvas expuestas a temperaturas de -14°C. Solo un 25 % de las larvas sobrevivieron a una exposición de 24 horas, y ninguna logró

vivir luego de 3 o más días a dicha temperatura (Tabla 3).

Tabla 3. Supervivencia de las larvas invernantes de *A. versicolor* a cinco temperaturas.

Exposición (días)	Larvas (%) que sobrevivieron a cada temperatura ^{a/}				
	+4 °C	0 °C	-4 °C	-8 °C	-14 °C
1	100.0	100.0	100.0	100.0	25.0
3	100.0	100.0	100.0	87.5	0.0
7	100.0	87.5	100.0	50.0	0.0
10	100.0	100.0	87.5	62.5	-
13	100.0	100.0	75.0	37.5	-

^{a/} Ocho larvas por cada tratamiento

La supervivencia de las larvas no fue afectada después de ser sumergidas por 20 días en los dos tratamientos, larvas removidas de los tocones, o dentro de ellos (Tabla 4).

Tabla 4. Supervivencia de las larvas invernantes de *Apagomerella versicolor* bajo seis regímenes de inmersión.

inmersión (días)	Nº de larvas supervivientes ^{a/}	
	En raíces	En frascos de vidrio
3	9	10
5	10	10
7	9	10
10	9	8
15	10	10
20	10	10

^{a/} Diez larvas por cada tratamiento

Los resultados obtenidos en ambos experimentos fueron muy similares. Se puede concluir que las larvas del último estadio de *A. versicolor* están pre-adaptadas a resistir la

inmersión. Sin embargo, inundaciones prolongadas al principio de la temporada provocaron una mortalidad importante en larvas de los primeros estadios.

No se determinó si la mortalidad de las larvas se produjo por falta de adaptación a la inmersión, o por la muerte de la planta hospedadora que indefectiblemente se producía. Esto se observó durante el comienzo de los veranos de 1988 y 1989 donde ocurrieron inundaciones por períodos prolongados a orillas del Río Luján. Al bajar las aguas todas las plantas de *X. cavanillesii* estaban muertas al igual que las larvas.

Diapausa. Los resultados obtenidos fueron incompletos porque de las 259 larvas iniciales, menos del 10 % alcanzaron el estado de pupa. Un patógeno infectó más del 60% de las larvas y el parasitoide *Nealiolus* sp. emergió del 30% de las larvas. Sin embargo, los resultados mostraron que las larvas mantenidas entre 0 y 12°C por un lapso de al menos 4 días, y luego expuestas a 30°C empuparon en $5,3 \pm 1,4$ semanas ($n = 13$). Las larvas utilizadas como control y aquellas expuestas a bajas temperaturas por 1-2 días tardaron un tiempo significativamente mayor en alcanzar el estado de pupa, $8,3 \pm 0,8$ semanas ($n = 7$) ($F = 27,7$; $gl = 1, 2$; $P < 0,05$).

Estimación del Daño en el Laboratorio.

Aproximadamente un 50% de las plantas de los tratamientos de 45 y 75 días de edad (19 plantas en cada tratamiento) fueron exitosamente atacadas por *A. versicolor*, a pesar de que todas las plantas de 45 y 75 días mostraron marcas de oviposición. Las hembras de *A. versicolor* no aceptaron oviponer en las plantas de 105 días de edad, aun cuando el tiempo de exposición de las hembras se elevó a 96 horas. Por esta razón, el grupo de plantas expuestas a

los 105 días no fue incluido en el análisis estadístico.

Tabla 5. Efecto del ataque de *A. versicolor* sobre la producción de frutos y el diámetro y altura del tallo de plantas de *X. cavanillesii* infestadas a los 45 y 75 días de edad. En la tabla (a) no se discriminan los tratamientos por edad, en la tabla (b) los resultados están discriminados por edades. Medias seguidas de letras distintas difieren significativamente (prueba DMS), $\alpha = 0.05$.

a)

Tratamiento	Rep.	Frutos por planta Media \pm DS	Diámetro (mm) Media \pm DS	Altura (cm) Media \pm DS
Control	40	74 \pm 63a	14 \pm 4a	217 \pm 50a
45 + 75 días	38	41 \pm 48b	13 \pm 3a	206 \pm 61a

b)

Tratamiento	Rep.	Frutos por planta Media \pm DS	Diámetro (mm) Media \pm DS	Altura (cm) Media \pm DS
Control	40	74 \pm 63 a	14 \pm 4a	217 \pm 50a
45 días	19	25 \pm 19 b	14 \pm 3a	209 \pm 54a
75 días	19	57 \pm 64 ab	13 \pm 4a	203 \pm 69a

Las plantas infestadas (45 +75 días), sin discriminar por edad en el momento de la infestación, produjeron significativamente menos abrojos (41 \pm 48 abrojos por planta, n = 38) que las plantas control (74 \pm 63 abrojos por planta, n = 40) ($F = 7,14$; $gl = 1,77$; $P < 0,05$) (Tabla 5a).

El análisis de la producción de abrojos entre las plantas discriminadas según la edad a la que fueron infestadas y el control mostró diferencias significativas (Tabla 5b). Las plantas infestadas a los 45 días de edad (25 \pm 19 abrojos) produjeron significativamente menos abrojos que la media del grupo control, siendo la reducción de un 66 %. Las plantas infestadas a los 75 días produjeron 57 \pm 64 (n = 19) abrojos por planta, lo que representa una

reducción del 23 % respecto del control, sin embargo, esta diferencia no fue significativa. Al final de la prueba, no se hallaron diferencias significativas entre los diámetros de los tallos ($F = 0,68$; $gl = 2,75$; $p = 0,51$), ni entre las alturas de las plantas ($F = 0,47$; $gl = 2,75$; $p = 0,63$) de los tratamientos 45 y 75 días y el control. Las medias de las longitudes del daño de los tallos producido por el barrenado de las larvas de *A. versicolor* fueron significativamente diferentes ($t = -2,71$; $p = 0,01$), en las plantas expuestas a los 45 días ($42,94 \pm 20,31$ cm) y las plantas expuestas a los 75 días ($69,23 \pm 34,45$ cm). Sin embargo, no se encontró correlación entre la producción de abrojos y la longitud del daño en ninguno de los dos tratamientos, 45 y 75 días (Tabla 5b).

Estudios de Especificidad

Pruebas de No Elección. Las hembras de *A. versicolor* fueron capaces de oviponer y las larvas emergidas de dichos huevos completar su desarrollo normal sobre *Xanthium cavanillesii*, *X. spinosum*, *X. strumarium*, *Ambrosia tenuifolia*, *A. scabra* (Tribu Heliantheae, Subtribu Ambrosinae) y en *Pluchea sagittalis* Cabrera y *P. absinthioides* (DC) (Tribu Plucheeae) de las 52 especies probadas (Tabla 6). El mayor porcentaje de plantas atacadas se obtuvo sobre *P. sagittalis* (100%), en segundo lugar estuvieron *X. cavanillesii* y *X. spinosum* (90%), luego *X. strumarium* (80%), *A. scabra*, y *A. tenuifolia* (40%) y finalmente *P. absinthioides* (20%).

Fuera del protocolo de la prueba de no elección emergió un único adulto de *A. versicolor* de una planta de girasol (*Helianthus annuus*). Este espécimen fue obtenido en condiciones especiales. De las 60 plantas de *H. annuus* expuestas a hembras de *A. versicolor*, 2 plantas presentaron daño en el tallo por el barrenado de larvas de cerambícidos. Al momento

de la disección de las plantas de girasol, estas habían fructificado y estaban secas. En una de las plantas la larva estaba muerta mientras que en la otra la larva estaba en un estadio de desarrollo larval muy temprano. Para verificar la identidad de la larva se la transfirió a una segunda planta de *H. annuus* donde completo su desarrollo y emergió un macho subnormal de aproximadamente la mitad del tamaño de un adulto promedio. Intentos posteriores (fuera de estas pruebas) para obtener más plantas de *H. annuus* atacadas por *A. versicolor* fueron negativos.

Tabla 6. Lista de plantas usadas y el número de adultos de *A. versicolor* emergidos en la prueba de no elección en el laboratorio.

Plantas estudiadas	Número de repeticiones	Plantas atacadas	Adultos emergidos
Tribu Vernoniaeae			
1- <i>Vernonia fulva</i> Grieseb	5	0	0
Tribu Eupatorieae			
2- <i>Ageratum houstonianum</i> P. Mill.	5	0	0
3- <i>Acanthostyles buniifolius</i> (H. & A.) R.M. King & H. Rob.	5	0	0
Tribu Astereae			
4- <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	5	0	0
5- <i>Baccharis</i> sp	5	0	0
6- <i>Solidago chilensis</i> Meyen	5	0	0
7- <i>Erigeron karvinskianus</i> DC.	5	0	0
8- <i>Bellis perennis</i> L.	5	0	0
9- <i>Feilicia</i> sp (L.) Voss.	5	0	0
10- <i>Aster novi-belgii</i> L.	5	0	0
Tribu Heliantheae			
Subtribu Ambrosiinae			
11- <i>Ambrosia scabra</i> Hook. et Arn.	5	2	2
12- <i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	5	2	1
13- <i>Parthenium argentatum</i> A. Gray.	5	0	0
14- <i>Xanthium</i> s. <i>cavanillesii</i> Schouw.	10	9	9
15- <i>Xanthium spinosum</i> L.	10	9	9
16- <i>Xanthium</i> s. <i>strumarium</i> L.	5	4	4
Subtribu Rubdeckinae			
17- <i>Rubdeckia speciosa</i> Wender.	5	0	0
Subtribu Zinniinae			
18- <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	5	0	0
Subtribu Verbesinae			
19- <i>Verbesina encelioides</i> (Cav.) Benth et Hook	5	0	0

Subtribu Helianthinae			
20- <i>Helianthus annuus</i> var <i>wild</i> L.	5	0	0
21- <i>Helianthus annuus</i> var <i>continental</i> L.	50	1	1
22- <i>Helianthus annuus</i> var <i>multiflor</i> L.	5	0	0
23- <i>Helianthus tuberosus</i>	10	0	0
Subtribu Coreopsidinae			
24- <i>Dahlia excelsa</i> Benth	5	0	0
25- <i>Coreopsis lanceolata</i> L.	5	0	0
26- <i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	5	0	0
Tribu Helenieae			
27- <i>Tagetes erecta</i> L.	5	0	0
28- <i>Gaillardia pulchella</i> var <i>picta</i> (Sweet) Gray.	5	0	0
Tribu Plucheae			
29- <i>Pluchea sagittalis</i> Cabr.	10	10	10
30- <i>Pluchea absinthioides</i> DC.	10	3	2
31- <i>Tessaria integrifolia</i> R. et P.	8	0	0
32- <i>Pterocaulon polystachyum</i> DC.	10	0	0
33- <i>Pterocaulon</i> sp.	5	0	0
Tribu Gnaphalieae			
34- <i>Achyrocline saturoides</i> (Lam) DC.	5	0	0
35- <i>Gamochaeta</i> sp.	5	0	0
36- <i>Helichrysum</i> sp.	5	0	0
Tribu Anthemideae			
37- <i>Santolina chamaecyparissus</i> L.	5	0	0
38- <i>Artemisia annua</i> L.	5	0	0
39- <i>Achillea millefolium</i> L.	5	0	0
40- <i>Chrysantemun</i> sp.	5	0	0
Tribu Senecioneae			
41- <i>Senecio mikanooides</i> Otto.	5	0	0
42- <i>Gynura sarmentosa</i> DC.	5	0	0
Tribu Calenduleae			
43- <i>Dimorphoteca hybrida</i> DC.	5	0	0
44- <i>Calendula officinalis</i> L.	5	0	0
Tribu Arctotideae			
45- <i>Gazania x splendens</i> Hort.	5	0	0
Tribu Cardueae			
46- <i>Centaurea dubia</i> L.	5	0	0
47- <i>Centaurea cyanus</i> L.	5	0	0
48- <i>Cynara cardunculus</i> L.	5	0	0
49- <i>Carthamus tinctorius</i> L.	5	0	0
Tribu Mutisieae			
50- <i>Gerbera jamesonii</i> Bolus.	5	0	0
Tribu Lactuceae			
51- <i>Cichorium intybus</i> L.	5	0	0
52- <i>Lactuca sativa</i> L.	5	0	0

Plantas Hospedadoras en el Campo: En el campo se revisaron cerca de 17.000 plantas de 58 especies de Asteraceae. La Tabla 7 incluye el número de especímenes de cada especie de planta revisada, el número de sitios muestreados y los sitios donde se encontró *A. versicolor*.

Adultos de *A. versicolor* emergieron de larvas colectadas en *X. cavanillesii*, *X. spinosum*, *X. strumarium*, *A. tenuifolia*, *A. scabra* (tribu Heliantheae: subtribu Ambrosinae) y *Pluchea sagittalis* y *P. absinthioides* (tribu Plucheeae). Se obtuvieron larvas en el 44.3% de 1169 plantas revisadas de *P. sagittalis*; en el 17.0% de 4759 plantas revisadas de *X. cavanillesii*; en el 15.2% de 565 plantas revisadas de *X. strumarium*; en el 10.9% de 350 plantas de *A. scabra*; en el 7.8% de 890 plantas revisadas de *X. spinosum*; en el 6.7% de 655 plantas de *P. absinthioides* y en el 6.0% de 1570 plantas de *A. tenuifolia*.

En este estudio se encontró que *A. versicolor* presentaba un patrón geográfico de utilización de sus plantas hospedadoras. *Apogomerella versicolor* fue colectado como larva exclusivamente en plantas de *P. sagittalis* al norte del paralelo de los 28° a pesar que todos los otras plantas hospedadoras, *X. cavanillesii*, *X. spinosum*, *X. strumarium*, *A. tenuifolia*, *A. scabra* y *P. absinthioides*, estaban presentes en el área. Al sur del paralelo de los 28°, *A. versicolor* fue colectado como larva en todas sus plantas hospedadoras

De las restantes 45 especies de plantas revisadas en el campo, emergieron 11 especies de Cerambycidae. *Hippopsis pertusa* Galileo & Martins en *Bidens subalternans* DC y *Conyza* sp.; *Hippopsis solangeae* Carvalho en *X. strumarium*; *Hippopsis* spp (grupo de *H. lemniscatta*) en *X. strumarium*, *X. cavanillesii*, *Parthenium hysterophorus* L., *Ambrosia elatior*, *Conyza* sp., *P. sagittalis* y *Bidens subalternans* DC; *Neodillonia albisparsa* Germar en *P. absinthioides*, *Grindelia buphtalmoides* DC y *B. dracunculifolia* DC; *Prionapterus staphylinus* Guérin

Ménéville en *Flourensia oolepis* Blake; *Calocomus morosus* White en *F. oolepis* y posiblemente en *F. riparia*; *Megacyllene mellyi* (Chevrolat) en *Baccharis salicifolia* Pers.; *Megacyllene unicolor* Fuchs en *B. dracunculifolia*; *Adesmus nigromaculatus* (Klug) en *Senecio* sp., *Conyza* sp. *Eupatorium hecathantum* Bak., *Solidago chilensis* Meyen, X. *spinosum*, *Ambrosia scabra*, *P. sagittalis* y *Aster* sp.; *Recchia hirticornis* (Klug) en *A. scabra* y *Eupatorium* sp.; *Estola* sp. 1 en *X. cavanillesii*; *Estola* sp. 2 en *Wedelia subvaginata* Brown.

Tabla 7. Lista de Asteraceae examinadas en el campo en busca de larvas de *A. versicolor*.

	Sitios revisados	Sitios con <i>A. versicolor</i> (%)	Plantas revisadas	Adultos emerg. (%)
Tribu Eupatorieae				
1. <i>Eupatorium hecathantum</i> Bak	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
2. <i>Eupatorium inulaefolium</i> Humboldt, Bonpland et Kunth	2	0 (0.0)	85	0 (0.0)
3. <i>Eupatorium</i> sp.	3	0 (0.0)	105	0 (0.0)
Tribu Astereae				
4. <i>Baccharis spartioides</i> Remy	1	0 (0.0)	50	0 (0.0)
5. <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	5	0 (0.0)	200	0 (0.0)
6. <i>Baccharis</i> sp	1	0 (0.0)	50	0 (0.0)
7. <i>Baccharis salicifolia</i> Pers.	4	0 (0.0)	70	0 (0.0)
8. <i>Baccharis spicata</i> Baill.	2	0 (0.0)	100	0 (0.0)
9. <i>Baccharis darwinii</i> Hook. & Arn	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
10. <i>Solidago chilensis</i> Meyen	8	0 (0.0)	495	0 (0.0)
11. <i>Grindelia buphtalmoides</i> DC.	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
12. <i>Grindelia</i> sp.	1	0 (0.0)	20	0 (0.0)
13. <i>Grindelia pulchella</i> Dun.	5	0 (0.0)	250	0 (0.0)
14. <i>Conyza</i> sp.	10	0 (0.0)	270	0 (0.0)
15. <i>Gutierrezia solbrigii</i> Cabrera	2	0 (0.0)	450	0 (0.0)
16. <i>Aster</i> sp	5	0 (0.0)	175	0 (0.0)
17. <i>Aster squamatus</i> Hieron	4	0 (0.0)	205	0 (0.0)
Tribu Heliantheae				
Subtribu Ambrosiinae				
18. <i>Ambrosia scabra</i> Hook. et Arn.	2	2 (100.0)	350	38 (10.9)
19. <i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	25	9 (36.0)	1570	94 (6.0)
20. <i>Ambrosia elatior</i> L.	2	0 (0.0)	60	0 (0.0)
21. <i>Parthenium hysterophorus</i> L.	8	0 (0.0)	290	0 (0.0)
22. <i>Xanthium s.cavanillesii</i> Schouw.	70	44 (62.9)	4759	809 (17.0)
23. <i>Xanthium s. strumarium</i> L.	7	5 (71.4)	565	86 (15.2)
24. <i>Xanthium spinosum</i> L.	25	10 (40.0)	890	69 (7.8)
Subtribu Zinniinae				

25. <i>Zinnia peruviana</i> L.	2	0 (0.0)	70	0 (0.0)
Subtribu Verbesinae				
26. <i>Verbesina australis</i> Bak.	2	0 (0.0)	80	0 (0.0)
27. <i>Verbesina</i> sp.	4	0 (0.0)	240	0 (0.0)
28. <i>Verbesina encelioides</i> (Cav.) Benth et Hook	8	0 (0.0)	170	0 (0.0)
Subtribu Ecliptinae				
30. <i>Flourensia campestris</i> Griseb	1	0 (0.0)	55	0 (0.0)
31. <i>Flourensia niederlinii</i> Blake	1	0 (0.0)	60	0 (0.0)
32. <i>Flourensia hirta</i> Blake	4	0 (0.0)	148	0 (0.0)
33. <i>Flourensia tortuosa</i> Griseb	4	0 (0.0)	141	0 (0.0)
34. <i>Flourensia blackeana</i> Dillon	4	0 (0.0)	85	0 (0.0)
35. <i>Flourensia riparia</i> Griseb	3	0 (0.0)	45	0 (0.0)
36. <i>Flourensia macroligulata</i> Seeligman	1	0 (0.0)	20	0 (0.0)
37. <i>Flourensia fiebrigii</i> Blake	1	0 (0.0)	15	0 (0.0)
38. <i>Flourensia suffrutescens</i> Blake	2	0 (0.0)	60	0 (0.0)
39. <i>Flourensia leptopoda</i> Blake	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
40.. <i>Aspilia</i> sp.	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
41. <i>Wedelia glauca</i> Hoffm.	3	0 (0.0)	130	0 (0.0)
42. <i>Wedelia subvaginata</i> Brown	1	0 (0.0)	40	0 (0.0)
Subtribu Helianthinae				
43. <i>Helianthus annuus</i> var <i>wild</i> L.	4	0 (0.0)	100	0 (0.0)
44. <i>Helianthus tuberosus</i> L.	3	0 (0.0)	120	0 (0.0)
45. <i>Helianthus petiolaris</i> Nuttall	2	0 (0.0)	100	0 (0.0)
Subtribu Coreopsidinae				
46. <i>Bidens subalternans</i> DC	3	0 (0.0)	70	0 (0.0)
Subtribu Gaillardinae				
47. <i>Hymenoxis robusta</i> Parker	4	0 (0.0)	330	0 (0.0)
48. <i>Gaillardia pulchella</i> var <i>picta</i> (Sweet) Gray.	5	0 (0.0)	98	0 (0.0)
Tribu Gnaphalieae				
49. <i>Gamochaeta</i> sp.	2	0 (0.0)	70	0 (0.0)
51. <i>Achyrocline saturoides</i> DC.	4	0 (0.0)	190	0 (0.0)
Tribu Plucheeae				
50. <i>Tessaria integrifolia</i> R. et P.	5	0 (0.0)	310	0 (0.0)
51. <i>Pluchea sagittalis</i> Cabr.	44	44 (100.0)	1,169	518 (44.3)
52. <i>Pluchea absinthioides</i> DC.	7	3 (42.9)	655	44 (6.7)
53. <i>Pterocaulon polystachyum</i> De Candolle	3	0 (0.0)	175	0 (0.0)
54. <i>Pterocaulon lorentzii</i> or near Malme	4	0 (0.0)	325	0 (0.0)
55. <i>Pterocaulon</i> sp.	5	0 (0.0)	430	0 (0.0)
Tribu Senecioneae				
56. <i>Senecio goldsacki</i> Phil.	2	0 (0.0)	160	0 (0.0)
Tribu Heleniaeeae				
57. <i>Tagetes minuta</i> L.	2	0 (0.0)	90	0 (0.0)
TOTAL	343	117 (34.1)	17,130	1,096 (6.4)

DISCUSIÓN

Bionomía

Las especies de cerambícidos que atacan tejidos de plantas vivas son escasas (Linsley 1959). La mayoría de los ejemplos que se conocen fueron estudiados como agentes de control biológico de malezas (Di Iorio et al. 1998), como el caso de *A. versicolor*. Hasta el presente, además de *A. versicolor*, se han estudiado otras dos especies de cerambícidos para el control de *X. strumarium*: *Mecas saturnina* Le Conte, nativo de Estados Unidos, y *Nupserha vexator* Pasc., nativo de India, ambos introducidos en Australia. La biología de estos dos cerambícidos fue estudiada por Stride & Straatman (1963) y todas las comparaciones realizadas con *A. versicolor* se hicieron sobre la base de ese trabajo.

Si bien las tres especies tienen en común algunos elementos de su ciclo de vida, las biologías de *M. saturnina* y de *A. versicolor* son las más similares diferenciándose por el comportamiento de oviposición de las hembras. A su vez, la biología de *N. vexator* se diferencia de los otros dos cerambícidos por el comportamiento alimentario de la larva, su movimiento dentro de la planta, y por el lugar de pupación.

Los adultos de *A. versicolor*, *M. saturnina* y *N. vexator* emergen en primavera, las hembras oviponen un único huevo dentro del tejido vegetal en cada puesta, la larva pasa por 7 estadios para alcanzar el estado pupa, se alimenta barrenando el tallo de la planta hospedadora durante varios meses y luego entra en una diapausa obligada para pasar la época desfavorable. La pupa tiene una duración muy corta, menos de 13 días a 25°C aproximadamente. La pupación de *A. versicolor* y *M. saturnina* se produce dentro de la raíz, en un tocón formado por la larva, mientras que *N. vexator* lo realiza fuera de la planta, en el suelo cerca de las raíces. La larva de *N. vexator* produce orificios en la raíz de la planta que lo hospeda, sale de

ésta y produce túneles en dirección oblicua y en profundidad, en los extremos terminales de estos túneles la larva teje un capullo y empupa. El comportamiento de empupar dentro de la planta es el más común entre los cerambícidos, y el comportamiento de la larva de cortar internamente el tallo para producir la caída de la parte aérea de la planta no sólo ocurre en *A. versicolor* y *M. saturnina* sino que también se registró para *Phytoecia coerulescens* (Scopoli) (Kirk & Wapshere 1979) y *Zeale nigromaculata* Moné (datos no publicados G. A. L.). Con respecto al comportamiento de oviposición, ni las hembras de *N. vexator* ni las de *A. versicolor* producen un daño significativo a las plantas de *Xanthium*, estas dos especies rompen la cutícula de la planta con sus mandíbulas produciendo un corte de alrededor de 1 mm por donde insertan el ovipositor. Sin embargo, las hembras de *M. saturnina* usualmente producen 2 cortes circulares en el tallo, uno por arriba y otro por debajo del sitio de oviposición. Las consecuencias del daño del tallo que produce la hembra de *M. saturnina* durante la oviposición dependen del tamaño de la planta. En plantas jóvenes produce su muerte, con la consiguiente muerte del huevo; en plantas de mayor porte el tallo permanece verde hasta el corte superior, secándose la parte de la planta por arriba de éste. Como respuesta la planta produce profusamente brotes axilares.

Stride & Straatman (1963) también estudiaron la longevidad de los adultos y la fecundidad de las hembras de *N. vexator* y de *M. saturnina*. En relación a estos insectos, *A. versicolor* es el único que no tiene longevidad diferencial entre los sexos; y es además el de menor longevidad 18 días, con respecto a *N. vexator* (42 días para la ♀ y 15 para el ♂) y *M. saturnina* (63 días para la ♀ y 42 para el ♂). También la fecundidad de *A. versicolor* fue la menor de los tres, 38 huevos contra los 106 de *N. vexator* y los 77 de *M. saturnina*.

La diáspausa en las 3 especies de cerambícidos tiene características muy parecidas: 1) es

obligatoria, 2) se produce en los últimos estadios larvales, 3) permite pasar a los insectos la época desfavorable donde no hay plantas hospedadoras, 4) las larvas en diapausa son activas y tienen capacidad de defenderse con sus mandíbulas (defensa intra e interespecífica), pero no se alimentan. Los tres cerambícidos tienen diferentes requerimientos ambientales para salir de la diapausa, los cuales están directamente relacionados a las condiciones ambientales y climáticas donde se desarrolla cada especie.

El daño que puedan causar los adultos a las plantas de abrojo es mínimo ya que las tres especies de cerambícidos se alimentan de igual forma, en las nervaduras de la cara inferior de las hojas en los pecíolos y a veces en la superficie de la hoja pero sin llegar a producir perforaciones en la lámina.

No hay información sobre la respuesta de *M. saturnina* y de *N. vexator* a la inmersión y bajas temperaturas así como sobre el complejo de parasitoides que los ataca.

Estimación del Daño en el Laboratorio

La eficacia de un agente de control biológico en plantas anuales con reproducción sexual únicamente, como en el caso de *X. strumarium*, está directamente relacionada a la capacidad del agente de control de reducir la producción de semillas (Wasphere 1974a) o de producir la muerte de la planta antes que produzca frutos. Si bien *A. versicolor* puede ocasionar la muerte de las plantas de abrojo cuando las ataca a edades muy tempranas, lo más común es que las plantas sobrevivan a su ataque.

El daño de las larvas de *A. versicolor* redujo significativamente la producción de abrojos en las plantas atacadas a edades de 45 y 75 días de edad con respecto a las plantas control. Cuando se analizó el efecto de las larvas en cada categoría de edad por separado, si

bien en ambos tratamientos, 45 y 75 días, se encontró una reducción en la producción de abrojos, sólo las plantas infestadas a los 45 días mostraron una reducción significativa en la producción de frutos. Es probable que con un número mayor de repeticiones las plantas infestadas a los 75 días también mostrarán diferencias con las plantas control.

Los resultados de esta prueba indican que la producción de abrojos está en relación directa a la edad en que las plantas fueron infestadas, y no con el daño observable producido por las larvas, medido como la longitud del barrenado en el tallo. Las plantas infestadas a los 75 días presentaron una longitud del daño significativamente mayor que las plantas infestadas a edades más tempranas, pero produjeron más abrojos que éstas. La longitud del daño producido en el tallo y raíz no es un índice apropiado para estimar la reducción del número de abrojos que produce el insecto. Esto hace necesario discutir las preferencias de oviposición de *A. versicolor* por las plantas de *X. cavanillesii* según sus edades. En el laboratorio, el insecto depositó huevos en plantas con edades menores a los 105 días. En este estudio, ninguna de las 40 plantas de *X. cavanillesii* de 105 días de edad expuestas a las 80 hembras de *A. versicolor* fueron aceptadas para oviponer, posiblemente por la acumulación de tejido leñoso. En la misma prueba, las hembras atacaron en igual proporción plantas de 45 y 75 días de edad, 19 de 40 plantas expuestas al ataque, resultando en 47.5 % de efectividad en el ataque para plantas entre 45 y 75 días de edad. En el campo se observó que las hembras de *A. versicolor* atacan plantas cuyos tallos son mayores a los 5 mm de diámetro. En general, dicho diámetro se encuentra en plantas de más de 20 días de edad, sin embargo, las hembras siempre prefieren plantas con tallos de diámetro mayores y sólo atacan aquellas plantas cuando no hay disponibilidad de plantas con tallos más grandes. Posiblemente, la preferencia por tallos de diámetro mayores esté seleccionada positivamente debido a que como consecuencia del

barrenado de la larva, la mayoría de las plantas de tallos pequeños muere y junto con la planta también muere la larva. El estado general de la planta es otro factor que afecta la mortalidad de las plantas por el ataque de las larvas de *A. versicolor*, se observó que plantas poco vigorosas de 60 días de edad también murieron por el barrenado de las larvas. El momento en que muere una planta que contiene una larva de *A. versicolor* es crucial para la supervivencia de la larva, aquellas larvas que no alcanzan el 5^{to} estadio no pueden completar su desarrollo hasta el estado adulto y en consecuencia mueren con la planta.

Los valores de reducción de abrojos del 66% en plantas atacadas a los 45 días de edad y un 23% en plantas atacadas a los 75 días son resultados conservadores. El experimento se hizo con plantas fertilizadas, con abundante riego y suficientemente espaciadas, resultando plantas muy vigorosas poco comunes en la naturaleza. Además la producción de abrojos de las plantas mostró una altísima variabilidad que podría haber sido controlado en mayor grado con un mayor número de repeticiones.

Wapshere (1974a) cuantificó el daño producido por *Mecas saturnina* y *Nupserha vexator*, los dos cerambícidos barrenadores de tallos que fueron introducidos en Australia para el control biológico de *X. strumarium*. De acuerdo con sus resultados el efecto del ataque de los insectos depende de las condiciones de crecimiento de las plantas y de su densidad. El daño producido por estos insectos no fue significativo cuando las plantas infestadas crecían en muy buenas condiciones (llanura aluvial) y cuando la distancia entre las plantas fue de más de 23 cm, condiciones muy semejantes a las de la prueba con *A. versicolor*. La altura y el diámetro del tallo alcanzados por las plantas durante las pruebas con *A. versicolor* (Tabla 1), son inusuales para plantas de *X. cavanillesii*, lo que indica condiciones de crecimiento muy buenas.

En los alrededores de Buenos Aires la germinación de las semillas de *X. cavanillesii* se produce a principios de octubre, mientras que los primeros adultos de *A. versicolor* aparecen durante la segunda quincena de octubre, alcanzando la máxima densidad hacia finales de noviembre y principios de diciembre. En estas condiciones, la mayoría de las plantas de *X. cavanillesii* serían atacadas entre los 45 y 75 días de edad, sugiriendo que las larvas de *A. versicolor* podrían producir un daño significativo a esta maleza.

Estudios de Especificidad

Las pruebas de rango de plantas hospedadoras de laboratorio y la búsqueda e identificación de plantas hospedadoras en el campo mostraron que *A. versicolor* tiene 7 plantas hospedadoras distribuidas en los géneros *Xanthium* y *Ambrosia* dentro de la tribu, Helianthea, sub-tribu Ambrosiinae y *Pluchea* dentro de la tribu Plucheeae. El número de plantas hospedadoras conocidas para este cerambícido se amplió de 1 a 7 ya que al comenzar este estudio la única planta hospedadora conocida para *A. versicolor* era *X. cavanillesii* (Bosq 1943, Rosillo 1944).

Apogomerella versicolor mostró un comportamiento dicotómico con respecto a la filogenia de sus hospedadoras, las larvas completaron su desarrollo hasta adulto en miembros de las tribu Helianthea (subtribu Ambrosinae) y de la tribu Plucheeae. Los resultados en la búsqueda en el campo no sólo fueron consistentes con los resultados de las pruebas de no-elección de laboratorio sino que en ellos se identificaron dos de las 6 nuevas especies de plantas hospedadoras: *P. sagittalis* y *P. absinthioides*. Desde el punto de vista metodológico el hallazgo de estas nuevas hospedadoras en el campo es importante porque el método centrífugo de Wapshere (MCW), que es el método que todos los investigadores de control biológico usan

para confeccionar la lista de plantas para ser probadas en los estudios de laboratorio, debería haberlas incluido, cuando en los hechos no fue así. El MCW indica que al confeccionar la lista de plantas para ser estudiadas como potenciales hospedadoras del insecto se incluyan mayoritariamente las plantas mas cercanas a la maleza objeto del control biológico, en este caso incluir la mayor cantidad de los miembros disponibles de la subtribu Ambrosiinae, después comenzar a incluir miembros representativos de las otras subtribus de la tribu Heliantheae, a la que pertenece Ambrosiinae. Finalmente incluir miembros de las otras tribus. En consecuencia, las tribus más alejadas aportan menos especies a la lista que las más cercanas. De los estudios filogenéticos realizados con estudio de ADN de cloroplastos en la familia Asteracea, la tribu Plucheeae no esta estrechamente emparentada a la tribu Heliantheae como si lo están las tribus Coreopsideae, Tageteae o Eupatorieae (Jansen et al. 1991). Originalmente en los estudios de laboratorio se utilizaron 3 especies de la tribu Plucheeae: *Pterocaulon* sp., *Pterocaulon polystachyum* DC. y *Tessaria integrifolia* R. et P. Sobre ninguna de estas plantas las hembras de *A. versicolor* ovipusieron y dado que tampoco habían sido atacadas ninguna de las plantas dentro de las 7 subtribus de Helianthea estudiadas, se concluyó que *A. versicolor* estaba restringido en las pruebas de no elección en el laboratorio a la subtribu Ambrosiinae. El descubrimiento en el campo de nuevas plantas hospedadoras (*P. sagittalis* y *P. absinthioides*) reveló algunas inconsistencias del método centrífugo filogenético cuando selecciona plantas para las pruebas de especificidad en los casos de insectos con rango de plantas hospedadoras dicotómico en la filogenia. Esta falla en la selección de plantas podría generar efectos no deseados del agente de control biológico durante la fase de liberación si pruebas complementarias de campo no detectan la totalidad de las plantas hospedadoras del insecto. En este estudio quedó de manifiesto la importancia de los estudios de campo y la

importancia de los estudios de especificidad en el país de origen del control biológico. Otro resultado significativo en estos estudios fue el hallazgo de que *A. versicolor* presenta un patrón geográfico en la utilización de sus plantas hospedadoras que sugiere la presencia de razas geográficas o relacionadas a sus plantas hospedadoras. El cerambícido se lo coleccionó exclusivamente sobre *P. sagittalis* en el norte de Argentina, y sobre todas sus plantas hospedadoras en el centro y sur del país.

Se sabe que insectos que atacan al género *Xanthium*, también atacan a *Ambrosia* y/o a *Parthenium* y girasol. Hilgendorf y Goeden (1985) encontraron que el 77% de los insectos que atacaban *Xanthium* spp., también atacaban girasol, lo que hace a este cultivo especialmente crítico en el momento de estudiar la especificidad de un agente de control biológico para *Xanthium*. En las pruebas de no-elección en el laboratorio emergió un adulto de *A. versicolor* de una planta de *H. annus*, girasol. Sin embargo, este resultado que podría ser alarmante no lo es, ya que el macho obtenido tenía la mitad del tamaño de un macho normal y necesitó de 2 plantas de *H. annus* para completar su desarrollo, además necesitó el doble de tiempo para alcanzar el estadio adulto. Si a ello le sumamos que ninguna de las más de 60 plantas de *H. annus* que se expusieron al ataque de hembras de *A. versicolor* fueron atacadas, se llega a la conclusión que el girasol no es un substrato adecuado para oviponer ni para que la larva pueda desarrollar hasta el estado adulto. Además, el girasol es un cultivo tradicional en nuestro país y ocupa una gran extensión, *A. versicolor* no es conocido por ser una plaga de este cultivo y no hay registros de ataques ocasionales (Fonseca et al. 1979, Quintana & Abot 1987).

Para el control biológico de *Gutierrezia* spp. (Asteraceae) en EE.UU., el SABCL estudió en Argentina el barrenador de raíces *Carmanta haematica* (Ureta) (Lepidoptera:

Sesiidae) (Cordo, De Loach & Ferrer 1995), y el barrenador de tallos, *Heilipodus ventralis* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) (Cordo 1985). Durante los estudios de especificidad de las dos especies no se obtuvieron larvas de *A. versicolor* de 12.000 plantas de la familia Asteraceae (68 especies en 30 géneros en 286 localidades) que se revisaron en el campo. Dentro del estudio se incluyen algunas localidades en Chubut, Mendoza y Río Negro que están fuera del área de distribución de *A. versicolor*..

Por último, ninguno de los géneros atacados por *A. versicolor* incluye especies de interés económico, dentro de los géneros *Ambrosia*, y *Pluchea* hay especies consideradas malezas, donde algunas de ellas fueron especies objeto de control biológico, como *A. artemisiifolia*, *A. psilostachya* y *P. odorata* (Julien & Griffiths, 1998). Sin embargo, se tienen que evaluar los perjuicios ecológicos que podría ocasionar la liberación de *A. versicolor* sobre algunas de estas plantas. Para eso hay que estudiar el comportamiento de *A. versicolor* sobre las especies de esos 4 géneros en EE.UU. para poder detectar efectos no deseados sobre estas u otras especies nativas, tales como aquellas que pudieran ofrecer refugio y/o alimento para la fauna silvestre o para especies animales amenazadas o en peligro de extinción.

El hecho de que *A. versicolor* utilice especies de dos tribus de plantas alerta sobre la plasticidad genética en la utilización de plantas hospedadoras y genera la incertidumbre sobre el tipo de comportamiento que el insecto tenga sobre miembros de tribus o subtribus de Asteraceas no presentes en Argentina.

CAPITULO II: Expansión del Rango de Plantas Hospedadoras

INTRODUCCIÓN

Apogomerella versicolor exhibe una variación geográfica en el uso de sus plantas hospedadoras: en el norte de Argentina es monófago sobre *Pluchea sagittalis*, en el centro es generalista sobre siete especies pertenecientes a la familia Asteraceae, incluyendo *P. sagittalis*, y en el sur esta aparentemente especializado sobre *P. absinthioides*. Además, el insecto mostró ser univoltino y tener diapausa en Buenos Aires (35° LS) mientras que en algunas poblaciones del norte (25-27° LS) la diapausa estaba ausente y el cerambícido presentaba al menos dos generaciones. Las variaciones intraespecíficas encontradas en *A. versicolor* son adecuadas para explorar los posibles mecanismos en la adquisición de nuevas plantas hospedadoras por parte de este insecto y además ver como se relaciona esto con el proceso de generación de diversificación en los insectos fitófagos.

Los insectos fitófagos son un grupo con una gran diversidad, con estimaciones de 30 millones de especies (Erwin 1982), siendo aun mucho más diversos que los insectos no fitófagos (Mitter et al. 1988). Esta diferencia fue atribuida a la tendencia del grupo a la especialización sobre sus plantas hospedadoras. Los insectos fitófagos además, exhiben un grado de fidelidad evolutiva conocida como conservación taxonómica, ya que en general tienen una mayor tendencia a adquirir plantas hospedadoras dentro del linaje de plantas usadas por los insectos antecesores que a moverse hacia plantas de taxones más alejados (Janz et al. 2001, Futuyama et al. 1993). Explicar la tendencia hacia la especialización y la conservación taxonómica de los insectos fitófagos puede ayudar a elucidar los mecanismos involucrados en la generación de biodiversidad, un objetivo central en la biología evolutiva (Futuyama & Moreno 1988, Jaenike 1990).

La prevalencia de la especialización en los insectos herbívoros ha sido explicada por la hipótesis de “jack of all trades, master of none”, que podría ser traducida como “el que mucho abarca poco aprieta”. De acuerdo a esta hipótesis, la optimización de un insecto sobre una planta hospedadora si bien reduce la performance sobre otras (Robinson et al. 1996) le provee ciertas ventajas (Smith 1988, Craig *et al.* 1993, Groman & Pellmyr 2000) como el escape de enemigos naturales (predadores o parasitoides) (Bernays & Graham 1988, Crespi & Sandoval 2000), un mejor hábitat (Futuyma & Keese 1992) o la adaptación a defensas químicas de una planta o de un grupo de plantas en particular (Dethier 1954, Fraenkel 1959, Ehrlich & Raven 1964, Futuyma & Keese 1992).

Desde el punto de vista evolutivo, si la especialización sobre una planta hospedadora es la fuerza que genera nuevas especies de fitófagos, el proceso de diversificación debería finalizar cuando todas las especies alcancen el nivel máximo de especialización debido a la falta de “combustible”, es decir la falta de especies fitófagas generalistas (Janz et al. 2006) ya que se alcanzaría “un callejón sin salida” (Moran 1988, Kelley & Farrell 1998). Bajo este escenario, los clados de fitófagos muy especializados solo podrían diversificarse por coespeciación con las plantas hospedadoras, lo cual es un evento raro en insectos fitófagos de acuerdo a la evidencia registrada (Janz & Nylin 1998, Percy et al. 2004). Sin embargo, se ha demostrado que el rango de plantas hospedadoras de un taxón es dinámico a lo largo de su historia evolutiva y puede experimentar fases de expansión y contracción (Janz et al. 2001). Un proceso que produzca insectos generalistas puede ser el mecanismo que provea el “combustible” para que funcione el motor evolutivo nuevamente (Janz et al. 2006), y este proceso puede ser tan importante como el proceso de la especialización de los fitófagos en la generación de diversidad.

Algunas especies, como *A. versicolor*, exhiben variabilidad geográfica en su rango de

plantas hospedadoras, lo que puede representar un proceso evolutivo reciente (Singer et al. 1992, Bigger & Fox 1997, Thompson 1998). El estudio de la variación intraespecífica del rango de plantas hospedadoras puede proveer una clave sobre los mecanismos implicados en la diversificación de los insectos (Funk & Bernays 2001). El áfido *Uroleucon ambrosiae*, por ejemplo, es monófago sobre *Ambrosia trifida* L. (Asteraceae) en el este de su distribución, siendo esta su condición ancestral; y polífago sobre varias especies de Asteraceae en el oeste de América del Norte. El generalismo dentro de *U. ambrosiae* pudo haber evolucionado como una adaptación a la escasez y la impredecibilidad de su planta hospedadora preferida *A. trifida* en las zonas más áridas de la distribución del áfido (Funks & Bernays 2001). Sin embargo, como en la mayoría de los estudios de variaciones intraespecíficas del rango de plantas hospedadoras, no se pudo encontrar una correlación entre la variabilidad genética y la utilización de plantas hospedadoras (Jaenike 1990, Funks & Bernays 2001), pudiendo tratarse de una respuesta ecológica a la baja abundancia de su planta hospedadora preferida.

A partir del descubrimiento del patrón geográfico del uso de las plantas hospedadoras por parte de *A. versicolor* durante las pruebas de especificidad en el campo, se generaron una serie de interrogantes: 1) ¿la variación geográfica observada en el uso de plantas hospedadoras es una respuesta ecológica a la oferta de éstas o es el resultado de un proceso evolutivo?, si nos encontramos en el último caso, 2)¿qué mecanismos están involucrados en la expansión del rango de hospedadoras?, 3) ¿se encuentra *A. versicolor* en un proceso de diversificación generado por esta expansión del rango de hospedadoras? Para responder estas preguntas se combinaron estudios de oferta y uso de plantas hospedadoras en el campo con experimentos controlados sobre preferencia de oviposición de las hembras y pruebas de éxito en la cópula en relación al origen geográfico o de la planta hospedadora de los adultos junto a estudios de variabilidad genética. La hipótesis propuesta es que *A. versicolor* se encuentra en

un proceso de diversificación iniciado por la expansión en el rango de plantas hospedadoras seguida por un proceso de formación de razas (host race formation).

MATERIALES Y MÉTODOS

La mayoría de los estudios de laboratorio se realizaron en el USDA-ARS South American Biological Control Laboratory (SABCL), ubicado en Hurlingham, Buenos Aires, con excepción de los estudios genéticos que se realizaron en la Universidad de Buenos Aires. La mayoría de las pruebas que se hicieron para el estudio sobre la expansión del rango de plantas hospedadoras se hicieron entre el 2003 y el 2006.

Plantas Hospedadoras Estudiadas. Para este estudio se usaron 4 plantas hospedadoras: *Pluchea sagittalis*, *P. absinthioides*, *X. cavanillesii* y *Ambrosia tenuifolia*. La Tabla 8 detalla características sobre su taxonomía, hábitats, tipo de crecimiento, ciclo de vida, dimensiones y origen. Otras plantas hospedadoras conocidas para *A. versicolor* no fueron incluidas en este estudio debido a que: *Ambrosia scabra* y *X. strumarium* tienen una muy limitada distribución geográfica; y que *X. spinosum* tiene la mayor parte de su distribución fuera del rango de distribución de *A. versicolor*.

Para este estudio *A. tenuifolia* fue considerada sólo para algunas pruebas ya que a si bien tiene una amplia distribución en Argentina y las hembras de *A. versicolor* la utilizan para oviponer, la mayoría de las plantas de esta especie no pueden ser utilizadas por el insecto debido al pequeño diámetro del tallo (< a 5 mm) que no permite que las larvas puedan desarrollar. No se estimó la oferta de *A. tenuifolia* debido a que la mayoría de los parches encontrados tenían un número escaso de plantas (0-10) susceptibles al ataque del insecto. En la mayoría de las pruebas de laboratorio no se incluyó a adultos de *A. versicolor* emergidos de

esta planta debido al bajo número colectado.

Tabla 8. Características principales de las plantas hospedadoras de *A. versicolor*.

	<i>Pluchea sagittalis</i>	<i>Pluchea absinthioides</i>	<i>Xanthium cavanillesii</i>	<i>Ambrosia tenuifolia</i>
Tribu	Plucheeae	Plucheeae	Heliantheae	Heliantheae
Subtribu	--	--	Ambrosiinae	Ambrosiinae
Origen	Nativa	Nativa	Nativa	Nativa
Ciclo de Vida	Perenne	Perenne	Anual	Perenne
Altura	0.5-1.2 m	1.2-1.8 m	1-2 m	0.2-1 m
Tipo crecim.	Hierba	Sub-arbusto	Hierba	Hierba
Habitat	Lugares abiertos y húmedos con suelos arenoso-arcilloso. Riparia, común en banquinas.	Maleza. Suelos normales, salinos o arenosos. Bordes de canales de irrigación, común en banquinas	Maleza invasiva. Crece en costa de ríos y arroyos, común en banquinas y basurales.	Terrenos bajos, salinos y dunas y basurales. Común en banquinas.
Nombre común	Lucera	Brea	Abrojo grande	Altamisa

Estudios de Campo.

Área de Estudio. Se trabajó en la totalidad del área de distribución de *A. versicolor* en Argentina entre los 23° y los 40° LS. A partir de observaciones previas se definieron 3 zonas considerando el área de distribución de las plantas hospedadoras y el patrón de utilización de *A. versicolor*: **Zona 1**, área donde solo *Pluchea sagittalis* fue utilizada a pesar que todas las plantas hospedadoras estaban presentes (aprox. entre los 23° y los 27° S). **Zona 2**, área donde

todas las plantas hospedadoras estaban presentes y todas fueron utilizadas (centro y este de Argentina, aproximadamente entre los 27° y los 38° S). **Zona 3**, área donde tres plantas hospedadoras estaban presentes (*P. absinthioides*, *X. cavanillesii*, y *A. tenuifolia*) y *P. sagittalis* ausente. La única planta hospedadora utilizada por *A. versicolor* fue *P. absinthioides* (oeste y sur de Argentina entre los 31° y los 40°, limitando al este y al norte con la Zona 2).

Durante los muestreos del 2003 al 2005 no se detectaron poblaciones de *P. absinthioides* atacadas por *A. versicolor* en la zona 2, por lo que no pudieron ser incorporadas a los estudios de cópula ni a los estudios genéticos. Los estudios de las pruebas de preferencia de oviposición donde se utilizaron hembras emergidas de *P. absinthioides* de la Zona 2 se realizaron con material colectado en los viajes de los años 90.

Oferta de las Plantas Hospedadoras. Se estimó la oferta de las plantas hospedadoras como el número de poblaciones observadas cada 100 km recorridos. Se hicieron observaciones a lo largo de 17.000 km en los 7 viajes realizados (4 entre 1990 y 1994 y 3 viajes entre 2003 y 2005). Los resultados de la oferta de las distintas plantas hospedadoras fueron agrupados en bandas latitudinales de 1 grado. Para establecer la relación entre la oferta de las plantas hospedadoras de *A. versicolor* y la latitud se realizó una regresión lineal para cada una de ellas (SPSS 11.5).

Patrón de Utilización de *A. versicolor* de sus Plantas Hospedadoras. En cada una de las tres zonas, todos los parches encontrados durante la estimación de la oferta de las plantas hospedadoras fueron revisados en búsqueda de larvas de *A. versicolor*. En promedio se revisaron 100 plantas por parche. Parches formados por menos de 20 plantas no fueron considerados, siendo este el número mínimo de plantas revisadas. Todas las larvas de cerambícidos colectadas fueron criadas hasta adulto con el fin de poder identificarlas apropiadamente.

Estudios de Laboratorio.

Se realizaron pruebas de éxito en la cópula, preferencia de oviposición, y de secuenciación de ADN en adultos de *A. versicolor* provenientes de diferentes áreas geográficas y de diferentes plantas hospedadoras.

Prueba de Apareamiento Diferencial. Para determinar el macho más exitoso en el apareamiento entre individuos provenientes de las distintas áreas y plantas hospedadoras se usaron machos y hembras recién emergidos y sin cópulas previas. Los insectos provenientes de una determinada planta y área se marcaron con pintura látex en los élitros, se usó un patrón de color para cada grupo de insectos provenientes de igual área y planta. En un recipiente plástico de 350 ml, 80 % HR y temperatura ambiente se colocaron 2 machos vírgenes de la misma edad provenientes de diferentes zona y planta hospedadora junto a una hembra virgen. Se registró el macho que primero copuló con la hembra ofrecida.

El efecto del origen geográfico del macho en el éxito reproductivo se estudió usando las 3 combinaciones posibles: Zona 1 vs Zona 2 (n=42), Zona 1 vs Zona 3 (n= 20) y Zona 2 vs Zona 3 (n= 16). Para descartar un efecto de la hembra en la elección del macho, para cada combinación estudiada se utilizaron aproximadamente 50% de las hembras de cada zona, por ejemplo, en la combinación Zona 1 vs Zona 2, se hicieron 42 repeticiones donde se usaron 20 hembras de la Zona 1 y 22 de la Zona 2.

Para estudiar el efecto de la planta hospedadora se realizaron 3 combinaciones: machos provenientes de *P. sagittalis* versus machos provenientes de *X. cavanillesii* (n= 61), machos provenientes de *P. sagittalis* versus machos provenientes de *P. absinthioides* (n= 25) y machos provenientes de *X. cavanillesii* vs machos provenientes de *P. absinthioides* (n= 8). Los insectos no fueron reutilizados y los intentos fallidos de cópula no fueron registrados. A

los resultados obtenidos se les aplicó un Chi cuadrado para determinar si el origen geográfico o de la planta hospedadora del macho tenían efecto en éxito en la cópula.

Preferencia de Oviposición y Capacidad de Desarrollo de las Larvas. En este estudio a una hembra de *A. versicolor* se le ofrecieron, en una prueba de elección múltiple, las 4 plantas hospedadoras estudiadas donde la hembra tenía que decidir sobre que hospedadoras oviponía en el término de 24 hs. Para ello se hicieron copular insectos recién emergidos provenientes de la misma zona y planta hospedadora, obteniéndose hembras fecundadas de *P. sagittalis* de la Zona 1; hembras fecundadas de *X. cavanillesii*, *P. sagittalis*, *A. tenuifolia* y *P. absinthioides* de la Zona 2 y hembras fecundadas de *P. absinthioides* de la Zona 3. Cada hembra así obtenida fue introducida en una jaula de paredes de tul de 1 m de lado donde se ubicaron 4 plantas (en macetas): *P. sagittalis*, *X. cavanillesii*, *A. tenuifolia* y *P. absinthioides*. Al cabo de las 24 hs la hembra fue retirada y descartada y las plantas se etiquetaron y guardaron en una clausura para evitar posteriores infestaciones con adultos silvestres. Se hicieron en total 63 repeticiones, 12 con hembras provenientes de *P. sagittalis* de la Zona 1. Cuarenta y una repeticiones de la Zona 2 (13 con hembras provenientes de *P. sagittalis*, 15 con hembras provenientes de *X. cavanillesii*, 9 con hembras provenientes de *A. tenuifolia* y 4 con hembras provenientes de *P. absinthioides*). Y 8 repeticiones de la Zona 3, todas con hembras provenientes de *P. absinthioides*. Hacia finales del verano, momento en que las larvas alcanzaron los últimos estadios, las plantas se disecaron y se registraron las plantas atacadas por cada hembra.

Estudios Genéticos, Secuenciación de ADN. Se secuenciaron los ADN de adultos de *A. versicolor* provenientes de las 3 zonas (17 de la Zona 1, 50 de la Zona 2 y 11 de la Zona 3). Cinco poblaciones fueron usadas en la Zona 2 (Gualedguaychú, Colón, Paso de los Libres, Mar del Plata y Reta), una población de la Zona 3 (Río Colorado). Para la Zona 1 las muestras

fueran agregadas en 2 grupos (norte de Corrientes y Formosa) debido a la escasez de individuos en cada muestra.

El ADN total fue extraído de los adultos con el Puregene kit (Gentra), siguiendo el protocolo indicado por los fabricantes. Un fragmento de 690 bp de un gen mitocondrial COI (citocromo oxidasa I) fue amplificado a través de un PCR con primers S17 (5' GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC 3') y A24 (5' GCT AAT CAT CTA AAA AAT TTT AAT TC CTG TTG G 3'). Las reacciones fueron hechas en un volumen final de 50 μ l conteniendo 8 μ l de dNTPs (1.25 mM cada una), 10 μ l de 5x reacción buffer, 1 μ l de $MgCl_2$ (25 mM), 0.2 μ l de *Taq* ADN polimerasa (GoTaq Promega) 5U/ μ l, 150 ng de sense y antisense primers, y 50 a 100 ng de ADN. Las amplificaciones fueron hechas de acuerdo al siguiente procedimiento de PCR: un ciclo de 1 min a 94°C, 35 ciclos de desnaturalización (1min a 94°C), anillamiento (1min a 46°C), elongación (1.5 min a 72°C), y la elongación final de 3.5 min a 72°C. Las muestras amplificadas fueron purificadas con gel Wizard SV y PCR Clean-Up System (Promega). El ADN puro fue usado como molde para la secuenciación directa de ambos "strands" usando el mismo "primer" utilizado en la amplificación. Todas las secuencias fueron hechas con el ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit version 2.0 (Applied Biosystems) en un Applied Biosystems ABI PRISM 3700 DNA Analyzer automated sequencer. La secuencia de 629 bp obtenida fue homóloga al fragmento de COI conteniendo entre 295 y 923 posiciones en *D. melanogaster* (Ballard 2000, Genbank número de acceso AF200828).

La diversidad de nucleótidos fue calculada con el estimador de Watterson (θ_w) y con el número promedio de pairwise diferentes por sitio (π). Las pruebas de Tajima (1989), Fu (1997) y Ramos-Onsins y Rozas (2002) fueron aplicadas para determinar si las poblaciones de

A. versicolor estaban en una deriva génica-equilibrio mutación de acuerdo a lo esperado a la teoría neutral (Kimura 1983). La significancia del test fue calculada haciendo 1000 simulaciones coalescentes basadas en un proceso de Monte Carlo sin recombinaciones (Hudson1990). Todos los cálculos fueron hechos con DnaSp 4.0.6 (Rozas et al. 2003).

La estructura de la población fue investigada por medio de un análisis de la varianza molecular (AMOVA, Excoffier et al. 1992). Las secuencias fueron acomodadas en 2 niveles de jerarquía, el primero de acuerdo al sitio de colección (población) y el segundo de acuerdo a la Zona a la cual pertenecía la población. La significancia de los componentes de la varianza y el estadístico Φ fueron obtenidos por medio de 10.000 permutaciones de los haplotipos entre las poblaciones y Zonas usando el programa Arlequin 3.1 (Excoffier et al. 2005). La diferenciación genética entre pares de las Zonas fue además analizado con K_{ST}^* statistics (Hudson et al. 1992) implementada en DnaSp 4.0.6 (Rozas et al. 2003).

El análisis filogenético fue analizado a través de un sistema de parsimonia estadístico. La red de haplotipos fue construida con el software TCS 1.18 (Clement et al. 2000), basado en el algoritmo propuesto por Templeton et al. (1992).

RESULTADOS

Estudios de Campo.

Oferta de Plantas Hospedadoras. De un total de 234 parches revisados, *X. cavanillesii* (117 parches) fue la planta más abundante y la única que cubrió la totalidad de la distribución del insecto, seguida de *P. sagittalis* (60), luego *P. absinthioides* (31) y *Ambrosia tenuifolia* (26), en una relación 4:2:1:1. El análisis de regresión mostró que la oferta de *P. sagittalis* y de *P. absinthioides* estaba relacionada a la latitud. Al incrementarse la latitud los parches de *P. sagittalis* (observados cada 100 km) disminuyeron significativamente ($r = 0,80$; $g.l.= 1, 12$; $F= 54,4$; $P= 8,6 E-06$) (Fig. 5) mientras que los parches de *P. absinthioides* se incrementaron ($r = 0,63$; $g.l.= 1, 12$; $F= 23,4$; $P= 0,000$) (Fig. 5). En cambio, la oferta de *X. cavanillesii* no mostró variaciones latitudinales significativas ($r = 0,01$, $gl= 1, 12$, $F= 2,24$, $P= 0,16$) (Fig 5).

Patrón de Utilización de *A. versicolor* de sus Plantas Hospedadoras. El porcentaje y las especies de plantas atacadas por *A. versicolor* variaron de acuerdo al área geográfica estudiada. En la **Zona 1**, el 100% de los 16 parches revisados de *P. sagittalis* fueron atacados, en cambio, ninguno de los parches de las otras tres hospedadoras fue utilizado (20 parches en total) (Tabla 9); en la **Zona 2**, *P. sagittalis* fue atacada en el 95.5% de los 44 parches revisados. Pero también fueron atacadas *X. cavanillesii* (74.4% de los 82 parches revisados), *A. tenuifolia* 66.6% (de 18 parches) y *P. absinthioides* 41.7% (de 12 parches) (Tabla 9).

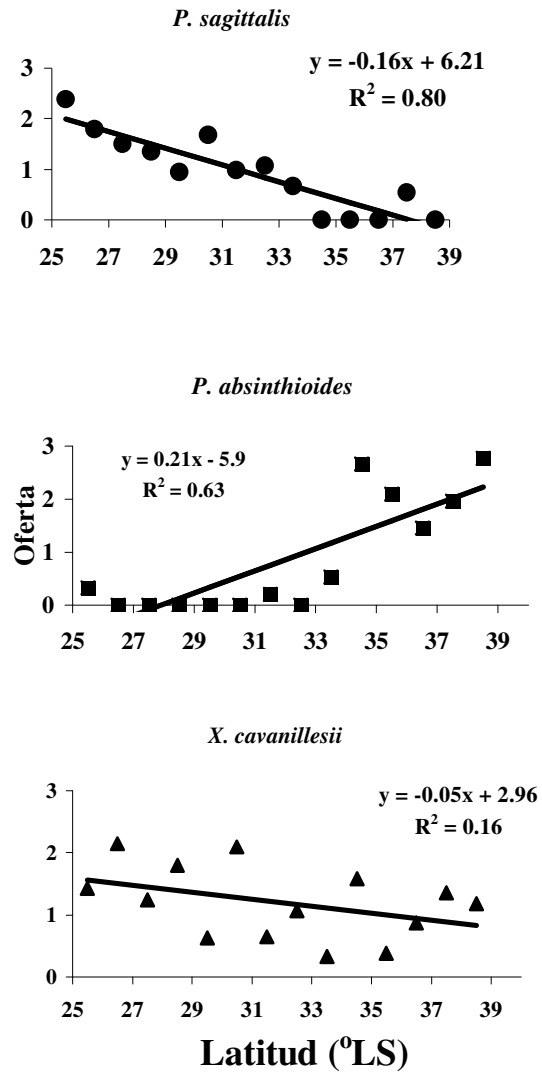


Fig. 5. Relación entre la oferta de tres plantas hospedadoras (*P. sagittalis*, *P. absinthioides* y *X. cavanillesii*) de *A. versicolor* y la latitud analizadas a través de una regresión lineal. La oferta de las plantas fue calculada como el número de parches observados cada 100 km recorridos en bandas de un grado de latitud.

En la **Zona 3** (donde *P. sagittalis* estuvo ausente) el 90% de los 19 parches revisados de *P. absinthioides* fueron atacados (Fig. 6 y Tabla 9). Ninguno de los parches de *X. cavanillesii* (22 parches) y *A. tenuifolia* (3 parches) fueron atacados, siendo *P. absinthioides* la única planta utilizada por *A. versicolor* en la Zona 3.



Fig. 6. Zonificación del área de distribución de *A. versicolor* en Argentina de acuerdo a la presencia de sus plantas hospedadoras y el patrón de utilización de estas por el insecto.

Tabla 9. Patrones de utilización de *Apagomerella versicolor* de sus plantas hospedadoras en las Zonas 1, 2 y 3.

Plantas Hospedoras	Zona 1				Zona 2				Zona 3			
	Parches		Ptas atacadas /Parche (%)		Parches		Ptas atacadas /Parche (%)		Parches		Ptas atacadas /Parche. (%)	
	Exam	Atac (%)	Media	DS	Exam	Atac (%)	Media	DS	Exam	Atac (%)	Media	DS
<i>P. sagittalis</i>	16	100.0	55.2	30.7	44	95.5	44.0	25.8	0	0	0.0	0.0
<i>X. cavanillesii</i>	15	0.0	0.0	0.0	82	74.4	25.1	28.6	22	0	0.0	0.0
<i>A. tenuifolia</i> ¹	3	0.0	0.0	0.0	18	66.7	13.9	20.4	3	0	0.0	0.0
<i>P. absinthioides</i>	2	0.0	0.0	0.0	12	41.7	1.8	3.6	19	90	24.7	25.9

¹ El porcentaje de parches atacados de *A. tenuifolia* por *A. versicolor* está sobreestimado (ver sección M&M)

Estudios de Laboratorio.

Prueba de Apareamiento Diferencial. El análisis de los resultados mostró que los machos colectados como larva de ciertas zonas o plantas hospedadoras fueron más exitosos. Los machos colectados en la Zona 3 copularon más veces (87.5% vs 12.5% de las cópulas) que los machos de la Zona 2 ($X^2 = 9,3$; $df = 1$; $P = 0,04$), mientras que las cópulas se produjeron al

azar cuando compitieron los machos de las Zona 1 y Zona 3 ($P= 0,58$) y los machos de las Zonas 1 y 2 ($P= 0,27$) (Tabla 10, a). Con respecto al origen por planta hospedadora, no se encontraron diferencias significativas en el éxito reproductivo entre los machos provenientes de plantas de *P. sagittalis* y de *P. absinthioides*, pero cada uno de estos copuló significativamente más veces que los machos de *X. cavanillesii* ($X^2 = 8,67$; $gl= 1$; $P= 0,003$ y $X^2= 8,00$; $gl= 1$; $P= 0,005$, respectivamente) (Tabla 10, b).

Tabla 10. Prueba de éxito en la copula de machos realizada para analizar el efecto del origen geográfico(a) y de la planta hospedadora (b) de machos. Cada combinación fue realizada con alrededor del 50% de hembras de cada una de las zonas probadas. El comportamiento de los machos no se vio afectado por el origen de la planta hospedadora, ni por el origen geográfico de las hembras en las 6 combinaciones estudiadas.

a)

Origen geográfico de los machos	Rep.	Cópulas exitosas¹	Macho exitoso	P_{crítico}
Zona 1 vs Zona 2	42	26-16	Ninguno	0.27
Zona 1 vs Zona 3	20	11-9	Ninguno	0.58
Zona 2 vs Zona 3	16	2-14	Zona 3	0.04

¹Los valores corresponden al número de cópulas exitosas de cada una de las dos categorías de machos enfrentadas

b)

Planta hospedadora del macho	Rep.	Cópulas¹ exitosas	Macho exitoso	P_{crítico}
<i>P. sagittalis</i> vs <i>P. absinthioides</i>	25	11-14	Ninguno	0.54
<i>P. sagittalis</i> vs <i>X. cavanillesii</i>	61	42-19	<i>P. sagittalis</i>	0.00
<i>P. absinthioides</i> vs <i>X. cavanillesii</i>	8	8-0	<i>P. absinthioides</i>	0.00

¹ Los valores corresponden al número de cópulas exitosas de cada una de las dos categorías de machos enfrentadas.

No se encontró un efecto de la hembra sobre el éxito reproductivo del macho en la cópula, ni por origen geográfico ni por la planta hospedadora.

Preferencia de Oviposición y Capacidad de Desarrollo de las Larvas. Las hembras de *A. versicolor* mostraron 3 patrones de oviposición diferentes de acuerdo a la zona de origen. Las hembras provenientes del la Zona 1 (colectadas sobre *P. sagittalis*, ovipusieron exclusivamente en *P. sagittalis* (Tabla 11).

Tabla 11. Preferencia de oviposición de hembras de *Apagomerella versicolor* con diferente origen geográfico y de planta hospedadora. El estudio se hizo con pruebas de elección múltiple entre 4 plantas hospedadoras. En cada repetición, una hembra fue expuesta en una caja de 1 m³ a 4 plantas hospedadoras: *P. sagittalis*, *X. cavanillesii*, *A. tenuifolia* and *P. absinthioides* por 24 hs. El porcentaje de plantas hospedadoras informado para cada tipo de hembra fue calculado como el número de plantas atacadas de la especie A/ número de plantas ofrecidas de la especie A * 100.

Origen de la hembra		Porcentaje de plantas utilizadas para la oviposición				
Geográfico	Planta hospedadora	Rep.	<i>P. sagittalis</i>	<i>X. cavanillesii</i>	<i>A. tenuifolia</i>	<i>P. absinthioides</i>
Zona 1	<i>P. sagittalis</i>	12	100.0	0.0	0.0	0.0
Zona 2	<i>P. sagittalis</i>	13	100.0	53.8	0.0	0.0
	<i>X. cavanillesii</i>	15	86.7	46.7	0.0	0.0
	<i>A. tenuifolia</i>	8	75.0	50.0	25.0	0.0
	<i>P. absinthioides</i>	5	100.0	40.0	0.0	0.0
Zona 3	<i>P. absinthioides</i>	8	92.3	0.0	0.0	12.5

Las hembras colectadas en la Zona 2, independientemente de la planta donde desarrollaban, mostraron un patrón de preferencia muy similar. En general atacaron entre un 75-100 % de las plantas de *P. sagittalis* y un 40-54% de las plantas de *X. cavanillesii* (Tabla

11). Sólo las hembras originarias de *A. tenuifolia* atacaron plantas de *A. tenuifolia*. Ninguna hembra de la Zona 2 atacó plantas de *P. absinthioides*, inclusive las hembras que emergieron de esa planta. Las hembras de la Zona 3, colectadas sobre *P. absinthioides* ovipusieron en *P. sagittalis* (92.3% de las plantas ofrecidas) y en *P. absinthioides* (12.5%) y no atacaron plantas de *X. cavanillesii*, ni de *A. tenuifolia* (Tabla 11).

Estudios Genéticos. La diversidad de nucleótidos fue de 0.0113 usando el número de sitios segregantes (θ_w) y de 0.005 por medio de π . La muestra total exhibió 35 sitios polimórficos, 14 de los cuales fueron parsimonia-informativos (no singularidades). Cinco cambios fueron no sinónimos mientras que los restantes 30 representaron cambios sinónimos. El número total de haplotipos fue de 28, con una diversidad de haplotipos (HD) de 0.891. La Zona 1 fue la más diversa (HD= 0.904), seguida por la Zona 2 (HD = 0.784) y la Zona 3 (HD = 0.436).

El análisis de máxima parsimonia encontró 20 árboles. Se diferenciaron dos clados principales con valores de “bootstrap” iguales o mayores al 50 %. El más amplio incluyó 25 haplotipos que están presentes en las Zona 1 y Zona 2. No se diferenciaron otros clados dentro de este grupo con la excepción de uno formado por los haplotipos “h” y “t”. El otro clado incluyó 2 haplotipos, uno presente en las Zonas 1 y 3 (haplotipo “n”), y el otro exclusivamente en la Zona 3 (haplotipo “u”).

La red de haplotipos solo tiene una conexión ambigua. *A. versicolor* podría haber experimentado recientemente un incremento en el tamaño poblacional. Esta hipótesis fue testada con las pruebas de “D” de Tajima, “Fs” de Fu y el “R2” de Ramos-Onsins y Rozas, los cuales son muy robustos para detectar desviaciones debido a expansiones de poblaciones (Fu 1987, Ramos-Onsins and Rozas 2002). Las 3 pruebas fueron significativas (D: -1.827, $P <$

0.01; $F_s = -17.430$, $P < 0.00001$; $R^2 = 0.042$, $P < 0.01$), dando un fuerte soporte a la hipótesis de una reciente expansión poblacional de *A. versicolor*.

El haplotipo “a” fue el más frecuente y central en la red, se lo encontró en 23 individuos distribuidos en todas las localidades de la Zona 2 y los haplotipos que lo rodeaban que en su mayoría se diferenciaron en uno o dos pasos mutacionales, pertenecientes a la Zona 2, o a la Zona 1, o ambas.

Hubo una secuencia (haplotipo “m”) que fue muy divergente del resto y que estuvo separado por 6 ó 7 mutaciones. Interesantemente, este haplotipo fue solo encontrado en la Zona 1 y fue el primero que se separó en el árbol de parsimonia. Consecuentemente, es muy probable que este pudiera representar una variante ancestral que aun se está segregando en las viejas poblaciones de *A. versicolor*.

DISCUSIÓN

Apogomerella versicolor muestra una amplia variación geográfica en la utilización de sus plantas hospedadoras, pasando de monófago sobre *P. sagittalis* en la Zona 1 (norte de Argentina), a oligófago en las Zonas 2 y 3. La variación encontrada no estuvo relacionada con la oferta de sus plantas hospedadoras (Tabla 9), a lo cual está usualmente atribuida (Bernays & Graham 1988), no siendo posible relacionar este comportamiento a una respuesta de tipo ecológica. Una explicación alternativa para las diferencias encontradas en el uso de las plantas hospedadoras es que hay algún tipo de determinación genética en la preferencia de oviposición de las hembras de las diferentes zonas

Cuando hembras fecundadas de *A. versicolor* de diferente origen geográfico fueron expuestas a una oferta similar de sus principales plantas hospedadoras en el laboratorio, las hembras de cada Zona mostraron diferentes patrones en la preferencia de la oviposición (Tabla 11) que se asemejaban mucho a los patrones de oviposición encontrados en el campo (Tabla 9). Las hembras de la Zona 1 y de la Zona 2 mostraron casi el mismo patrón de preferencia tanto en el laboratorio como en el campo (en la Zona 2 algunos parches de *P. absinthioides* fueron atacados en porcentajes muy bajos, menos de un 2% de las plantas de cada parche), mientras que las hembras de la Zona 3 prefirieron más a *P. sagittalis* (ausente dentro de la Zona 3), y en menor grado a *P. absinthioides*, la planta hospedadora más utilizada en el campo (Tabla 9). Se sabe que después de la adquisición de nuevas plantas hospedadoras en procesos de expansiones del rango de hospedadoras, los insectos fitófagos pueden retener el fitness sobre la planta ancestral (Futuyma et al. 1995, Janz et al. 2001). La estrecha correspondencia entre los datos de campo y la preferencia de oviposición obtenida en el laboratorio sugiere que las diferencias entre las zonas tiene una base genética. Se podría argumentar que las diferencias en las preferencias de oviposición encontradas en el

laboratorio podrían ser atribuidas a un efecto de aprendizaje de la larva mientras se alimentaba en su planta hospedadora (Papaj 1986, Cunningham et al. 1998). Sin embargo, este efecto puede ser descartado ya que la planta hospedadora de donde provenía cada hembra no generó efecto alguno en la preferencia durante los ensayos. Hembras de la Zona 2 obtenidas en el campo de diferentes plantas hospedadoras (*X. cavanillesii*, *A. tenuifolia*, *P. sagittalis* y *P. absinthioides*), mostraron el mismo patrón de preferencias en el laboratorio (Tablas 9 y 11), sugiriendo que la experiencia alimenticia de las larvas no alteró la preferencia en la oviposición de las hembras.

Las mutaciones en la preferencia de oviposición que causan expansión o desplazamiento hacia otras plantas hospedadoras, en general, son seguidas por aislamiento reproductivo relacionado a la planta hospedadora, “assortative mating”, llevando a la formación de razas relacionadas a las plantas hospedadoras, “host races”, o razas geográficas (Itami et al. 1998, Wood and Keese 1990, Janz et al. 2006). En los estudios de laboratorio no se encontró “assortative mating” relacionado a las plantas hospedadoras, sin embargo, podría haber “assortative mating” en el campo si está asociados a variaciones temporales en la emergencia de los adultos desde las diferentes plantas hospedadoras (Wood & Keese 1990). Individuos de la Zona 1 no pueden establecerse en las Zonas 2 y 3 dado que ellos no poseen diapausa y no podrían sobrevivir a la falta de hospedadoras en el invierno. Por el contrario, individuos emigrantes de las Zonas 2 y 3 a la Zona 1 estarán en desventaja ya que ellos tienen diapausa obligada, teniendo solo una generación por año. Con respecto a las Zonas 2 y 3, la colonización de la Zona 3 por individuos de la Zona 2 debe estar muy limitada por la remarcable diferencia en el éxito reproductivo de los machos de la Zona 3 con respecto de los machos de la Zona 2 (87.5 vs. 12.5%, Tabla 10b). Además, los machos que desarrollaron en el género *Pluchea*, parecen ser más viriles o atractivos que los machos que provienen de *X.*

cavanillesii ya que ellos mostraron tener más éxito reproductivo en el laboratorio (Tabla 10a), probablemente debido a características químicas que posea el género *Pluchea* (Tooker et al. 2002, Moayeri et al. 2007). Experimentos de preferencia basados en elecciones múltiples (posiblemente un escenario más común en la naturaleza) deberían ser realizados para corroborar la presencia de “assortative mating” en *A. versicolor*.

La idea de que *A. versicolor* está diferenciado en al menos tres razas geográficas también fue analizada estimando el grado de diferenciación genética dentro y entre las zonas geográficas. El análisis de la secuencia de variación del mtDNA mostró que las poblaciones de *A. versicolor* están genéticamente estructuradas, sin embargo, hay variaciones en el grado de diferenciación entre las zonas. Por un lado, las Zonas 1 y 2 fueron significativamente diferentes, aunque ligeramente, mientras que el grado de diferenciación entre las Zonas 1 y 3, y entre las Zonas 2 y 3 fue mayor. También se utilizaron patrones de variaciones de secuencia dentro y entre zonas para inferir la ancestralidad entre zonas. En este sentido hay dos líneas de evidencia que indican que poblaciones de la Zona 1 son las mejores candidatas. Primero, las mayores estimaciones de diversidad de nucleótidos y haplotipos fueron registrados en la Zona 1; y segundo, poblaciones de esta zona compartieron varios haplotipos variantes con las Zonas 2 y 3. Llamativamente, algunos haplotipos de la Zona 1 están en los extremos de las redes, en vez de ocupar posiciones más ancestrales a las otras zonas. Sin embargo, haplotipos terminales podrían representar eventos de re-colonizaciones desde la Zona 2 o sólo artefactos del muestreo. Más colecciones cubriendo un mayor número de sitios en la Zona 1 son necesarias para clarificar este punto.

Otro resultado interesante del análisis de variación de secuencia del mtDNA es que las poblaciones de *A. versicolor* de las Zona 2 y Zona 3, a pesar de estar geográficamente cerca, no comparten haplotipos, como ambas Zonas lo hacen con la Zona 1, sugiriendo que las

poblaciones de las Zona 2 y 3 se originaron independientemente de la Zona 1 y/o que hay un limitado flujo génico entre ellas.

Se sabe que factores ecológicos causan una rápida divergencia evolutiva (Schluter 2000). En nuestro estudio, la fenología de la principal planta hospedadora, *P. sagittalis*, pudo haber tenido un dramático impacto durante la expansión geográfica de *A. versicolor* hacia el sur. En la Zona 1, *P. sagittalis* es una planta herbácea perenne que se encuentra disponible para *A. versicolor* todo el año en hábitat libres de heladas como los bordes de los arroyos y las costas de los ríos (Cabrera 1994) (Argentina no tiene áreas libre de heladas, con excepción de algunos hábitat ecológicos) (Burgos 1963)). En las Zonas 2 y 3, las condiciones climáticas en invierno son más adversas que la Zona 1 y todas las plantas hospedadoras perennes pierden la parte aérea en otoño. Además, en estas zonas, *P. sagittalis* es escasa o está ausente (Fig. 5).

En este trabajo se propone que durante la expansión de *A. versicolor* hacia el sur, los individuos emigrantes estuvieron sometidos a una fuerte presión de selección que los llevó a adquirir (o a expresar) mecanismos de diapausa y a una reducción de voltinismo de manera que pudieran coordinar su ciclo de vida con la fenología de las plantas hospedadoras en dicha área. La adquisición de la diapausa, a pesar que resultó en la pérdida de una generación, le permitió a *A. versicolor* expandir su rango geográfico y explotar nuevas plantas hospedadoras. La expansión hacia nuevas plantas hospedadoras observada en las poblaciones de las Zonas 2 y 3, puede llevar con el tiempo a especializaciones secundarias. De hecho, los datos de secuencia del mtDNA proveen una fuerte evidencia de una reciente expansión en esta especie.

Toda la evidencia presentada hasta aquí (Tabla 12), sugiere que la variación geográfica en el uso de las plantas hospedadoras en *A. versicolor* tiene una base genética; que esta especie se diferenció en al menos tres razas geográficas relacionadas al uso de las plantas hospedadoras, y que *A. versicolor* ha evolucionado en el uso de plantas pasando de ser

monófago sobre *P. sagittalis* y bivoltino en (la probable ancestral) Zona 1 a ser oligófago y univoltino en poblaciones derivadas en las Zonas 2 y 3.

En general, se han postulado las ventajas evolutivas de la especialización (Dethier 1954), lo que implicaría que la dirección que prevalece es desde los generalistas a los especialistas y no en el sentido contrario. La especialización ha sido también postulada como un proceso que explica la gran diversidad en ciertos grupos como en los insectos fitófagos. Sin embargo, los insectos fitófagos pasan a través de fases de expansión del rango de plantas hospedadoras durante la adquisición o colonización de nuevas hospedadoras en proceso de ajuste evolutivo llamado “evolutionary tinkering” (Armbruster & Baldwin 1998, Scheffer & Wiegmann 2000) donde la especialización no es un proceso irreversible (Janz et al. 2006).

Tabla 12. Resumen de los resultados.

	Zona 1	Zona 2	Zona 3
Abundancia Relativa			
<i>P. sagittalis</i>	Alta	Media- Baja	Ausente
<i>X. cavanillesii</i>	Alta	Alta	Media- Baja
<i>P. absinthioides</i>	Muy Baja	Baja	Alta
<i>A. tenuifolia</i>	Baja	Baja	Baja
Parches Atacados (ver Tabla 9)	100.0 % <i>P. sagittalis</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i>	95.5 % <i>P. sagittalis</i> 74.4 % <i>X. cavanillesii</i> 66.7 % <i>A. tenuifolia</i> ¹ 41.7 % <i>P. absinthioides</i>	90.0 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i>
Preferencia Oviposición (ver Tabla 11)	100.0 % <i>P. sagittalis</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i>	90.2 % <i>P. sagittalis</i> 48.8 % <i>X. cavanillesii</i> 4.9 % <i>A. tenuifolia</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i>	88.9 % <i>P. sagittalis</i> 12.5 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i>
Voltinismo	Al menos bivoltino	Univoltino	Univoltino
Diapausa	Ausente	Presente	Presente

¹ El porcentaje de uso de *A. tenuifolia* fue sobreestimado (ver sección M&M).

La importancia de la expansión del rango de plantas hospedadoras en la evolución de los insectos fitófagos puede haber sido ignorada o poco considerada por su naturaleza efímera. (Nosil 2002, Janz et al. 2001) y por la tendencia de ser seguida por especializaciones secundarias, como la que podría estar sucediendo con *A. versicolor* en la Zona 3. La especialización esta lejos de ser una vía muerta ya que puede alternarse con expansiones y desplazamientos a nuevas plantas hospedadoras (Janz et al. 2006) como las observadas en este estudio.

CAPITULO III

CONCLUSIONES

El objetivo general de este trabajo fue estudiar las potencialidades de *A. versicolor* como agente de control biológico del abrojo grande, *X. strumarium* con el fin de ser utilizado en los EE.UU. Para ello se llevaron a cabo estudios sobre aspectos básicos de la biología del cerambícido donde se encontró que *A. versicolor* tenía características deseables para un agente de control biológico de malezas como resistencia a bajas temperaturas y la inmersión por grandes períodos, y una amplia distribución geográfica desde la selva hasta el desierto. Estas características reflejan la posible capacidad del insecto para establecerse en diferentes climas y eco-regiones. Además la presencia de una diapausa obligada es importante cuando la maleza es una planta anual que no está presente durante el invierno y el insecto debe estar sincronizado con la planta.

Además de los atributos biológicos mencionados, *A. versicolor* podría ser un eficaz agente de control de *Xanthium strumarium* porque fue capaz de reducir la producción de abrojos en un 66% cuando las plantas eran atacadas a una edad de 45 días, y que su ataque a plantas más jóvenes produjo directamente la muerte de las mismas.

Sin embargo, el aspecto básico y casi excluyente para rechazar o no un insecto para ser utilizado en cualquier proyecto de control biológico es el grado de especificidad hacia la maleza objeto del control biológico y por ende la amplitud del rango de sus plantas hospedadoras. Con esta información se evalúan los riesgos que podría producir el agente de control si fuera liberado. Los estudios de especificidad mostraron que el Método Centrífugo Filogenético (MCF), utilizado en todos los proyectos de control biológico para seleccionar las plantas en los estudios de especificidad, mostró inconsistencias que fueron subsanadas con las búsquedas en el campo. Esto refuerza la importancia de los estudios de especificidad en el

campo en el país de donde es nativo el agente de control biológico. Con respecto a *A. versicolor*, los estudios mostraron que no es específico sobre el género *Xanthium* ni sobre la subtribu Ambrosinae, que lo contiene. Estos resultados indican que la liberación de este agente de control podría generar efectos no deseados sobre plantas que no son el objeto del control biológico. Si bien ninguna de las especies de los géneros que ataca *A. versicolor* tienen valor comercial, estas podrían ser parte de tramas tróficas que contengan especies de animales que estén amenazadas o en peligro de extinción. Esto deber ser estudiado y evaluado en los EE.UU. Sin embargo, el aspecto más preocupante de *A. versicolor* como agente de control biológico es que presenta variaciones geográficas intraespecíficas en el rango de plantas hospedadoras, siendo parte de un proceso de formación de razas por plantas hospedadoras. Todo esto hace que su uso como agente de control biológico sea riesgoso ya que no están garantizados los requisitos mínimos de especificidad. Por lo tanto, no se recomienda su utilización como agente de control. Sin embargo, hay un aspecto muy positivo de este estudio y es que *A. versicolor* y su variación intraespecífica en la utilización de plantas hospedadoras constituyen un interesante modelo de estudio de procesos evolutivos recientes.

LITERATURA CITADA

- Anderberg, A. A.** 1991. Taxonomy and phylogeny of the tribe Plucheeae (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 176: 145–177.
- Andrewartha, H. G. & L. C. Birch.** 1954. *The Distribution and Abundance of Animals*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Armbruster, W. S. & B. G. Baldwin.** 1998. Switch from specialized to generalized pollination. *Nature* 394: 632
- Ballard, J. W. O.** 2000. Comparative genomics of mitochondrial DNA in *Drosophila simulans*. *J. Mol. Evol.* 51:64–75.
- Baloch, G. M. & M. A. Ghani.** 1969. The present status of biological control of *Xanthium* (Compositae) PANS 15: 154- 159.
- Barrantine, W. L.** 1974. Common cocklebur competition in soybeans. *Weed Sci.* 22: 600-603.
- Bernays, E. & M. Graham.** 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.
- Bigger, D. S. & L. R. Fox.** 1997. High-density populations of diamondback moth have broader host-plant diets. *Oecologia* 112:179–186.
- Bloomberg, J. R., Kikpatrick, B. L. & L. M. Wax.** 1982. Competition of common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) with soybean (*Glycine max*). *Weed Sci.* 30: 507-513.
- Bosq, J. M.** 1943. “Segunda lista de Coleopteros de la Republica Argentina dañinos a la agricultura.” *Ingenieria Agronomica* Vol. IV: 18-22, Ministerio de Agricultura de la Nación, Buenos Aires.

- Bridges, D. C. & P.C. Bauman.** 1992. Weeds causing losses in the United States. 75–147 in D.C. Bridges, ed. Crop Losses Due to Weeds in the United States, 1992. Champaign, IL Weed Science Society of America.
- Buchanan, G.A. & Burns E.R.** 1971. Weed competition in cotton. II. Cocklebur and redroot pigweed. *Weed Sci.* 19:580–582.
- Burgos, J. J.** 1963. Las heladas en Argentina. Colección científica de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Volo. III. INTA Ediciones, Buenos Aires, Argentina, pp 389.
- Bush, G. L.** 1994: Sympatric speciation: new wine in old bottles. *Trends in Ecology & Evolution* 9: 285-288.
- Byrd, J.D. & Coble H.D.** 1991. Interference of common cocklebur (*Xanthium strumarium*) and cotton (*Gossypium hirsutum*). *Weed Technol.* 5:270–278.
- Cabrera, A. L.** 1963. Flora de la provincia de Buenos Aires. Parte VI: Compuestas. Colección científica del INTA. Buenos Aires.
- Cabrera, A. L.** 1974. Compositae. En Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Parte VI. Colección Científica del INTA por A. Burkart (Dir.). Buenos Aires
- Cabrera, A. L.** 1978. Flora de la provincia de Jujuy. Parte X: Compositae. Colección Científica del INTA. Buenos Aires
- Cabrera, A. L.** 1994. Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, Tomo II, Fascículo 1. ACME, Buenos Aires, pp 85.
- Clement, M., Posada, D. & K. A. Crandall.** 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9 (10): 1657-1660.

- Cole, R. J., Stuart, B. P., Landsen J. A., & R. H. Cox.** 1980. Isolation and redefinition of the toxic agent from cocklebur (*Xanthium strumarium*). J. Agric. Food Chem. 28: 1330-1332.
- Cordo, H. A.** 1985. Host specificity of the Argentine weevil *Heilipodus ventralis*, for the biological control of snakeweeds (*Gutierrezia* spp) in the U. S. In: Proceedings of the VI International Symposium Biological Control of Weeds, Vancouver, Canada, 19-25 August 198, Delfosse, E. S. (ed.), Agric. Canada, Canadian Print. Centre, Ottawa, pp 709-720.
- Cordo, H. A., C. J. De Loach, & R. Ferrer.** 1995. Host range of the Argentine borer *Carmenta haematica* (Ureta) (Lepidoptera: Sesiidae), a potential biocontrol agent of snakeweeds (*Gutierrezia* spp.) in the United States. Biological Control 5: 1-10.
- Craig, T. P., Itami, J. K., Abrahamson, W. G. & J. D. Horner.** 1993. Behavioral evidence for host-race formation in *Eurosta solidaginis*. Evolution 47: 1696-1710.
- Crespi, B. J., & C. P. Sandoval.** 2000. Phylogenetic evidence for the evolution of ecological specialization in *Timema* walking-sticks. J. Evol. Biol. 13: 249-262.
- Crocker, W.** 1906. Pole of seed coat in delayed germination. Botanical Gazette 42:265-291.
- Cronk, Q. C. B. & J. L. Fuller.** 1995. Plant invaders. Chapman & Hall, Cambridge, pp 241.
- Cunningham, G. M., Mulham, W. E., Milthorpe, P. L. & J. H. Leigh.** 1981. Plants of Western New South Wales.' (NSW Government Printer, Sydney).
- Cunningham, J. P., West, S. A. & D. J. Wright** 1998. Learning in the nectar foraging behaviour of *Helicoverpa armigera*. Ecological Entomology, 23: 363-369.

- DeLoach, C. J., Cordo, H. A. & I. Santoro de Crouzel.** 1989. Control Biológico de Malezas. Posibilidades de su aplicación en la Argentina extensivas a otros países de Sudamérica. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, pp 266.
- Dethier, V. G.** 1954 Evolution of feeding preferences in phytophagous insects. *Evolution* 8: 33–54.
- Di Iorio O. R., Cordo, H. A., Logarzo, G. A. & D. E. Gandolfo.** 1998. Cerambycidae (Coleoptera) root and stem borers in living plants from Argentina: a bibliographical review and new host plant records. *G. It. Ent.* 9:73–95.
- Dyar, H. G.** 1890. The number of moults of Lepidopterous larvae. *Psyche* 5: 45-182.
- Ehrlich, P. R. & P. H. Raven.** 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18:586-608.
- Erwin, T. L.** 1982. Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species. *Coleopterists Bulletin* 36:74-75.
- Esashi, Y. & A. C. Leopold.** 1968. Physical Forces in Dormancy and Germination of *Xanthium* Seeds. *Plant Physiol* 43: 871-876.
- Excoffier, L., Laval, G. & S. Schneider.** 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47-50. [http://www.la-press.com/EBO-1-Excoffier\(Sc\).pdf](http://www.la-press.com/EBO-1-Excoffier(Sc).pdf).
- Excoffier, L., Smouse, P.E. & J. M. Quattro.** 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application of human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 136: 343-359.
- Fonseca, E. A., Marangon, N. , Navarro, O. M. & S. Casares.** 1979. Girasol: Cuaderno de actualización técnica N° 26. Asociación Argentina de Consorcios Regionales de Experimentación Agrícola, Buenos Aires, Argentina, pp36.

- Fraenkel, G. S.** 1959. Raison d'etre of secondary plant substances. *Science* 129: 1466–1470
- Fu, Y. X.** 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925
- Funk , D. J. & E. A. Bernays.** 2001. Geographic variation in host specificity reveals host range evolution in *Uroleucon ambrosiae* aphids. *Ecology* 82: 726–739.
- Futuyma, D. J. & M. C. Keese.** 1992. Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods. *In: Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. (eds) Herbivores: their interactions with plant secondary metabolites VII: Evolutionary and ecological processes.* Academic, San Diego, pp 439–475.
- Futuyma, D. J. & G. Moreno.** 1988. The evolution of ecological specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 207–233.
- Futuyma, D. J., Keese, M. C. & S. J. Scheffer.** 1995. Genetic constraints and the phylogeny of insect-plant associations: responses of *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae) to host plants of its congeners. *Evolution* 47: 888-905.
- Gandolfo, D. E., Logarzo G. A., & Cordo, H. A.** 1997. *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae), candidato para el control biológico de *Xanthium strumarium* (Compositae) en los EE. UU.: Estimación del daño en laboratorio. *Rev. Soc. Argen. Entomol.* 56,: 147-150.
- Groman, J. D. & O. Pellmyr.** 2000. Rapid evolution and specialization following host colonization in a yucca moth. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 223-236.
- Harley, K. L. S. & B. W. Willson.** 1968. Propagation of a cerambycid borer on a meridic diet. *Can. J. Zool.* 46: 1265-1266.

- Harris, P. & H. Zwolfer.** 1968. Screening of phytophagous insects for biological control of weeds. *Canadian Entomologist* 100: 295- 303.
- Heard, T. A. & R. D. van Klinken.** 1998. An analysis of test designs for host range determination of insects for biological control of weeds. Sixth Australasian Applied Entomological Research Conference, Zalucki, M. Drew, R. & G. White (eds), pp 539-546.
- Hicks, A. J.** 1971. Systematic Studies of *Xanthium* (Compositae: Ambrosidae); the cockleburs of Tazewell Country, Illinois. Ph. D. Dissertation, Univ. Illinois, Urbana.
- Hilgendorf, F. W.** 1967. Weeds of new Zeland. (7th Edn. Rev. by J. W. Calder). Whitecombe & Tombs, Christchurch, New Zeland, pp 261.
- Hilgendorf, J. H. & R. D. Goeden .**1983. Phytophagous insect faunas on spiny clotbur, *Xanthium spinosum*, and cocklebur, *Xanthium s. strumarium*, in Southern California. *Environ. Entomol.* 12: 404-411.
- Hocking, P. J., & M. J. Liddle.** 1986. The Biology of Australian Weeds: 15. *Xanthium occidentale* Bertol. complex and *Xanthium spinosum* L. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 52: 191-221.
- Holm, L. G., Plucknett, D. L., Pancho J. V. & J. P. Herberger.** 1977. The World's Worst Weeds. East-West Centre, Univ. Press Hawaii, Honolulu, pp 609.
- Holm, L. G., Pancho, J. V., Herberger, J. P., & D. L. Plucknett.** 1979. A geographic atlas of world weeds. John Wiley, New York, pp 391.
- Hudson R. R. 1990 .** Gene genealogies and the coalescent process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 7: 1-44.
- Hudson, R. R., Boos, D. D. & N. L. Kaplan.** 1992. A statistical test for detecting geographic subdivision. *Mol. Biol. Evol.* 9: 138–151

- Itami, J. K.; Craig, T. P. & J. D. Horner.** 1998. Factors affecting gene flow between the host races of *Eurosta solidaginis*. In: Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Populations: Effects of Ecology, Life History and Behavior. Mopper, S. & S. Strauss (eds). Chapman and Hall, New York, pp 375-407.
- Jaenike, J.** 1990. Host specialization in phytophagous insects. Annual Review of Ecology and Systematics 21: 243–273.
- Jansen, R. K., Michaels, H. J. & J. D. Palmer.** 1991. Phylogeny and character evolution in the Asteraceae based on chloroplast DNA restriction site mapping. Syst. Bot. 16: 98- 115.
- Janz, N. & S. Nylin.** 1998. Butterflies and plants: a phylogenetic study. Evolution 52:486-502.
- Janz, N., Nyblom, K. & S. Nylin.** 2001. Evolutionary dynamics of host-plant specialization: a case study of the tribe Nymphalini. Evolution 55: 783–796.
- Janz, N., Nylin, S. & N. Wahlberg.** 2006. Diversity begets diversity: host expansions and the diversification of plant-feeding insects. BMC Evolutionary Biology 6: 4.
- Julien, M. H., & M. W. Griffiths.** 1998. Biological Control of Weeds: A World Catalogue of Agents and their Target Weeds. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Kaul, V.** 1965. Physiological ecology of *Xanthium strumarium*. L. II. Physiology of seeds in relation to its distribution. J. Indian Bot. Soc. 44:365-380.
- Kelley, S. T., & B. D. Farrell.** 1998. Is specialization a dead end? The phylogeny of host use in *Dendroctonus* bark beetles (Scolytidae). Evolution 52: 1731-1743.

- Kimura, M.** 1983. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press, Cambridge.
- King, L. J.** 1966. Weeds of the world. Biology and control. Interscience Publishers, New York.
- Kirk, A. A. & A. J. Wapshere** 1979. The life history and host specificity of the *Echium* borer, *Phytoecia coerulescens* [Col.: Cerambycidae]. BioControl 24: 423-430.
- Lane, F.** 1974. A synopsis of Dr. Gilmour's synopsis of the Tribe Aerenicini (Coleoptera: Cerambycidae). Studia Entomol. 17: 349-377.
- Leigh, J. H. & W. E. Mulham.** 1977. Vascular plants of the riverine plain of New South Wales with notes on distribution and pastoral use. Telopea 1: 225-293.
- Leonard, M., Kinet, J. M., Bodson, M., Havelange, A., Jacqmard, A. & G. Bernier.** 1981. Flowering in *Xanthium strumarium*. Initiation and development of female inflorescence and sex expression. Plant Physiol. 67: 1245-1249.
- Liddle, M. J.** 1986. Noogoora burr- a successful suite of weeds. In: The ecology of exotic animal and plants, Kitching, R. L. (ed), Jacaranda-Wiley, Brisbane, Australia, pp 188-220.
- Logarzo, G. A. & D. E. Gandolfo.** 2005 Análisis del voltinismo y de la diáspausa en poblaciones de *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) en el gradiente latitudinal de su distribución en la Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent. 64: 143-146.
- Logarzo, G. A.; D. E. Gandolfo & H. A. Cordo.** 2002. Biology of *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a Candidate for Biological Control of Cocklebur (*Xanthium* spp.) in U.S. Biological Control 25: 22-29.

- Love, D. & P. Dansereau.** 1959. Biosystematic studies on *Xanthium*: Taxonomic appraisal and ecological status. *Can. J. Bot.* 37: 173-208.
- Marwat, K. B. & E. D. Nafziger.** 1990. Cocklebur and velvetleaf interference with soybean grown at different densities and planting patterns. *Agron. J.* 82:531–534.
- Marzocca, A.** 1976. *Manual de Malezas*. Editorial Hemisferio Sur Buenos Aires.
- McEvoy, P. B.** 1996. Host specificity and biological pest control. *Bio Science* 46:401–405.
- McFadyen, R. E.** 1985. The biological control programme against *Parthenium hysterophorus* in Queensland. Proc. VI Int. Symp. Contr. Biol. Weeds, Delfosse E.S. (ed.), 19-25 August 1984, Vancouver, Canada. *Agric. Can.*, pp 789-796.
- McMillan, C.** 1975. The *Xanthium strumarium* complex in Australia. *Aus. J. Bot.* 23: 173-192.
- McWhorter, C. G. & E. E. Hartwig.** 1972. Competition of Johsongrass and cocklebur with six soybean varieties. *Weed Sci.* 20: 56-59.
- Michael, P. W.** 1981. Alien plants. In: *Australian Vegetation*. Groyes, R. H. (ed.) Cambridge University Press, Cambridge, pp. 44-64.
- Millspaugh, C. F. & E. E. Sherff.** 1919. Revision of the North American species of *Xanthium*. *Field Mus. Nat. Hist. Pub. Bot. Ser.* 4: 9-49.
- Mitidieri, A., Francescangeli, N. & J. Castro.** 1988. El abrojo americano o abrojillo (*Xanthium strumarium* L.) una nueva maleza de la soja. *Protección vegetal de malezas* No. 11. EERA, San Pedro, pp 6.
- Moayeri, H. R. S., Ashouri, A., Brodsgaard, H. F. & A. Enkegaard.** 2007. Males of the predatory mirid bug *Macrolophus caliginosus* exploit plant volatiles induced by conspecifics as a sexual synomone. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 123: 49–55

- Moran, G. F. & D. R. Marshall.** 1978. Allozyme uniformity within and variation between races of the colonizing species *Xanthium strumarium* L. (Noogoora burr). Aust. J. Biol. Sci. 31: 283-291.
- Moran, N. A.** 1988. The evolution of host-plant alternation in aphids: evidence for specialization as a dead end. Am. Nat. 132: 681-706.
- Mune, T. L. & J. W. Parham.** 1959. The declared noxious weeds of Fiji and their control. Dept. Agric. Fiji. Bull No 31 Rev. Ed., pp 74.
- Nadeau, L. H.** 1961. Etude Biosystematique sur le genre *Xanthium*. Ph. D. Dissertation, Univ. Montreal, Canada.
- Norsworthy, J.K.** 2003. Use of soybean production surveys to determine weed management needs of South Carolina farmers. Weed Technol. 17:195–201.
- Nosil, P.** 2002. Transition rates between specialization and generalization in phytophagous insects. Evolution 56: 1701-1706.
- Papaj, D. R.** 1986. Conditioning of leaf-shape discrimination by chemical cues in the butterfly, *Battus philenor*. Animal Behaviour 34: 1281–1288.
- Parodi, L.** 1945. Por qué deben destruirse las malezas de los cultivos. Anales de la Sociedad Rural Argentina 79: 277-280
- Parodi, L..** 1964. Las malezas invasoras de los cultivos. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol. II, 1ª parte.
- Percy, D. M., Page, R. D. M. & Q. C. B. Cronk.** 2004. Plant-insect interactions: double-dating associated insect and plant lineages reveals asynchronous radiations. Syst. Biol. 53: 120-127.

- Pieterse, A. H.** 2000. Aquatic weed management. In: Weed Management in the Humid and Sub-humid Tropics. van Rijn, P.J. (ed.). Royal Tropical Institute, Amsterdam, pp 169-176.
- Pimentel, L.** 1986. Biological invasions of plants and animal in agriculture and forestry. *In: Ecology of biological Invasions of North America and Hawaii.* Mooney, H. A. & J. A. Drake (eds). Springer-Verlag, New York, pp 149-162.
- Prokopy, R. J., Diehl, S. R. & S. S. Cooley.** 1988. Behavioral evidence for host races in *Rhagoletis pomonella* flies. *Oecologia* 76. 138–147.
- Pisek, P.** 1995. On the terminology used in plant invasion studies. *In: Plant invasions: general aspect and special problems.* Pisek, P., Prach, K. Rejmanek, M. & M. Wade (eds). SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp 71-84.
- Quimby, P. C. Jr.** 1983. Host range of *Alternaria helianthi*. Proc. 36th Annu. Meet. South. Weed. Sci. Soc. 36: 356.
- Quintana F. J. & A. R. Abot.** 1987. Girasol: Lista comentada de los organismos animales que atacan al cultivo en la República Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Publicado por la Estación Regional Agropecuaria de Balcarce y la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires, Argentina, pp 50.
- Ragonese, A. E., & V. A. Milano.** 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la flora argentina. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial Acme S.A.C.I., Tomo 2, Fasc. 8, pp 413.
- Ramos-Onsins, S. E. & J. Rozas.** 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol. Biol. Evol.*, 19: 2092–2100.

- Ray, P.M. & W.E. Alexander.** 1966. Photoperiodic adaptation to latitude in *Xanthium strumarium*. Amer. J. Bot. 43: 806-816
- Ridley, H. N.** 1930. The dispersal of plants throughout the world. L. Reeve & Co., Ltd., Ashford, Kent, pp 744.
- Robinson , B. W., Wilson, D. S. & G. O. Shea.** 1996. Trade-offs of ecological specialization: an intraspecific comparison of pumpkinseed sunfish phenotypes. Ecology 77: 170-178.
- Robinson, H.** 1981. A revision of the tribal and subtribal limits of the Heliantheae (Asteraceae). Smithsonian Contrib. 51: 1-102.
- Rosillo, A. M.** 1944. Enumeración de insectos vinculados a la economía de Entre Ríos. (Primera Parte: Coleoptera) Memorias Museo Entre Rios, Argentina No. 22 Zoología.
- Royal, S. S., B. J. Brecke, D. L. Colvin.** 1997. Common cocklebur (*Xanthium strumarium*) interference with peanut (*Arachis hypogaea*). Weed Sci. 45:38–43.
- Rozas, J., Sanchez-Del Barrio, J. C., Messeguer, X. & R. Rozas.** 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics 19: 2496–2497
- Rushing, G. S. & L. R. Oliver.** 1998. Influence of planting date on common cocklebur (*Xanthium strumarium*) interference in early-maturing soybean (*Glycine max*). Weed Sci. 46:99–104.
- Scheffer, S. J. & B. M. Wiegmann.** 2000. Molecular phylogenetics of the holly leafminers (Diptera: Agromyzidae: *Phytomyza*): species limits, speciation, and dietary specialization. Molecular Phylogenetics and Evolution 17: 244-255.

- Schluter, D.** 2000. Ecological character displacement in adaptive radiation. *American Naturalist* 156 (Supplement): S4-S16.
- Second, D. & P. Kareiva.** 1996. Perils and pitfalls in the host specificity paradigm. *BioScience* 46:448–453.
- Seddon, H. R. & R. O.King.** 1938. Noogoora burr (*Xanthium chinense*), poisonous for stock in very early stages of growth. *Dept. Agric. N. S. W. Vet. Rept.* 7: 107-108.
- Singer, M. C., Ng, D., Vasco, D. & C. D. Thomas.** 1992. Rapidly evolving associations among oviposition preferences fail to constrain evolution of insect diet. *American Naturalist* 139: 9-20.
- Smith, D. C.** 1988. Heritable divergence of *Rhagoletis pomonella* host races by seasonal asynchrony. *Nature* 336: 66- 67.
- Stride, G. O. & R. Straatman.** 1974. On the biology of *Mecas saturnina* and *Nupserha antennata*, Cerambycid Beetles associated with *Xanthium* species. *Australian Journal of Zoology* 11: 446 – 469
- Tajima, F.** 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595
- Templeton, A. R., Crandall, K. A. & C. F. Sing.** 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping of DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Thompson, J. N.** 1998. The evolution of diet breadth: Monophagy and polyphagy in swallowtail butterflies. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 563-578
- Tooker, J. F., Koenig, W. A. & L. M. Hanks.** 2002. Altered host plant volatiles are proxies for sex pheromones in the gall wasp *Antistrophus rufus*. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America 99: 15486-15491(Available on line in <http://www.pnas.org/cgi/reprint/99/24/15486?>)

- Wapshere, A. J.** 1974a. An ecological study of an attempt at biological control of noogoora burr (*Xanthium strumarium*). Aust. J. Agric. Res. 25: 275-292.
- Wapshere A. J.** 1974b. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. Annals of Applied Biology 77: 201-211.
- Wapshere, A. J.** 1989. Biological control of grass weeds in Australia: an appraisal. Plant Protection Quarterly 5: 62-74.
- Wareing, P. F. & H. A. Foda.** 1957. Growth inhibitors and dormancy in *Xanthium* seed. Physiol. Plant. 10: 266-. 280.
- Weaver, S. E. & M. J. Lechowicz.** 1983. The biology of Canadian weeds. 56. *Xanthium strumarium* L. Can. J. Plant Sci. 63: 211-225.
- Webster, T.M. & H.D. Coble.** 1997. Changes in the weed species composition of the southern United States: 1974 to 1995. Weed Technol.11:308–317.
- Webster, T.M.** 2001. Weed survey—southern states: broadleaf crops subsection. 244–259 in D.B. Reynolds, ed Proceedings of the Southern Weed Science Society. Volume 54. Biloxi, MS Southern Weed Science Society.
- West, N. E.** 1991. Benchmarks for rangeland management and environmental quality. In: Noxious range weeds. James, L. F., Evans, J. O. Ralphs, M. H. & R. D. Child (eds), pp 30-44.
- Widder, F. J.** 1923. Die Arten der Gattung *Xanthium*. Beih. Rept. Spec. Nov. Regni Veg. Bd. 20, 222. (Verlag des Repertorium: Dahlem bei Berlin).

- Wilson, F.** 1960. A review of the biological control of insects and weeds in Australia and Australian New Guinea. Farnham Royal, CAB. Commonw. Inst. Biol. Control Tech. Comm., pp 1- 102.
- Williamson, M.** 1993. Invaders, weed and the risk from genetically manipulated organisms. *Experientia*, 49: 219–224.
- Wood, T. K. & M. C. Keese.** 1990. Host –plant induced assortative mating in *Enchenopa* treehoppers. *Evolution* 44: 619-628.
- Zimmerman, J. K. & I. M. Weis.** 1984. Factors affecting survivorship, growth, and fruit production in a beach population of *Xanthium strumarium*. *Can. J. Bot.* 62: 2122-2127.

Apagomerella versicolor (Coleoptera: Cerambycidae), candidato para el control biológico de *Xanthium strumarium* (Compositae) en los EE.UU.: Estimación del daño en laboratorio

GANDOLFO, DANIEL E., GUILLERMO LOGARZO Y HUGO A. CORDO

Laboratorio de Control Biológico de Plagas USDA-ARS, Bolívar 1559, 1686 Hurlingham, Argentina.

□ **ABSTRACT.** *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae), candidate for biological control of *Xanthium strumarium* (Compositae) in the United States: Laboratory estimation of damage. The Argentine stem borer *Apagomerella versicolor* (Boh.) is a candidate for biological control of cocklebur, *Xanthium strumarium* L. in the United States. At the laboratory, we estimated the efficiency of the insect to reduce fruit production of the South American cocklebur, *X. strumarium cavanillesii* L. (Schow.) at two different ages of the weed. When 45 days-old plants were infested, they had a significant fruit reduction (66 %). Plants infested when they were 75 days-old produced an intermediate number of fruits that was not significantly different either from the control group or the group infested at 45 days. The efficiency of *A. versicolor* in reducing fruit production of natural populations of cocklebur would depend on the age at which plants are infested. □

INTRODUCCIÓN

Xanthium strumarium L. (Compositae: Heliantheae) es una de las malezas más perjudiciales en áreas tropicales y subtropicales del mundo (Holm *et al.*, 1977). En los EE.UU. es la cuarta maleza más importante en cultivos a nivel nacional y sólo en el sudeste produce anualmente pérdidas millonarias en cultivos de soja y algodón (Geddes *et al.*, 1979; Vargas, 1984; Charudattan & DeLoach, 1988). En la Argentina la subespecie sudamericana *Xanthium strumarium cavanillesii* L. (Schow), "abrojo grande", fue declarada plaga de la agricultura en 1914. *Xanthium s. cavanillesii*, es una forma menos agresiva que *X. s. strumarium*, pero esta última fue introducida recientemente en la Argentina, posiblemente como contaminante en semillas de soja (Mitidieri *et al.*, 1988). Intentos de control biológico de esta maleza han sido realizados en Australia en donde, desde 1931, se han introducido cuatro especies de insectos y una roya (Baloch & Ghani, 1969; Wapshere, 1974a, b; McFadyen, 1985). Un control parcial se obtuvo en algunas áreas por la acción de *Epiblema strenuana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae), *Nupserha vexator* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae) y la roya *Puccinia xanthi* Schweinitz (Julien, 1992).

En la Argentina se iniciaron en 1986 estudios sobre los enemigos naturales de *X. s. cavanillesii*, como parte de un proyecto de control biológico del Departamento de Agricultura de los Estados

Unidos (ARS-USDA). Un posible candidato para el control biológico fue el cerambícido *Apagomerella versicolor* (Boheman). Su biología ha sido recientemente estudiada (Logarzo *et al.*, 1991a). *Apagomerella versicolor* se distribuye en la Argentina desde el norte hasta el río Negro. En los alrededores de Buenos Aires los adultos se encuentran desde comienzos de la primavera hasta mediados del verano, y su máxima densidad ocurre a principios de diciembre; su longevidad es de dos semanas aproximadamente. Las larvas se desarrollan en plantas de los géneros *Xanthium*, *Ambrosia* (Compositae: Heliantheae), *Pluchea* y *Tessaria* (Compositae: Inuleae) (Bosq, 1943; Logarzo *et al.*, 1991b). *Apagomerella versicolor* es una especie univoltina. Las hembras depositan los huevos dentro de los tallos de las plantas huéspedes. Las larvas barrenan los tallos en dirección a la raíz, sitio donde empupan. Antes de empupar, la larva produce un corte circular interno en la base del tallo que comúnmente provoca la caída de la parte aérea de la planta cuando ésta se seca. El corte ocurre después de que los frutos han madurado, por lo tanto si la fecundidad de la planta fuese afectada, sería una consecuencia indirecta del barrenado del tallo por la larva.

En este trabajo se presentan los resultados de estudios desarrollados en laboratorio para establecer si el daño producido por las larvas de *A. versicolor* en los tallos de *X. s. cavanillesii* afecta la fecundidad de las plantas.

MATERIAL Y MÉTODOS

A principios de la primavera, un lote de semillas de *X. s. cavanillesii* provenientes de El Nihuil, Mendoza, se hizo germinar en arena húmeda esterilizada. Después de la germinación, las plántulas fueron transplantadas a macetas con una mezcla de arena, vermiculita y tierra (1:1:1). Tres semanas después de la germinación, las plántulas, de aproximadamente 12 cm de altura, fueron transplantadas a una parcela de 5,5 x 3,5 m. La parcela había sido previamente desmalezada, el suelo roturado y durante toda la prueba fue regada en abundancia mediante aspersores. La distancia entre plantas fue de 25 cm, de manera que la densidad resultante fue de 16 plantas/m². Las plantas ubicadas en el perímetro no fueron utilizadas en la prueba. La máxima diferencia de edad entre las plantas fue de dos días. Esto fue considerado crítico porque la producción de abrojos está relacionada al tamaño de la planta en el momento de la inducción floral (Zimmerman & Weiss, 1984), que a su vez depende del fotoperíodo.

Dado que la parcela donde se realizaron las experiencias estaba dentro del área de distribución del insecto, se colocó una clausura alrededor de las plantas. Una estructura metálica que soportaba una malla de nylon aisló la parcela de todo contacto no controlado de *A. versicolor*, con las plantas en estudio. Los ejemplares de *A. versicolor* fueron coleccionados como larvas y pupas sobre las márgenes del río Luján en la localidad de Pilar, provincia de Buenos Aires, entre septiembre y diciembre de 1986. Los adultos obtenidos en laboratorio se mantuvieron en cámaras de cría a 25 °C, 70-80 % HR y fotoperíodo 14-10 L/O y se los alimentó con hojas de *X. s. cavanillesii*.

Mediante el empleo de una tabla de números al azar se formaron cuatro grupos de plantas de 40 ejemplares cada uno. Un grupo fue utilizado como control y los tres restantes para sucesivas infestaciones a los 45 (A1), 75 (A2) y 105 (A3) días desde la germinación de las plantas. Las edades de las plantas fueron escogidas dado que, en los alrededores de Buenos Aires, el pico de abundancia de adultos ocurre cuando las plantas se encuentran aproximadamente en este intervalo de edades. Las infestaciones de las plantas se hicieron en forma individual, para ello cada planta fue cubierta con una jaula cilíndrica de pared de alambre tejido de 25 cm de diámetro y 50 cm de altura. Las plantas del grupo A1 tenían en el momento de la infestación una altura de $18,6 \pm 4,55$ cm y un diámetro en la base del tallo de $0,57 \pm 0,07$ cm; las del grupo A2 una altura de $93,74 \pm 27,15$ cm y un diámetro de $1,14 \pm 0,33$ cm; y las del grupo A3 una altura de $197,15 \pm 51,23$ cm y un diámetro de $13,82 \pm 3,55$ cm ($\bar{x} \pm DS$). En los grupos de plantas infestadas a los 75 y 105 días de edad, dos o tres

jaulas fueron acopladas para cubrir la totalidad de la planta. Llegado el momento de la infestación se tomaron dos hembras de *A. versicolor* y se introdujeron en la jaula de la planta seleccionada. Al cabo de 24 horas de exposición las hembras eran retiradas, sólo si se observaban al menos dos marcas de oviposición sobre el tallo. Caso contrario, se prolongó la permanencia de las hembras 48 horas. Todas las plantas A1 y A2 tuvieron marcas de oviposición al cabo de 72 horas, en cambio, no se observaron marcas de oviposición en las plantas del grupo A3 aun cuando el tiempo se elevó a 96 horas.

Los huevos de *A. versicolor* son colocados individualmente mediante el ovipositor dentro del tallo de la planta, externamente se observa una pequeña punción que es la marca de cada oviposición. Observaciones anteriores mostraron que en algunas ocasiones, si bien la hembra perfora el tallo con su ovipositor, el huevo no es depositado, por lo que el número de marcas no es un indicador preciso del número de huevos. No obstante, si eclosiona más de un huevo, en plantas monocaulas como las utilizadas en la prueba, hay una rápida exclusión por canibalismo, de manera que sólo una larva se desarrolla. Por lo tanto, todas las plantas estuvieron en una situación similar independientemente del número de huevos depositado.

La prueba se dio por finalizada a los 175 días desde la germinación de las semillas, cuando los frutos comenzaron a secarse. Al registrarse la producción de frutos por planta, aquellos abrojos aún verdes fueron considerados como frutos maduros, suponiendo que en condiciones normales hubiesen alcanzado dicho estado. También se midió la altura de las plantas y el diámetro del tallo a la altura del cuello antes de la primera infestación y al final de la prueba. Finalmente, las plantas fueron disecadas para medir la longitud de las galerías producidas por las larvas.

El número de abrojos producido por cada planta fue normalizado por medio de una transformación logarítmica, comparándose las producciones de los tres tratamientos a través de un ANOVA de un factor. La misma prueba estadística se utilizó para comparar la altura y diámetro del tallo. Las medias fueron separadas mediante la prueba de Distancia Significativa Mínima (DSM). La longitud de las galerías producidas por las larvas en los tratamientos A1 y A2 fue comparada a través de una prueba de t con varianzas desiguales. Únicamente fueron consideradas en el análisis estadístico aquellas plantas en las cuales la larva se halló presente al final del experimento. Fueron excluidas las plantas donde se observaron marcas de oviposición pero los huevos no fueron puestos, las larvas no emergieron o murieron antes de producir un daño importante en el tallo.

RESULTADOS

De las 40 repeticiones planeadas para los tratamientos A1 y A2, únicamente 19 plantas por tratamiento fueron efectivamente atacadas por *A. versicolor*. El grupo A3 no fue utilizado dado que las hembras no ovipusieron en plantas de esa edad. Las plantas infestadas consideradas en conjunto, sin discriminar por edad en el momento de la infestación, produjeron 41 ± 48 abrojos por planta ($\bar{x} \pm DS$, $n = 38$); mientras que en las plantas control se obtuvo 74 ± 63 abrojos por planta ($\bar{x} \pm DS$, $n = 40$). Esta diferencia en la producción de frutos entre las plantas infestadas y las plantas control fue significativa ($F = 7,14$; $gl = 1,77$; $p < 0,05$) (Tabla I).

El promedio de abrojos por planta en las plantas infestadas a los 45 días de edad (A1) fue de 25 ± 19 ($\bar{x} \pm DS$, $n = 19$), un 66 % menos que la media del grupo control. En las plantas infestadas a los 75 días (A2) la producción media de abrojos por planta fue de 57 ± 64 ($\bar{x} \pm DS$, $n = 19$), lo que representa una reducción del 23 % respecto del control. El ANOVA entre el control y las plantas discriminadas según la edad en la que fueron infestadas, mostró diferencias significativas ($F = 4,88$; $gl = 2,75$; $p < 0,05$) (Tabla I). La prueba de DSM indicó diferencias significativas al 5 % entre el promedio de abrojos por planta del grupo A1 y el grupo de plantas control. Las plantas infestadas a los 75 días de edad produjeron un número intermedio de abrojos que no mostró diferencias significativas ni con aquellas plantas infestadas a los 45 días ni con las plantas control (Tabla I).

No se hallaron diferencias significativas cuando se compararon los valores obtenidos para el diámetro del tallo ($F = 0,68$; $gl = 2,75$; $p = 0,509$) y la altura de las plantas ($F = 0,47$; $gl = 2,75$; $p = 0,626$) al final de la prueba, entre A1, A2 y las plantas control. La media de la longitud del daño en los tallos, producido por el barrenado de las larvas de *A. versicolor* en las plantas A1 fue de $42,94 \pm 20,31$ cm ($\bar{x} \pm DS$); para las plantas A2 la media fue de

$69,23 \pm 34,45$ cm ($\bar{x} \pm DS$). Estos valores fueron significativamente diferentes ($t = -2,71$; $P = 0,012$).

DISCUSIÓN

Todas las especies de *Xanthium* son plantas anuales con reproducción sexual únicamente. La eficacia de un agente de control biológico para *X. strumarium* está directamente relacionada a su capacidad para reducir la producción de semillas (Wapshere, 1974a). Una dificultad para establecer estadísticamente la reducción en la producción de frutos está dada por la gran variabilidad natural en la producción de distintos individuos. Esta variabilidad se expresó aun en plantas creciendo en condiciones muy homogéneas como las utilizadas en este estudio, por lo que se planeó un número relativamente alto de repeticiones. Sin embargo, en las condiciones en que se llevó a cabo el experimento, sólo el 47,5 % de las infestaciones resultó exitoso. No obstante, la reducción en la producción de frutos cuando las plantas fueron infestadas a los 45 días fue significativa. Es probable que aumentando el número de repeticiones, el valor intermedio de fecundidad obtenido para las plantas infestadas a los 75 días, sea significativamente diferente respecto del control y de las plantas infestadas a los 45 días.

Los resultados sugieren que la reducción en la fecundidad es mayor cuanto menor es la edad de las plantas infestadas, aun cuando la longitud de las galerías producidas por las larvas fue significativamente mayor en las plantas infestadas más tardíamente. Desde el punto de vista del control biológico, esto indicaría que la eficiencia sería mayor cuando el barrenado es producido en tallos de plantas jóvenes y menor en el caso opuesto. Ambas situaciones, sin embargo, están naturalmente acotadas. Por un lado, las plantas de 105 días de edad no fueron aceptadas por las hembras para oviponer, lo que podría deberse a la mayor

Tabla I. Efecto del ataque de *A. versicolor* sobre producción de frutos, diámetro del tallo y altura de *X. s. cavanillesii*, infestadas en dos edades diferentes. S indica diferencias significativas y NS diferencias no significativas (ANOVA). Medias seguidas de letras distintas difieren significativamente (prueba de DSM). Para todos los casos $\alpha = 0,05$.

Tratamiento	Nro. de plantas	Frutos p/ planta $\bar{x} \pm DS$	Diámetro (mm) $\bar{x} \pm DS$	Altura (cm) $\bar{x} \pm DS$
Control vs. plantas discriminadas según la edad en la que fueron infestadas				
Control	40	74 ± 63 a	14 ± 4 NS	217 ± 50 NS
45 días [A ₁]	19	25 ± 19 b	14 ± 3 NS	209 ± 54 NS
75 días [A ₂]	19	57 ± 64 ab	13 ± 4 NS	203 ± 69 NS
Control vs. plantas infestadas totales				
Control	40	74 ± 63 S	14 ± 4 NS	217 ± 50 NS
A ₁ + A ₂	38	41 ± 48 S	13 ± 3 NS	206 ± 61 NS

leñosidad de los tallos en plantas viejas. Por otra parte, las plantas jóvenes (30 días o menos) o creciendo en malas condiciones, tienen tallos con un diámetro menor a 4 mm y tampoco son aceptadas por las hembras para oviponer (Gandolfo *et al.*, inéd.). Ocasionalmente se observó en el campo que plantas débiles o jóvenes (menores de 45 días) fueron muertas por el ataque del insecto, pero al menos en algunos casos esto impidió a las larvas completar su desarrollo, por lo que un comportamiento como éste sería seleccionado negativamente.

En los alrededores de Buenos Aires la germinación de las semillas de *X. s. cavanillesii* se produce a mediados de octubre, mientras que *A. versicolor* aparece durante la segunda quincena de octubre y alcanza la máxima densidad hacia finales de noviembre y principios de diciembre (Logarzo *et al.*, 1991a). Por lo tanto, la mayoría de las plantas serían atacadas entre los 45 y los 75 días de edad, cuando el daño es significativo considerando las plantas en conjunto, de acuerdo con los resultados obtenidos en laboratorio.

Wapshere (1974a) cuantificó el daño producido por *Mecas saturnina* Le Conte y *Nupserha vexator*, dos cerambícidos barrenadores de tallos como *A. versicolor*, que fueron introducidos en Australia para el control biológico de *X. strumarium*. De acuerdo con sus resultados el efecto del ataque de los insectos depende de las condiciones de crecimiento de las plantas y de su densidad. El daño producido por estos insectos no fue significativo cuando las plantas infestadas crecían en muy buenas condiciones (llanura aluvial) y cuando la distancia entre plantas fue de más de 23 cm. La altura y el diámetro del tallo alcanzados por las plantas durante las pruebas con *A. versicolor* (Tabla I), son inusuales para plantas de *X. s. cavanillesii*, lo que indica condiciones de crecimiento muy buenas. Suponiendo que los resultados para *M. saturnina* y *N. vexator* pueden ser trasladados a la relación *A. versicolor* / *X. strumarium*, el daño producido podría ser mayor al observado en este ensayo, en plantas menos vigorosas como las halladas comúnmente en ambientes naturales.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- BALLOCH, G. M. & M. A. GHANI. 1969. The present status of biological control of *Xanthium* (Compositae). *PANS* 15: 154-159.
- BOSQ, J. M. 1943. Segunda lista de Coleópteros de la República Argentina dañinos a la agricultura. *Ing. Agron.* 4: 18-22.
- CHARUDATTAN, R. & C. J. DELOACH. 1988. Management of pathogens and insects for weed control in agroecosystems. *En*: Altieri, M. A. & M. Liebman (eds.), *Weed management in agroecosystems: Ecological approaches*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, pp. 245-264.
- GEDDES, R. D., H. D. SCOTT & L. R. OLIVER. 1979. Growth and water use by common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) and soybean (*Glycine max*) under field conditions. *Weed Sci.* 27: 206-212.
- HOLM, L. G., D. L. PLUCKNETT, J. V. PANCHO & J. P. HERBERGER. 1977. *The world's worst weeds*. East-West Central Univ. Press, Honolulu, Hawaii.
- JULIEN, M. H. 1992. *Biological control of weeds. A world catalogue of agents and their target weeds*. CAB International, Wallingford.
- LOGARZO, G., D. E. GANDOLFO & H. A. CORDO. 1991a. Biología de *Apagomerella versicolor*, un cerambícido barrenador de tallos, candidato para el control biológico de la maleza *Xanthium strumarium* en EE.UU. *En: Resúmenes II Congr. Argent. Entomol.*, Córdoba, 1991, p. 225.
- LOGARZO, G., M. A. CASALNUOVO, D. E. GANDOLFO & H. A. CORDO. 1991b. *Apagomerella versicolor* Boh., un barrenador de tallos monófago en el norte y oligófago en el centro de Argentina: Especies crípticas o razas ecológicas? *En: Resúmenes II Congr. Argent. Entomol.*, Córdoba, 1991, p. 224.
- McFADYEN, R. E. 1985. The biological control programme against *Parthenium hysterophorus* in Queensland. *En: Delfosse, E. S. (ed.), Proc. 6th. Intern. Symp. Biol. Control Weeds*, pp. 789-796.
- MITIDIERI, A., N. FRANCESCANGELI & J. CASTRO. 1988. El abrojo americano o abrojillo (*Xanthium strumarium* L.), una nueva maleza de la soja. *Protección Vegetal Nro. 11, Malezas*, EEA-INTA San Pedro, prov. Buenos Aires, pp. 1-6.
- VARGAS, R. 1984. Weed management systems for cotton. *Proc. 36th. Ann. Calif. Weed. Conf.*, Sacramento, California: 52-62.
- WAPSHERE A. J. 1974a. An ecological study of an attempt at biological control of noogoora burr (*Xanthium strumarium*). *Aust. J. Agric. Res.* 25: 275-292.
- WAPSHERE, A. J. 1974b. The regions of infestation of wool by noogoora burr (*Xanthium strumarium*). *Aust. J. Agric. Res.* 25: 775-781.
- ZIMMERMAN, J. K. & I. M. WEISS. 1984. Factors affecting survivorship, growth, and fruit production in a beach population of *Xanthium strumarium*. *Can. J. Bot.* 62: 2122-2127.

Recibido: 30-VIII-1995
Aceptado: 20-VI-1996



ACADEMIC
PRESS

Biological Control 25 (2002) 22–29

**Biological
Control**

www.academicpress.com

Biology of *Apagomerella versicolor* (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a candidate for biological control of cocklebur (*Xanthium* spp.)

Guillermo Logarzo,* Daniel Gandolfo, and Hugo Cordo

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, South American Biological Control Laboratory, Hurlingham,
Buenos Aires Province, Argentina

Received 19 April 2001; accepted 22 March 2002

Abstract

The biology of the cerambycid beetle, *Apagomerella versicolor* (Boheman), a candidate for biocontrol of cocklebur, *Xanthium strumarium* L., in the US, was studied in Argentina where it attacks *X. strumarium cavanillesii* Love and Dansereau. *A. versicolor* is univoltine and adults appear in the field in early spring. In the laboratory, the adults lived an average of 18.5 days. Each female laid an average of 38 eggs, one egg per oviposition. The incubation period for the eggs lasted 10 days at 25°C and 80% RH. The larval stage had seven instars. Eggs were laid in the stems and larvae fed boring their way toward the root. At the beginning of fall, larvae girdled the stem of the mature plant near the crown, causing the dried aerial part of the plant to fall over. The last instar entered diapause and pupated within the roots in dead and dry plants until spring. Exposure of larvae to temperatures lower than 12°C for at least 8 days ended diapause. All larvae survived continuous exposure to –8°C for 3 days, and immersion of larvae in tap water for 20 days did not affect their survival. In Buenos Aires, Argentina, three parasitoids were found attacking the larvae; a braconid, *Nealiohus* n. sp., parasitized 61.5% of the larvae in 1988. Attack by *A. versicolor* reduced fruit production in *X. s. cavanillesii* by 66%, and killed young plants. *A. versicolor* has some attributes of a biocontrol agent of *Xanthium* spp. These attributes, along with cold tolerance, immersion tolerance, broad habitat distribution from tropical forest to desert, suggest that it would be an effective biocontrol agent of *Xanthium* spp. Published by Elsevier Science (USA).

Keywords: *Apagomerella versicolor*; *Xanthium*; Cocklebur; Biological control; Weed; Cerambycidae; Asteraceae

1. Introduction

The genus *Xanthium* originated probably in South America (Ragonese and Milano, 1984) or Central and South America (Love and Dansereau, 1959). More than 30 species have been assigned to the genus (Holm et al., 1977) and various attempts have been made to classify the genus (Love and Dansereau, 1959; McMillan, 1975; Millspaugh and Sherff, 1919; Widder, 1923). The species vary greatly in size and color of the burr, the number and length of the thorns on the burrs and the degree to which the beaks (two stout hooks at the end of the bur) and the thorns are hooked (Hicks, 1971; Love and Dansereau, 1959; McMillan, 1975; Nadeau, 1961;

Weaver and Lechowicz, 1983). The classification of Love and Dansereau (1959), though provisional, is widely accepted (Weaver and Lechowicz, 1983). They reduced the number of species to two: *X. strumarium* L., a highly variable species, and *X. spinosum* L., which is far more homogenous. They acknowledged two subspecies: *X. strumarium strumarium* L. and *X. strumarium cavanillesii* (Schouw) Love and Dansereau. The dispersion center of the first subspecies is the Mediterranean-Euro-Asian area and that of the second is America. *Xanthium spinosum* originated in South America (Hocking and Liddle, 1986; Ragonese and Milano, 1984).

The species of cockleburs that form the *X. strumarium* L. complex are summer annuals, which only reproduce sexually. They invade pastures, road banks, wateredges, and a broad variety of crops, and are considered among the most damaging weeds in the world

* Corresponding author.

E-mail address: glogarzo@mail.retina.ar (G. Logarzo).

(Holm et al., 1977). They cause losses in crop yields by competing for space, CO₂, light, and especially for water and nutrients (McWhorter and Hartwig, 1972). Charu-dattan and DeLoach (1988) ranked them fourth among crop weeds in the US. Cocklebur is among the major weeds affecting soybeans in the US (Barrentine, 1974; Barrentine and Oliver, 1977; Bloomberg et al., 1982; Cooley and Smith, 1973), and soybeans in some areas in Canada (Weaver and Lechowicz, 1983). Annual losses to soybeans in Arkansas and Mississippi have been estimated at over \$20 million (Geddes et al., 1979). *Xanthium strumarium* is also one of the worst weeds of cotton in the US (Vargas, 1984). Cocklebur reduces animal production. The burrs stick to the manes and tails of the animals and are particularly harmful to sheep (Wapshere, 1974). In addition to this, seeds and seedlings contain carboxyatractyloside which is toxic to cattle (Cole et al., 1980) but especially to pigs (Marzocca, 1976). A lethal dose of seeds and seedlings is approximately 2% of the animal's weight (Seddon and King, 1938). This poisonous effect decreases soon after seed germination. Finally, glandular hairs on the leaves secrete a substance which produces dermatitis in persons prone to allergies (King, 1966).

In the US cocklebur is an alternate host for *Alternaria helianthi* (Schw.) which produces the alternaria leaf spot, one of the main diseases affecting sunflower crops (Quimby, 1983). Although the fungus is present in Australia, it has not been reported there on *Xanthium* (Hocking and Liddle, 1986).

Investigations have been carried out in the US, India, and Pakistan to find natural enemies for biological control of *Xanthium* spp. in Australia. The introduction of four insects produced some control or reduction in weed vigor (Julien and Griffiths, 1998). However, the rust *Puccinia xanthii* Schw. introduced accidentally from the US, produced excellent control in most of Queensland, but no control in drier areas (Julien and Griffiths, 1998).

A search for natural enemies of *X. s. cavanillesii*, the South American form of the *X. strumarium* complex, was conducted in Argentina in 1986. One candidate that arose from the screening was the stem borer *Apagomerella versicolor* (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae). This long-horned beetle has been described as *Saperda versicolor* Boheman, *Phytoecia sanguinicollis* Burmeister, *Apagomera suturella* Bates, *Emphytoecia versicolor* (Boheman), or *Apagomerella suturella* (Bates). Lane (1974) made the new nomenclatorial combination *A. versicolor* (Boheman) and stated that it is the sole species in the genus, and its affinities with other genera of the Aerenicini tribe are not clearly established. Despite several morphological descriptions, the biology of *A. versicolor* is almost completely unknown. The only reference on the biology of this beetle was provided by Bosq (1943) and Rosillo (1944) who mentioned *X. s. cavanillesii* as the host plant, and Gandolfo et al. (1997),

who showed that *X. s. cavanillesii* plants produce fewer fruits when infested by larvae of *A. versicolor*. Our aim was to study the biology of *A. versicolor*, which is a possible candidate for biological control of cocklebur in the US.

2. Materials and methods

The research was conducted at the USDA-ARS Hurlingham facilities in the western suburbs of Buenos Aires, Argentina, between 1986 and 1989. Field studies were conducted on a large population of *X. s. cavanillesii* on the bank of the Río Reconquista, in a pasture between Hurlingham and San Miguel, 10 km from the laboratory facilities. The climatic data presented here are from 1981 to 1990, and were issued by the meteorological weather station at INTA-Castelar, 10 km south of the research site. All results are expressed as average \pm SD with a few noted exceptions where the range is given.

2.1. Life cycle and seasonal occurrence

Xanthium strumarium cavanillesii is a summer annual weed, which only reproduces sexually. In Buenos Aires, seedlings are produced at the beginning of spring (September) and plants grow vegetatively throughout that season. In December (summer) the plants start to bloom, and in the fall the fruits ripen and the plants senesce (Fig. 1).

Plants and stumps of *X. s. cavanillesii* were sampled in the field from September 1987 to August 1988. To estimate the occurrence and proportion of pupae and adults, 18 samples of stumps (produced by the larvae) and dry plants (grown the previous year) were taken every 8–10 days between September 1987 and January 1988. To estimate the occurrence and density of larvae, from the first to the seventh instar, 16 samples of 100 randomly chosen plants (grown the current year) were sampled ($n = 1600$) every two weeks from October 1987 to September 1988. From October 1987 to April 1988, green plants were sampled, from April to September 1988, when green plants were not found, dry plants and stumps were sampled.

The occurrence of adults was estimated indirectly in the field by counting the adult emergence holes in the stumps and dry plants. The percentage of adults emerged in each period was determined by successive sampling. Egg occurrence was estimated by combining the results of adult fertility from the fecundity table obtained in the laboratory and the percentage of adults that emerged in the field. The proportion of larvae and pupae was obtained by direct counts. The incidence of parasitoids was obtained by counting the cocoons inside stumps and their emergence from larvae.

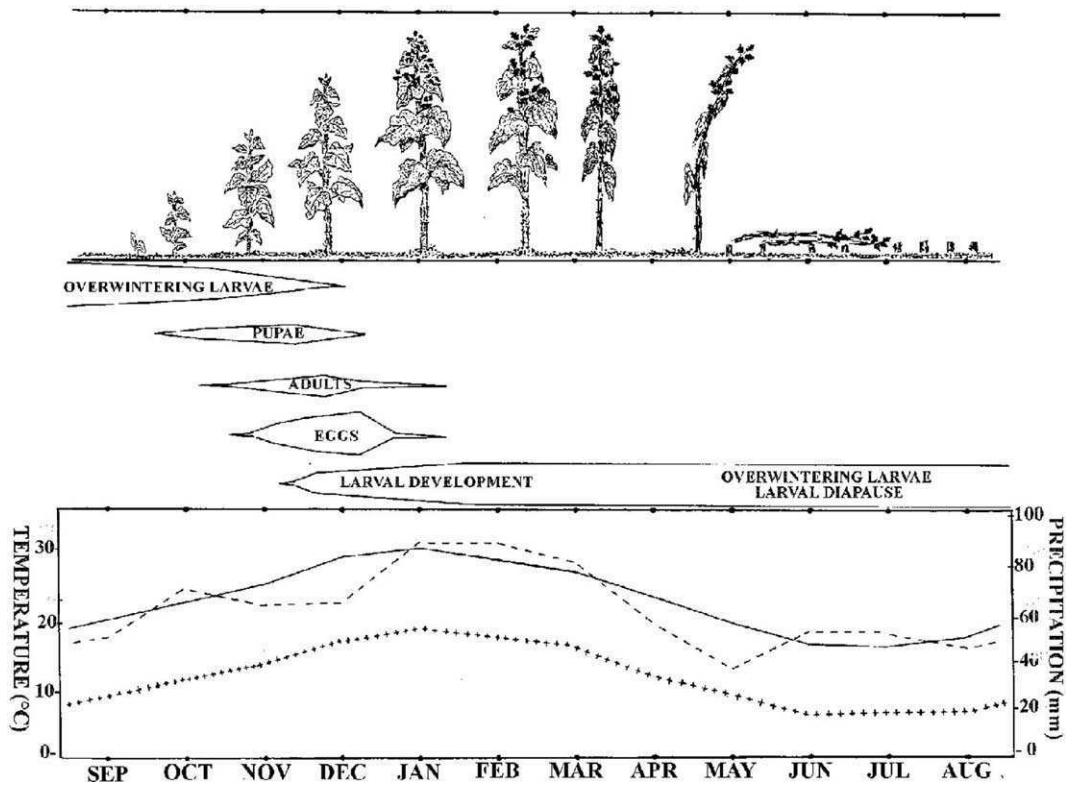


Fig. 1. Correlation of life cycle of *A. versicolor* and phenology of *Xanthium strumarium cavanillesii* with 10 year-mean monthly maximum (—) and mean monthly minimum (+++) temperatures and rainfall (---) (climate data from Estacion Castelar INTA, Buenos Aires, 1981–90).

During 1987–88 and 1988–89 the percentage of plants attacked by *A. versicolor* was estimated from 1061 and 1832 plants, respectively. About 300 plants of *X. s. cavanillesii* of different stages of development were collected in the field and dissected in the laboratory to determine the preferred oviposition sites.

The number of instars was established by measuring the width of the gula of larvae sampled in the field. In the laboratory, development of these larvae was continued in rearing chambers and the gula width was measured on exuvium and larvae after each molt. The width of the head capsule was not measured because the exuviae breaks at ecdysis. The gula also breaks, but does so in the middle and can be measured. The larval gula data were analyzed using Dyar's rule (Dyar, 1890).

2.2. Laboratory studies

Studies on fecundity, adult longevities, larval resistance to low temperature, and immersion, and calculation of the thermal constant for the pupal stage were conducted in the laboratory. We also studied the temperature required to end diapause in overwintering larvae.

The adults were collected by sweeping or with a vacuum sampler. Adults were confined in glass tubes (10 cm diameter \times 25 cm high) covered with a nylon mesh, and fed with fresh leaves and stems of *X. s. cav-*

anillesii. The maximum number of beetles per tube was 20. Eggs and the first instar were obtained by dissecting young plants, and the last instar (seventh) was obtained by dissecting mature fruiting plants, dry stems, and stumps. Pupae were found only in roots of dry plants or stumps. No diet was accepted by the first instar. Newly emerged larvae were transferred to bits of stems of *X. s. cavanillesii* until they reached at least the fourth instar. Fourth and older instars were fed artificial diet (Harley and Willson, 1968). Last instar (seventh) and pupae were reared individually in 34-ml plastic cups with paper lids, which were filled with moist tissue paper (3/4 of total volume) to provide a humid substrate. All the insects were held at 25–30 °C, 70–80% RH, and with a 14–10 L:D photoperiod.

2.3. Reproduction and longevity

Eighteen pairs of adults that emerged from field-collected pupae were used for the study. A pair was put in a glass tube (25-cm height, 11-cm diameter) with a potted plant of *X. s. cavanillesii*. The plant was used to feed the adults and to enable the females to oviposit. The plants were changed every 3 days, and the stems were dissected to count the eggs. The ovipositional behavior was analyzed under these conditions, and under field conditions. The length, width, survival, and the incubation period at 25 °C and 80% RH were measured on 50 eggs.

2.4. Development rate of pupae

The development rate was studied to facilitate the management of the culture, and to facilitate the potential introduction of the beetles from the southern hemisphere to the northern hemisphere. Last instar (seventh) larvae were placed in rearing chambers at 15, 20, and 25°C with 80% RH and 14–10 L:D photoperiod, and as they pupated, the development time was measured on 10 pupae at each temperature. The developmental threshold temperature and the thermal constant K were estimated by the x -intercept method using linear regression. The thermal constant K , expressed in degree-days, was calculated using the formula $K = y_i(t_i - z)$, where y_i is the average number of days to complete the pupal stage at the temperature t_i , and z is the developmental threshold temperature.

2.5. Resistance of overwintering larvae to cold and immersion

Since *X. strumarium* frequently occurs in areas likely to be flooded for several days, the ability of the insect to survive immersion was tested. Groups of 10 larvae were kept under tap water for different periods by two methods: (1) Larvae were removed from the roots and placed in small glass cylinders (15-mm diameter, 50-mm length), with nylon mesh covering both ends, and then submerged under 12 cm of water; (2) Girdled stumps containing larvae were collected undamaged and buried in a bucket of sand, leaving the stem uncovered. The bucket was then filled with water up to 12 cm above the level of the stems. In both cases, a constant temperature of $15 \pm 2^\circ\text{C}$ was maintained.

The response of the insect to low temperatures was tested to determine any limitations of the species to become established in some areas of the US. Diapausing larvae were removed from the roots, individually placed in sealed glass vials, and submerged in ethanol at a constant temperature. Groups of eight larvae were held at five different temperatures (+4, 0, -4, -8, and -14°C) for five periods (1, 3, 7, 10, and 13 days). Larvae were considered to have survived if they were alive 10 days after the experiment was finished.

2.6. Diapause

The life cycle of *A. versicolor* included a winter larval diapause. Larvae entered diapause at the beginning of autumn, and resumed their development after being exposed to low temperatures. The presence of diapause was determined by placing larvae of *A. versicolor* collected at the end of summer (they had not been exposed to temperatures below 15°C) in a chamber at 30°C. Less than 10% of larvae that were put in 30°C chambers continued their development and pupated (showing no

diapause), but the rest remained in the last larval instar (seventh) for at least 6 weeks. Tests were carried out in the laboratory to find the temperature required to break diapause. For this, at the end of the summer, 259 larvae were separated into 37 groups of 7 larvae each. One group was used as the control and was kept at 30°C. The remaining groups were exposed to six temperatures (-4, 0, 4, 8, and 12°C) for six time intervals (1, 2, 4, 8, 16, and 32 days), after which the larvae were placed in a rearing chamber at 30°C and 80% RH.

2.7. Geographic distribution

The distribution of *A. versicolor* in Argentina was determined by collecting larvae in the field from 77 sites from 1986 to 1989. Collections in the Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires City, Museo de La Plata, Buenos Aires Province, and in the Fundación Miguel Lillo, Tucumán Province were also examined.

2.8. Parasitism

A seasonal study of the parasitoids of *A. versicolor* was conducted in the area where the life cycle was performed. Larvae and pupae were reared individually in 34-ml cups to obtain parasitoids, and examined twice a week. During 1987–88 and 1988–89, 213 and 264 larvae of *A. versicolor*, respectively, were examined for parasitoids.

3. Results and discussion

3.1. Life cycle and seasonal occurrence

Adults appeared in the field from midspring (October, when *X. s. cavanillesii* plants were about 30–40 days old) to midsummer, with the greatest density occurring at the beginning of December (Fig. 1). The presence of eggs in the field coincided with this period. Females laid eggs individually inside the stems and the larvae bored the stems toward the root. In the fall, when plants became dry, the larvae girdled the stems, about 3 cm above the crown, causing the aerial part of the plant to fall over. The larval period in the field lasted 9–12 months, including diapause (Fig. 1). Larval development lasted 105–135 days, before last instar entered diapause. The last instar entered diapause in the stump and pupated there during the following spring (Fig. 1). Pupae were found from the beginning of October to the end of December. Peak populations occurred during the second half of November (Fig. 1). During 1987–88 and 1988–89, 22.9% and 59.0% of *X. s. cavanillesii* plants, respectively had either mature larvae or had the main stem bored by *A. versicolor*.

3.1.1. Adults

Adults had an average length of 8.37 ± 1.05 mm ($n = 54$). They were diurnal and mostly active between 10:00 a.m. and 4 p.m. Adults did little damage to host plants; they fed on veins and superficial adjacent tissues of the undersides of the leaves. Adults of both sexes stridulated if disturbed. In the laboratory, the average longevity was 18.5 days (range 8–44, $n = 36$). Difference in longevity between males and females was not significant ($t = -1.31$; $df = 34$; $P = 0.19$). Females laid an average of 38 eggs each (range 12–116), 66% of which was oviposited during the first week (Fig. 2).

Females oviposited in the stems around the axils of petioles and secondary branches. At the selected site, they broke the outer tissue of the plant with their mandibles and then made a puncture with their ovipositor in the wound. The search for the oviposition site took 1–5 min and oviposition took 2–3 min. When the ovipositor was withdrawn, a small rounded scar (about 1 mm diameter) was observed on the stem surface. However, some females made the puncture with their ovipositor but did not deposit an egg. Although this behavior was not quantified, it was frequent enough to conclude that oviposition marks should not be used to estimate the number of eggs.

3.1.2. Eggs

Eggs were inserted 2–3 mm deep, parallel to the stem surface. When turgid, eggs were 1.31 ± 0.1 mm long and 0.48 ± 0.03 mm wide. Most were generally ovoid ($n = 39$), but some were cylindrical ($n = 11$). The mean incubation period was 10 days (range 9–11). Viability was estimated at 88%.

3.1.3. Larvae

In the laboratory, larvae had seven instars. The width of the gula appeared as a good indicator of instars since measured widths were not much different from expected values calculated using Dyar's ratio (Table 1). When the larva was ready to hatch from the egg, it made a series of longitudinal contraction-stretching movements that

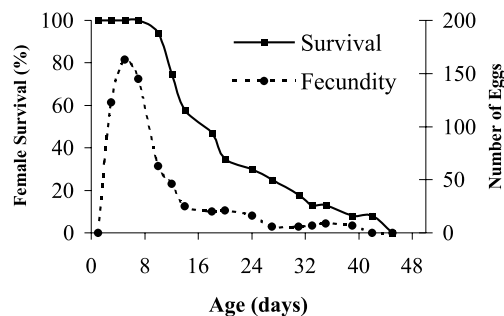


Fig. 2. Age-specific fecundity and survival of female *A. versicolor*. Survival is expressed in percentages, and fecundity is expressed by total number of eggs for each percentage of female survival.

Table 1

Comparison of observed (mode) and expected values of Gula widths (mm) of larvae of *A. versicolor*

Instar	Mode	Range	Expected ^a	Difference (%)
I	0.22	0.20–0.24	0.22	0.0
II	0.28	0.26–0.30	0.28	0.0
III	0.33	0.30–0.37	0.35	+6.1
IV	0.45	0.39–0.54	0.45	0.0
V	0.59	0.52–0.63	0.57	-3.4
VI	0.72	0.62–0.76	0.73	+2.8
VII	0.87	0.75–1.0	0.92	+6.1

^a Calculated from the mean of observed Dyar ratios ($r = 1.27$).

made the spines on the mandibles tear the chorion apically, producing an orifice through which the larva emerged. After hatching, the larvae started to feed in any direction, but after a few days they bored the stems toward the roots. In the field, multiple larvae in single-stemmed plants of *X. s. cavanillesii* showed a marked competitive exclusion due to cannibalism. This process triggered when two larvae met and was observed in both young and mature larvae. Toward the end of fall, the last instar larvae chewed an inner circular girdle at the base of the stem. Therefore, wind or a passing animal could then break off the dry stem, leaving a stump (which included the root and a small basal part of the stem). Inside the stump, the larva was protected from the outside by a plug of chewed wood fibers. By the time the plants fell over due to the larval girdling, the plants were dead and the burs were mature. The average height of the girdled cut was 3.5 ± 1.5 cm ($n = 114$ plants) above the ground level. Inside the stump, the larva entered diapause.

The girdling behavior of the last instar may have an adaptive value. The stump may provide larvae with shelter from weather conditions and to escape from predation. Girdling and the fiber plug may decrease colonization by additional larvae and thus prevent intraspecific competition for pupation space and cannibalism. It may also decrease the availability of the pupa to predators (e.g., ants). Prior to pupation, the larva became rigid and made circular twisting movements around its longer axis. In the laboratory, *A. versicolor* reduced 66% of the seed production when it attacked 45-day-old plants of *X. s. cavanillesii*. However, fruit reduction decreased to 23% in 75 days-old attacked plants (Gandolfo et al., 1997).

3.1.4. Pupae

Pupation occurred in the stumps. The pupal stage lasted 23.1 ± 2.2 at 20°C, 13.3 ± 2.0 at 25°C, and 8.7 ± 1.1 at 30°C. The lower threshold for pupal development was 11.7°C, the constant K for the pupa was 154 degree-days. The regression line used to estimate the development threshold temperature is given in Fig. 3.

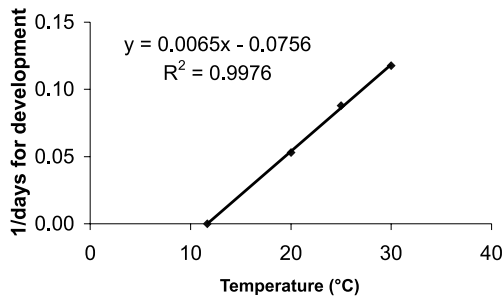


Fig. 3. Temperature requirement for *A. versicolor* to complete the pupal stage; lower threshold for development = 11.7°C ($K=154$ degree-days).

3.2. Resistance of overwintering larvae to cold and immersion

All larvae were alive after 13 days at 4 and 0°C. Six (75%) larvae were alive after 13 days at -4°C. The survival rate decreased at -8°C with increasing exposure time from 100% at 1 day, to 88% at 3 days, and 37.5% after 13 days. Two larvae (25%) lived 1 day at -14°C, and none survived after 3 days or more at this temperature (Table 2).

Overwintering larvae survived for at least 20 days when submerged under water regardless of whether they were removed from the stumps and placed in glass vials, or retained in the girdled stumps (Table 3). No difference between the results of the two tests was detected. Thus, we conclude that larvae are adapted to survive immersion. In spite of the ability of the larvae to survive immersion, long-lasting floods are an important abiotic factor of mortality. During 1988 and 1989, when floods occurred at the beginning of the summer, the plants close to shore died and consequently the young larvae died of starvation.

3.2.1. Diapause

Results were incomplete because out of the 259 initial larvae in the test, less than 10% reached the pupal stage. A pathogen infected more than 60% of the larvae and the parasitoid *Nealiohus* sp. emerged from 30% of the larvae. Nevertheless, results showed that larvae exposed to temperatures between 0 and 12°C for at least 4 days

Table 2
Survival of overwintering larvae of *A. versicolor* at five temperatures^a

Exposure (days)	Larvae (%) that survived at each temperature				
	+4°C	0°C	-4°C	-8°C	-14°C
1	100.0	100.0	100.0	100.0	25.0
3	100.0	100.0	100.0	87.5	0.0
7	100.0	87.5	100.0	50.0	0.0
10	100.0	100.0	87.5	62.5	–
13	100.0	100.0	75.0	37.5	–

^a Eight larvae tested for each treatment.

Table 3
Survival of overwintering larvae of *A. versicolor* under six submersion regimes^a

Submergence (days)	No. of surviving larvae	
	Inside roots	In glass vial
3	9	10
5	10	10
7	9	10
10	9	8
15	10	10
20	10	10

^a Ten larvae tested in each treatment.

and then exposed to 30°C pupated in 5.3 ± 1.4 weeks ($n = 13$). The larvae used as controls and those exposed to low temperatures for 1–2 days took a significantly longer time ($F = 27.73$; $df = 1, 18$; $P < 0.05$) to reach the pupal stage, 8.3 ± 0.8 weeks ($n = 7$).

3.3. Geographic distribution

In Argentina, *A. versicolor* was found from the north of the country, Salta Province, (22°S) down to Rio Negro Province (40°S) (Fig. 4). *A. versicolor* was collected from all the main phytogeographical regions: Yungas (subtropical rain forest), Chaco (forest), Monte (desert), and Espinal (ecotone between forest and desert), except from the Patagonian plateau.

3.4. Seasonal occurrence of parasitoids in Buenos Aires

In the collecting site near Hurlingham where the field studies were carried out, the larvae of *A. versicolor* were found parasitized by *Nealiohus* n. sp. (Hymenoptera: Braconidae), *Agonocryptus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), and *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae).

Between October 1987 and January 1988, 40 (18%) larvae of *A. versicolor* were parasitized by *Nealiohus* n. sp., and in 1988–89, 162 (61.5%) larvae were parasitized (Table 4). Parasitism by *Bracon* sp. and *Agonocryptus* sp. was less than 5% during the two seasons in which samples were taken (Table 4). Adults of *Bracon* sp. emerged from mid-March to early April, when plants of *X. s. cavanillesii* started to dry. Adults of *Agonocryptus* sp. emerged from mid-November to late December. *Agonocryptus* sp. emerged only from larvae collected in spring, not from larvae sampled during fall and winter.

Studies conducted in the laboratory showed that *Nealiohus* n. sp. left its host as a larva and pupated a few days later (5.0 ± 2.2 ; $n = 10$) in a cocoon inside the roots. The adult took 15 days ($n = 36$), range 11–21 days, to emerge at 30°C. The larvae of *A. versicolor* were parasitized in early instars, but the parasitoid larvae emerged from overwintering larvae of *A. versicolor*. Parasitoids of pupae and adults of *A. versicolor* were not found.

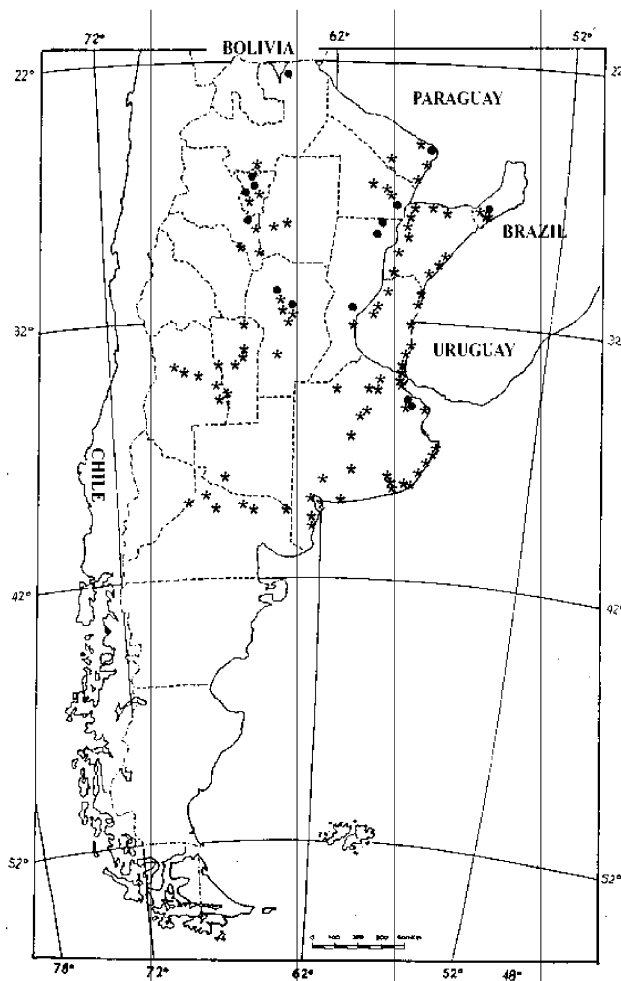


Fig. 4. Distribution of *A. versicolor* in Argentina, data from field collections (*) and museum records (●).

Table 4

Occurrence and abundance of parasitoids of *A. versicolor* in Buenos Aires, Argentina

Parasitoids	Parasitoids emerged n (%)	
	1987/88 ^a	1988/89 ^b
<i>Nealiohus</i> sp.	40 (18)	162 (61.5)
<i>Agonocryptus</i> sp.	5 (2)	12 (4.5)
<i>Bracon</i> sp.	0 (0)	11 (4.2)

^a In 1987–88, 23% of 1000 randomly selected plants of *X. s. cavaniillesii* were infested with *A. versicolor*; 213 larvae were examined for parasitoids.

^b In 1988–89, 59% of 1800 randomly selected plants of *X. s. cavaniillesii* were infested with *A. versicolor*; 264 larvae were examined for parasitoids.

4. Conclusion

We conclude that *A. versicolor* has several biological attributes that suggest that it could be an effective biological control agent for *Xanthium* spp.: (1) 45-day-old

plants infested by *A. versicolor* reduced fruit production by 66%; attack of younger plants caused the plants to die (Gandolfo et al., 1997); (2) the insect is cold and immersion tolerant; (3) it has a wide phylogeographical distribution, from tropical forest to desert, and (4) has diapause, which is important since the host is an annual weed that dries up in winter.

Acknowledgments

The authors thank Luis De Santis (Universidad Nacional de La Plata) for identifying the parasitoids of *A. versicolor* and Angel Cabrera (Instituto Darwinion), for identifying *Xanthium* spp. They also thank Martín Carranza for assisting with the laboratory and field experiments; C. Jack DeLoach (Temple, TX, USDA-ARS) and Karen Braun, who provided advice in the preparation of the manuscript, and Arabella Bugliani, who improved the readability of the manuscript.

References

- Barrentine, W.L., 1974. Common cocklebur competition in soybeans. *Weed Sci.* 22, 600–603.
- Barrentine, W.L., Oliver, L.R., 1977. Competition, threshold levels and control of cocklebur (*Xanthium strumarium*) in soybeans. *Mississippi Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.* 83, 1–28.
- Bloomberg, J.R., Kikpatrick, B.L., Wax, L.M., 1982. Competition of common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) with soybean (*Glycine max*). *Weed Sci.* 30, 507–513.
- Bosq, J.M., 1943. In: “Segunda lista de Coleopteros de la Republica Argentina dañinos a la agricultura.” *Ingenieria Agronomica*, vol. IV. Ministerio de Agricultura de la Nación, Buenos Aires, pp. 18–22.
- Charudattan, R., DeLoach, C.J., 1988. Management of pathogens and insects for weed control in agroecosystems. In: Altieri, M., Liebman, M. (Eds.), *Weed Management in Agroecosystems*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 245–264.
- Cole, R.J., Stuart, B.P., Landsen, J.A., Cox, R.H., 1980. Isolation and redefinition of the toxic agent from cocklebur (*Xanthium strumarium*). *J. Agric. Food Chem.* 28, 1330–1332.
- Cooley, A.W., Smith, D.T., 1973. Germination and emergence of buffalobur, morning glory and cocklebur. *Texas Agric. Exp. Stn. PR 3197–3209*, College Stn., TX, pp. 11–14.
- Dyar, H.G., 1890. The number of moults of Lepidopterous larvae. *Psyche* 5, 45–182.
- Gandolfo, D.E., Logarzo G.A., Cordo, H.A., 1997. *Apogomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae), candidato para el control biológico de *Xanthium strumarium* (Compositae) en los EE. UU.: Estimación del daño en laboratorio. *Rev. Soc. Argen. Entomol.* 56, 147–150.
- Geddes, R.D., Scott, H.D., Oliver, L.R., 1979. Growth and water use by common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) and soybean (*Glycine max*) under field conditions. *Weeds Sci.* 27, 206–212.
- Harley, K.L.S., Willson, B.W., 1968. Propagation of a cerambycid borer on a meridic diet. *Can. J. Zool.* 46, 1265–1266.
- Hicks, A.J., 1971. Systematic studies of *Xanthium* (Compositae: Ambrosiidae); the cocklebur of Tazewell Country, Illinois. Ph.D. Dissertation, University of Illinois, Urbana.

- Hocking, P.J., Liddle, M.J., 1986. The biology of Australian weeds: 15. *Xanthium occidentale* Bertol. complex and *Xanthium spinosum* L. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 52, 191–221.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V., Herberger, J.P., 1977. The World's Worst Weeds. East–West Center, University Press Hawaii, Honolulu.
- Julien, M.H., Griffiths, M.W., 1998. Biological Control of Weeds: A World Catalogue of Agents and their Target Weeds. CABI Publishing, Oxon, UK.
- King, L.J., 1966. Weeds of the World. Biology and Control. Interscience Publishers, New York.
- Lane, F., 1974. A synopsis of Dr. Gilmour's synopsis of the Tribe Aerenicini (Coleoptera: Cerambycidae). *Studia Entomol.* 17, 349–377.
- Love, D., Dansereau, P., 1959. Biosystematic studies on *Xanthium*: taxonomic appraisal and ecological status. *Can. J. Bot.* 37, 173–208.
- Marzocca, A., 1976. "Manual de Malezas." Ed. Hemisferio, Sur Buenos Aires.
- McMillan, C., 1975. The *Xanthium strumarium* complexes in Australia. *Aus. J. Bot.* 23, 173–192.
- McWhorter, C.G., Hartwig, E.E., 1972. Competition of Johsongrass and cocklebur with six soybean varieties. *Weed Sci.* 20, 56–59.
- Millspaugh, C.F., Sherff, E.E., 1919. Revision of the North American species of *Xanthium*. *Field Mus. Nat. Hist. Pub. Bot. Ser.* 4, 9–49.
- Nadeau, L.H., 1961. Etude Biosystematique sur le genre *Xanthium*. Ph.D. Dissertation, University of Montreal, Canada.
- Quimby Jr., P.C., 1983. Host range of *Alternaria helianthi*. In: Proceedings of the 36th Annual Meeting of South. Weed Science Society, 36, p. 356.
- Ragonese, A.E., Milano, V.A., 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la flora argentina. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardineria.* (Ed. Acme S.A.C.I.) Tomo 2. Fasc. 8, 413.
- Rosillo, A.M., 1944. Enumeracion de insectos vinculados a la economia de Entre Rios. (Primera Parte: Coleoptera) *Memorias Museo Entre Rios, Argentina No. 22 Zoologia.*
- Seddon, H.R., King, R.O., 1938. Noogoora burr (*Xanthium chinense*), poisonous for stock in very early stages of growth. *Department of Agriculture, N.S.W. Vet. Rept.* 7, pp. 107–108.
- Vargas, R., 1984. Weed management systems for cotton. In: Proceedings of the 36th Annual California Weed Conference, pp. 52–62.
- Wapshere, A.J., 1974. An ecological study of an attempt at biological control of noogoora burr (*Xanthium strumarium*). *Aust. J. Agric. Res.* 25, 275–292.
- Weaver, S.E., Lechowicz, M.J., 1983. The biology of Canadian weeds. 56. *Xanthium strumarium* L. *Can. J. Plant Sci.* 63, 211–225.
- Widder, F.J., 1923. Die Arten der Gattung *Xanthium*. *Beih. Rept. Spec. Nov. Regni Veg. Bd.* 20, 222 (Verlag des Repertorium: Dahlem bei Berlin).

NOTA CIENTÍFICA

Análisis del Voltinismo y la Diapausa en Poblaciones de *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) en el Gradiente Latitudinal de su Distribución en la Argentina

LOGARZO, Guillermo y Daniel E. GANDOLFO

USDA-ARS South American Biological Control Laboratory. Bolivar 1559.
1686 Hurlingham, Argentina; e-mail: glogarzo@mail.retina.ar**Voltinism and Diapause in Populations of *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) in the Distribution of its Latitudinal Gradient**

■ **ABSTRACT.** *Apagomerella versicolor* (Boheman), a long horn stem-borer beetle of the host genera *Pluchea*, *Xanthium*, and *Ambrosia* (Asteraceae). In Argentina, it occurs between 25 and 39° S. Studies conducted in Buenos Aires (35° S) indicated that *A. versicolor* is univoltine and has a winter diapause, and also indicate that diapause larvae exposed to low temperatures broke the diapause. However, some observations suggested that populations from northern Argentina could be bi or multivoltine and did not diapause. The voltinism and the diapause of *A. versicolor* were studied along its latitudinal distribution, between 25 and 32° S. We conducted an experiment to identify diapause presence; larvae collected at different latitudes were separate in two groups, one of them were exposed to low temperatures to break the diapause, the other one was control. Those diapausing larvae that received cold treatment should pupate in a shorter time than those that did not receive it. In addition, ten collecting trips were made in January, March, July, August, October and December in different years in the study area to observe the immature stages present in its main hosts, *Pluchea sagittalis* Cabr. and *Xanthium cavanillesii* Schouw, at different latitudes. It was found evidence that *A. versicolor* is at least bivoltine between 25 ° and 27 ° S, and it does diapause at latitudes over 31° S. The influence of the biology of the host plants on voltinism and diapause is discussed here.

KEY WORDS. Cerambycid. Geographic races. Stem-borer. Asteraceae. *Xanthium cavanillesii*. *Pluchea sagittalis*

■ **RESUMEN.** *Apagomerella versicolor* es un cerambícido cuyas larvas barrenan los tallos de plantas compuestas de los géneros *Xanthium*, *Ambrosia* y *Pluchea* (Asteraceae). En la Argentina se distribuye entre los 25° y 39° de LS. Estudios sobre la biología de este insecto realizados con poblaciones de los alrededores de Buenos Aires (35° S), indicaban que era una especie univoltina con diapausa larval durante el invierno y que se podía inducir la salida del estado de diapausa exponiendo las larvas a bajas temperaturas. Sin embargo algunas observaciones sugerían que poblaciones del norte del país podían ser bi o multivoltinas sin diapausa larval. En este trabajo estudiamos el voltinismo y la diapausa en una clina latitudinal entre los 25 y los 32° de LS. Se realizó un ensayo para revelar la presencia de diapausa en las distintas latitudes, para ello, larvas de distintas latitudes fueron separadas en dos grupos, uno fue expuesto a un tratamiento de bajas temperaturas para romper la diapausa y el otro fue utilizado como control. Aquellas larvas que presentaran diapausa y recibieran un tratamiento de frío deberían empupar más rápidamente que aquellas que no fueron tratadas. Además se realizaron 10 viajes al área de estudio en los meses de enero, marzo, julio,

agosto, octubre y diciembre en distintos años donde se revisaron las principales plantas huéspedes: *Pluchea sagittalis* Cabr. y *Xanthium cavanillesii* Schouw. Se observaron los estadios inmaduros presentes en las diferentes plantas según la latitud. La evidencia encontrada sugiere que *A. versicolor* es al menos bivoltina entre los 25° y los 27° de LS y que presenta diapausa en latitudes mayores a los 31°. Se discute la influencia de las plantas huéspedes sobre el voltinismo y la diapausa larval en poblaciones de *A. versicolor*.

PALABRAS CLAVE. Cerambícido. Razas geográficas. Asteraceae. Barrenador de tallos. *Xanthium cavanillesii*. *Pluchea sagittalis*

Apogomerella versicolor (Boheman) es un cerambícido barrenador de tallos de los géneros *Pluchea* Cass., *Xanthium* L., y *Ambrosia* L. (Asteraceae) que se distribuye en la Argentina entre los 25° y los 39° S. Este insecto presenta un patrón latitudinal de utilización de sus plantas huéspedes: *Pluchea sagittalis* Cabr. (perenne) fue utilizada exclusivamente entre los 25° y 29° S, todas sus plantas huéspedes (siete especies) entre los 29° y los 39° S, y *Pluchea absinthioides* (Hook & Argot) (perenne) al sur del paralelo 39° S (G. L. datos no publicados).

Logarzo *et al.* (2002) estudiaron su biología en Buenos Aires sobre una de sus plantas huéspedes, *Xanthium cavanillesii* Schouw. Estos autores encontraron que los adultos están presentes en el campo desde mediados de la primavera hasta mediados del verano. Las hembras ponen huevos en forma individual dentro de los tallos. Después de su emergencia, las larvas barrenan los tallos y se dirigen hacia las raíces donde empupan. El período larval en el campo dura entre nueve y 12 meses incluyendo el período invernal, el cual pasa en diapausa como larva del 7° estadio (último). Las pupas se encontraron entre octubre y diciembre.

Durante el estudio de la biología de *A. versicolor* se observó que el 90% de larvas recolectadas en Buenos Aires a fines del verano (no expuestas previamente a temperaturas menores a los 15°C) y colocadas en una cámara de cría a 30°C permanecieron en el último estadio larval (séptimo) un mínimo de seis semanas antes de empupar. Por otro lado, larvas recolectadas en el mismo sitio en junio (y puestas en cabina a 30°C) alcanzaron el estado de pupa en dos semanas, sugiriendo la presencia de diapausa. A partir de estas observaciones se estudió la diapausa de *A. versicolor* y se encontró que las larvas al pasar al último estadio entraban en diapausa y que las condiciones necesarias para que continuaran su desarrollo eran exposiciones a temperaturas entre 0 y 12°C por, al menos, cuatro días. Larvas expuestas a este tratamiento empuparon en $5,3 \pm 1,4$ semanas. Larvas sin exposición al frío, o

expuestas a bajas temperaturas por 1-2 días tardaron en alcanzar el estado de pupa, $8,3 \pm 0,8$ semanas (Logarzo *et al.*, 2002).

A partir de este estudio se postuló la hipótesis que *A. versicolor* era una especie univoltina y que presentaba diapausa en toda su distribución geográfica. Sin embargo, en recolecciones realizadas al norte del paralelo 29° S se encontraron adultos en marzo sobre *P. sagittalis* Cabr., indicando que *A. versicolor* podría presentar más de una generación anual en esta planta y por lo tanto ausencia de diapausa en esa área.

El objetivo de este trabajo fue establecer el tipo de voltinismo de *A. versicolor* y la presencia de diapausa a lo largo del gradiente latitudinal en su distribución geográfica.

Para ello se realizaron recolecciones de estados inmaduros de *A. versicolor* a lo largo de su distribución latitudinal (25° y los 33° S) en enero marzo, julio, agosto y octubre de 1989, julio y diciembre de 2003 y enero y marzo de 2004 sobre plantas de *P. sagittalis* y *X. cavanillesii* (las principales plantas huéspedes). En cada sitio se revisaron entre 50 y 100 plantas de cada especie de acuerdo a su disponibilidad.

Estos muestreos en diferentes épocas del año, a lo largo del gradiente latitudinal de la distribución del insecto, mostraron que entre los 25° y los 27° S se encontraron pupas entre agosto y marzo. En Makallé (Chaco) (27° 12' S) se hallaron tres pupas de *P. sagittalis* recolectadas en agosto. En Clorinda (Formosa) (25° 17' S) también se observó evidencias de una pupación temprana en marzo. En dicho mes en Clorinda 20 de las 70 plantas de *P. sagittalis* revisadas, rebrotadas en la primavera anterior, tenían orificios de emergencia de *A. versicolor*, lo que revelaba que en esa población, las larvas de *A. versicolor* no tenían diapausa, al menos en una primera generación. Durante ese muestreo se detectaron adultos de *A. versicolor*.

El muestreo de Clorinda de finales del verano mostró un patrón de comportamiento, en las larvas del último estadio de la primera generación,

que difería con el de larvas de otras latitudes. En todas las localidades estudiadas y sobre todas las plantas huéspedes, excepto en el caso de Clorinda, las larvas del último estadio realizan (en todas sus plantas huéspedes) un corte interno y circular en el tallo a la altura de la corona (aproximadamente a 5 cm sobre el nivel del suelo) que genera una zona anular de fractura, sin que se desprenda la parte aérea de la planta (que sigue conectada a la raíz). Después de realizado el corte anular, la larva coloca un tapón de viruta a la altura del corte y permanece en la porción inferior del tallo y la raíz hasta la emergencia del adulto. Durante el invierno, toda la parte aérea de la planta cae por la acción del viento o el paso de los animales, dejando un pequeño tocón (Logarzo *et al.* 2002). En las plantas de *P. sagittalis* revisadas en Clorinda en marzo, las larvas de *A. versicolor* no realizaron cortes internos de fractura, permitiendo de esa manera que las plantas pudieran ser re-infestadas por las hembras de una segunda generación.

En el resto de las poblaciones estudiadas entre los 27° y los 32° S, sólo estuvieron presentes larvas del último estadio entre marzo y septiembre. Desde mediados del otoño las larvas fueron recolectadas solo en los tocones.

Complementariamente se realizó un experimento de remoción de diapausa que consistió en exponer a bajas temperaturas larvas de los últimos estadios provenientes de todos los manchones encontrados ($n=35$) de *P. sagittalis* y *X. cavanillesii* desde Clorinda (Formosa) hasta Colón (Entre Ríos) en marzo de 1989.

A aquellas larvas que no poseyeran diapausa y se les aplicara este tratamiento no modificarían el tiempo de pupación. Por el contrario, larvas en diapausa a las que se les aplicara el tratamiento de bajas temperaturas acortarían el tiempo de pupación. En el laboratorio, las larvas fueron colocadas individualmente en vasitos de acrílico (34 ml) con $\frac{3}{4}$ partes de su volumen conteniendo papel tissue humedecido. Para el tratamiento de remoción de diapausa la mitad de las larvas recolectadas en cada sitio (129 larvas) se expusieron a una temperatura de 10 ± 1 °C por 12 días. Pasado ese período se las pasó a una cabina con una temperatura de 30 ± 2 °C hasta alcanzar el estado pupa (81 alcanzaron el estado pupa). A la otra mitad de las larvas, el control, se las colocó en una cabina a temperatura de 30°C desde el momento de su recolección (84 alcanzaron el estado pupa). Las larvas fueron revisadas cada 2-3 días, y se registró para cada una el tiempo que tardó en alcanzar el estado pupa. En todos los casos la HR fue de 70-80%.

Se aplicó un test de student de una cola en los tiempos de pupación agrupados por bandas latitudinales de 1 grado, donde la hipótesis alternativa establecía que el tratamiento de frío acortaba los tiempos de pupación.

Se observó que los tiempos de pupación se incrementaban con la latitud en todos los casos (Tabla 1). Estas variaciones están claramente asociadas a las clinas latitudinales de temperatura. Se encontró una gran variación en el número de repeticiones y una alta dispersión en los tiempos de pupación en todas las bandas latitudinales. Para la única banda latitudinal que se encontró evidencia de diapausa fue en la de 31° S, donde las diferencias entre los tiempos de pupación fueron de 27,1 y 39,4 días para el tratamiento y el control respectivamente ($t = -2,50$, $g.l. = 24$, $P = 0,01$).

El análisis de regresiones entre la latitud y los tiempos de pupación, tanto en las larvas del tratamiento ($R^2 = 0,15$, $F = 13,51$, $gl = 1, 74$, $P = 0,0004$) como en las del control ($R^2 = 0,34$, $F = 42,74$, $gl = 1, 81$, $P = 0,0000$), fueron significativas. Sin embargo, las bandas de confianza se solaparon sugiriendo que podrían pertenecer a una misma población de datos. El análisis de regresión sólo sugiere que estudios más detallados podrían arrojar resultados más concluyentes.

A partir de los datos de este estudio se pudo establecer que las poblaciones de *A. versicolor* de Clorinda presentan un mínimo de dos generaciones y que, al menos, la primer generación no tiene diapausa. La presencia de la diapausa en latitudes más altas no se pudo establecer a través del experimento realizado. Sin embargo, las recolecciones de estados inmaduros mostraron que probablemente esté presente. Otro resultado destacado de este estudio es que el bivoltinismo se observó sólo en larvas que se recolectaron en *P. sagittalis*, sugiriendo que estas características poblacionales están ligadas a esta planta huésped. Se sabe que la calidad alimenticia de la planta huésped influye en el voltinismo y la diapausa (Usua, 1973, Scheltes 1976, Hunter & McNeil 1997) y este factor combinado con otros factores físicos como fotoperíodo o temperatura podrían estar regulándolo. Es probable que plantas de *P. sagittalis* que no sufran heladas invernales sirvan como sustratos de oviposición para hembras de *A. versicolor* de la segunda generación, e indudablemente esto sucederá en las poblaciones de latitudes más bajas. Pero no con plantas huéspedes anuales como *Xanthium* que indefectiblemente mueren durante el invierno y no podrían servir para hospedar huevos de una

segunda generación de *A. versicolor*. En este caso la presencia de diapausa es favorecida por la selección. Este estudio no pudo responder si *A. versicolor* presenta o no diapausa en el norte de

la Argentina, experimentos más exhaustivos utilizando larvas recolectadas en Clorinda en el verano y el otoño podrían brindar esta respuesta.

Tabla 1. Medias y desviaciones estándar para los tiempos de pupación de las larvas con tratamiento para salir de la diapausa y control (sin tratamiento).

Latitud	Tratamiento (salida diapausa)			Sin frío (control)			
	n	Media (días)	DE	n	Media (días)	DE	
25° 00'- 25° 59'	2	10,00	8,48	5	13,40	9,18	n.s.
26° 00'- 26° 59'	8	15,88	12,00	12	13,00	7,59	n.s.
27° 00'- 27° 59'	29	18,00	10,91	23	12,83	8,10	n.s.
29° 00'- 29° 59'	13	19,31	6,15	28	20,32	8,68	n.s.
30° 00'- 30° 59'	7	24,71	10,72	6	31,67	18,37	n.s.
31° 00'- 32° 20'	17	27,06	9,79	9	39,44	15,58	P=0,02

AGRADECIMIENTOS

A Laura Varone por su asistencia en la recolección del material estudiado. A María Gabriela Luna y a un revisor anónimo por la lectura crítica del manuscrito y las valiosas sugerencias brindadas para mejorarlo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- HUNTER, M. D. & J. N. MCNEIL. 1997. Host quality influences diapause and voltinism in a polyphagous insect herbivore. *Ecology* 78: 977-986.
- LOGARZO, G. A.; D. E. GANDOLFO & H. A. CORDO. 2002. Biology of *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a Candidate for Biological Control of Cocklebur (*Xanthium* spp.) in U.S. *Biological Control* 25: 22-29.
- SHELTER, P. 1976. The role of graminaceous host-plants in the induction of aestivation-diapause in the larvae of *Chilo zonellus* Swinhoe and *Chilo argyrolepis* Hamps. *Symposia Biologica Hungaria* 16: 247-253.
- USUA, E. J. 1973. Induction of diapause in the Mazte stem-borer *Busseola fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 16: 322-328.

Recibido: 20-V-2005
Aceptado: 1-IX-2005

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Guillermo A. Logarzo
Agr Couns. ARS Lab
U. S. Embassy
Unit 4325 APO AA 34034-0001
USA
e-mail glogarzo@speedy.com.ar

**Host range of the stem borer *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae),
a candidate for the biological control of cocklebur, *Xanthium strumarium*
strumarium (Asteraceae), in the United States.**

GUILLERMO LOGARZO, DANIEL E. GANDOLFO, HUGO A. CORDO AND
MIGUEL A. CASALINUOVO

United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, South American
Biological Control Laboratory, Bolivar 1559 (1686), Hurlingham, Buenos Aires,
Argentina

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Abstract

The species of the *Xanthium strumarium* (cocklebur) complex are among the world worst weeds. Cocklebur is a summer annual weed that reproduces only sexually, and invades pastures, floodplains, and a great variety of cultivated crops. In Argentina the stem borer *Apagomerella versicolor* (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae) was the natural enemy selected with more potential as biological control agent. *Apagomerella versicolor*'s attack reduced 66% of fruit production in *X. strumarium cavanillesii* Schouw, and killed young plants. The host range of *A. versicolor* was studied to asses the potential of this insect for the biological control of cocklebur in the United States. The host range of *A. versicolor* was determined in the laboratory by an oviposition and larvae development non-choice test using 52 selected plants and in the field by surveying 17,130 plants in 58 species of Asteraceae. *Apagomerella versicolor* developed on 7 host plants in the Asteraceae family, *Xanthium s. cavanillesii*, *X. spinosum* L., *X. s. strumarium* L., *Ambrosia tenuifolia* Spreng., *A. scabra* Hook. et Arn. (Tribe Helianthea, sub-tribe Ambrosinae); and *Pluchea sagittalis* Cabr. and *Tessaria absinthioides* DC. (Tribe Inulea). In the field, *A. versicolor* showed a geographical host utilization pattern suggesting the presence of host races. Studies to establish the presence of races and their host plant preferences should be conducted to evaluate the potential of *A. versicolor* to control the *Xanthium* complex in the United States.

Keywords: Biocontrol, weed, *Xanthium*, cocklebur, South America, *Apagomerella versicolor*, Cerambycidae.

1 **Introduction**

2 The species of the *Xanthium strumarium strumarium* L (cocklebur) complex are
3 important weeds of tropical and subtropical areas, and are among the world worst weeds
4 (Holm *et al.* 1977). Cocklebur is a summer annual that reproduces only sexually, and
5 invades pastures, floodplains, and a great variety of cultivated crops (Cooley and Smith
6 1973, Barrantine 1974, Vargas 1984).

7 Since 1938, Australian researchers have been carrying out investigations in the
8 United States, India, and Pakistan to find natural enemies for biological control. Four
9 insect species were introduced and their combined action has resulted in some degree of
10 control or reduction in weed vigor. The rust *Puccinia xanthi* Schweinitz, introduced
11 accidentally from the U.S, produced an excellent control in some areas (Julien and
12 Griffiths 1998).

13 A search for natural enemies of *X. strumarium cavanillesii* Love and Dansereau,
14 the South American form of the *X. s. strumarium* complex, was conducted in Argentina.
15 Because of its abundance, and damage, the stem borer *Apagomerella versicolor*
16 (Boheman) (Coleoptera: Cerambycidae) was considered as the most promising candidate
17 for the biocontrol of cocklebur in the United States. The biology of this cerambycid
18 beetle was studied in Argentina (Logarzo *et al.* 2002).

19 *Apagomerella versicolor* is univoltine and adults appear in the field in early spring
20 in the study area, Buenos Aires Province, Argentina. Females laid one solitary egg in the
21 stems and the larva fed boring its way toward the root. The larval stage showed seven
22 instars. In early fall, larvae girdled the stem of the mature plant near the crown, causing
23 the dried aerial part of the plant to fall. Gandolfo *et al.* (1997) found that the damage

1 caused by the larvae was responsible for the reduction of 66% of fruit production in
2 *X.s.cavanillesii*, and the death of young plants, while adult damage is negligible (Logarzo
3 *et al.* 2002). The last instar entered diapause and pupated within the roots in dead and dry
4 plants until spring. Low temperatures ended diapause. Larvae of *A. versicolor* can survive
5 temperature exposure to -8 C^o, and water immersion for 20 days (Logarzo *et a.* 2002).

6 The aim of this study was to asses the host range of *A. versicolor*.

7

8 **Material and Methods**

9 The research was conducted at the USDA-ARS SABCL Hurlingham, Argentina,
10 between 1987 and 1991. The adults of *A. versicolor* used in the tests were collected as
11 mature larvae or pupae from areas infested with *X. s. cavanillesii* along the Río
12 Reconquista, 10-20 km away from SABCL. Last instar larvae (seventh) were obtained by
13 dissecting mature fruiting plants, dry stems, and stumps. Pupae were found only in roots
14 of dry plants or stumps. Collected larvae and pupae were reared individually in 34-ml
15 plastic cups with paper lids. The cups were filled with moist tissue paper (3/4 of total
16 volume) to provide humidity. The adults were maintained in cages with excised stems in
17 bouquets of *X. s. cavanillesii* where they fed and copulated freely. All the insects were
18 held at 25-30 °C, 70-80% RH, and with a photophase of 14-10 L: D photoperiod.

19 The host range of *A. versicolor* was determined in the laboratory by a non-choice
20 test for oviposition and larvae development and in the field by surveying Asteraceae
21 species for *A. versicolor* attack throughout its distribution area. Adults were not tested
22 because they produce negligible damage to the plants (Logarzo *et al.* 2002). A total of 52
23 plant species were selected for the tests with the following criteria: a) Plants

1 phylogenetically close to the genus *Xanthium*. b) Asteraceae of economical importance
2 related to *Xanthium*. c) Asteraceae that occurred in the same habitat as *Xanthium*.

3 Voucher specimens, insects and plants, were deposited in the entomological and
4 botanical collections of the SABCL.

5

6 *Oviposition and Larval Development Test. (Non choice Test).*

7 The tests were carried out in the laboratory yard from November to February
8 (summer) on potted plants. The plants were purchased from local nurseries, grown at the
9 laboratory, or transplanted from the field. Two mated females of *A. versicolor* were
10 enclosed in a voile bag on each test plant and left for 48 hs. Small and medium size plants
11 (20-40 cm high) were fully covered with the bag, for higher plants, only 1-2 brunches
12 were caged. Females did not lay eggs on rainy or cool days so if such conditions
13 occurred during exposure of plants to the adults, the period was extended to 72 hs. The
14 insects and the bags were removed and the plants were left in the garden until fall when
15 they were dissected for the presence of larvae. Five replications of each of the 52 selected
16 plants for the test were carried out except where stated otherwise.

17

18 *Field Host Range.*

19 A total of 17,130 plants of 58 species in the family Asteraceae were examined in
20 Argentina throughout latitude 25° to 39° S, the distribution range of *A. versicolor*
21 (Logarzo *et al.* 2002). Surveys were conducted in late summer, fall, and winter when
22 larvae reached last instar (seventh). Plants were checked for larvae by cutting the stem in
23 4-5 sites from the plant crown to the tip. When larvae were found, they were removed

1 and reared as described above. All plants examined had a stem diameter larger than 5mm,
2 the minimal required by the females to lay eggs (Logarzo *et al.* 2002).

3

4 **Results**

5 *Oviposition and Larval Development Test (Non choice Test).*

6 From the 52 plants tested, the females oviposited and the larvae developed to
7 adult stage on *Xanthium s. cavanillesii*, *X. s. strumarium* L., *X. spinosum* L., *Ambrosia*
8 *tenuifolia* Spreng., *A. scabra* Hook. et Arn. (Tribe Helianthea, subtribe Ambrosinae), and
9 on *Pluchea sagittalis* Cabr. and *Tessaria absinthioides* DC. (Tribe Inulea) (Table 1).
10 *Pluchea sagittalis* was the plant having more adults emerged (100%), followed by *X. s.*
11 *cavanillesii* and *X. spinosum* (90%), *X. s. strumarium* (80%), *A. tenuifolia* and *A. scabra*
12 (40%), and *T. absinthioides* (20%).

13 In the fall, when the testing plants were examined, a larva (2nd -3rd instar) was
14 found in a dry plant of *Helianthus annuus* L. The larva was transferred to a green *H. annuus*
15 plant and was placed in a greenhouse for overwintering. The following summer an
16 abnormal male of *A. versicolor* with about half of the size of an average male emerged
17 from the sunflower plant. Developmental time of this specimen was more than twice the
18 development time observed in any other host plant. After the emergence of this adult, 50
19 extra replications with *H.annuus* were conducted, and no attack of *A. versicolor* was
20 observed. No larvae of *A. versicolor* were found in any of the other plant species tested.

21

22 *Field Host Range.*

1 A total of 1,658 adults of *A. versicolor* emerged from material collected in 117
2 field sites in the following host plants and proportions: *Pluchea sagittalis* (44.3%), *X. s.*
3 *cavanillesii* (17%), *X. s. strumarium* (15.2%), *A. scabra* (11%), *X. spinosum* (7.8%), *T.*
4 *absinthioides* (6.7%), and *A. tenuifolia* (6.0%) (Table 2).

5 A geographical host utilization pattern was found in the field, suggesting the
6 presence of host races in *A. versicolor*. During the survey, north of parallel 28°, *A.*
7 *versicolor* was collected only on *P. sagittalis*. In that region, *A. versicolor* was never
8 collected as larvae on *X. s. cavanillesii*, *X. spinosum*, *X. s. strumarium*, *A. tenuifolia*, *A.*
9 *scabra* or *T. absinthioides* which occur in the area. Between 28- 39° parallels, *A.*
10 *versicolor* was collected on all host plants but *T. absinthioides*. South of parallel 39°, it
11 only attacks *T. absinthioides* although *X. s. cavanillesii*, and *A. tenuifolia* occur there.

12

13 **Discussion**

14 According to the laboratory test and the field survey *A. versicolor* developed in 7 host
15 plants in the Asteraceae family, genera *Xanthium* and *Ambrosia* in the tribe Helianthea,
16 sub tribe Ambrosiinae and *Pluchea* and *Tessaria* in the tribe Inulea. Up to this study, the
17 only host plant known for *A. versicolor* was *X. s. cavanillesii* (Bosq 1943, Rosillo 1944).
18 *Apagomerella versicolor* showed a dicotomic pattern of plant utilization regarding plant
19 phylogeny: tribes Heliantheae and Inulea. In addition, in the field, it showed a
20 geographical host utilization pattern suggesting the presence of host races. Preliminary
21 laboratory and field studies supported this hypothesis, and could explain the host
22 phylogenic dicotomic pattern of this insect (G. L. unpublished data).

23 Several insects that attack *Xanthium* in other parts of the world can also attack
24 *Ambrosia*, *Parthenium* or sunflower. *Ambrosia* species that occurs in the U.S. are

1 considered agricultural weeds (Whitson *et al.* 1991). *Parthenium* is a genus of the
2 Ambrosinae sub-tribe, and *A. versicolor* did not infest *P. hysterophorus* neither in the
3 laboratory nor in the field. It did not attack *P. argentatum* in the non-choice test. This
4 plant, a native species of the U.S., was used in the past for the production of rubber.
5 Seventy seven percent of the insects that attack *Xanthium* spp., also attacked wild
6 sunflower in United States (Hilgendorf and Goeden 1983), being this crop a crucial plant
7 to be tested in the host range studies. In our laboratory tests, an adult of *A. versicolor* was
8 obtained on sunflower. The larva showed great difficulties in progressing on this plant
9 needing twice as much the time to develop and it had to be artificially transferred to
10 another plant of sunflower. In addition, the size of the male obtained was half of the
11 regular size for males emerged in Buenos Aires. In 60 replications, *A. versicolor* was able
12 to attack only one plant of *H. annuus* under laboratory conditions. Some researchers stated
13 that insect feeding on non-target plants under laboratory conditions is not a reason for
14 rejection of potential biocontrol agents (Harris and Zwofler 1968, Wapshere 1989),
15 knowing that the host range can be distorted by the methodology. Wapshere (1989)
16 suggested that the insects cannot follow all behavioral steps under laboratory conditions
17 as they can under natural conditions, and therefore there may be a discrepancy between
18 laboratory and field results. Laboratory-determined host ranges may be much wider than
19 the natural ones (Claridge and Wilson 1978, Whitcomb *et al.* 1994). Argentina is one of
20 the main producers of sunflower in the world, with 20% of the world harvest, however,
21 *A. versicolor* is not a sunflower pest (Fonseca *et al.* 1979, Quintana & Abot 1987), and it
22 has never reported attacking sunflower in Argentina (Cordo *et al.* 2004).

23 In addition in field host range studies conducted in Argentina for the root borer
24 *Carmenta haemastica* (Ureta) (Lepidoptera: Sesiidae) (Cordo *et al.* 1995), and the stem
25 borer, *Heilipodus ventralis* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) (Cordo 1985) for
26 biological control of *Gutierrezia* spp. (Asteraceae) in the United States, more than 16.000
27 Asteraceae plants were examined, including 30 genera and 68 species. Although, some

1 collecting sites in Chubut, Mendoza, and Río Negro are outside of the geographic range
2 of *A. versicolor*, no *A. versicolor* adults or larvae were obtained from the examined
3 plants.

4 *Xanthium s. strumarium* is not native to Argentina, and since its introduction in
5 the last 80's became a weed. In the field, *A. versicolor* used *X. s strumarium* as host, and
6 under laboratory conditions, the females oviposited and the larvae developed on this
7 plant. Finally, the host genera of *A. versicolor*, include weeds, and some species were
8 target for biological control projects like *Ambrosia artemisiifolia*, *A. psilostachya*, and
9 *Pluchea odorata* (Julien and Griffiths 1998).

10 Because of the geographic host range and the probable presence of host races, the
11 potential of *A. versicolor* is controversial. There is a strong debate regarding nontarget
12 effects of the biological control agents, particularly about the possibility of a host range
13 expansion towards native species (Ehler 2000, Stiling and Simberloff 2000). For instance,
14 insects used for biocontrol of *Xanthium* have also attacked other plant genera (Wapshere
15 1974) and the weevil *Rhinocyllus conicus* (Coleoptera: Curculionidae) originally
16 introduced in the United States for the control of introduced thistles, has expanded its
17 host range against native thistles in United States (Louda 2000).

18 The field data shows that *A. versicolor* has a geographical pattern of plant usage,
19 suggesting the presence of host races, though at the laboratory studies *A. versicolor*
20 seemed to prefer *P. sagittalis*. Studies to establish the presence of races and their host
21 plant preferences should be done to evaluate the potentiality of *A. versicolor* to control
22 *Xanthium* complex in the United States. If host races are proved to be true, then only

- 1 those races that prefer *Xanthium* over the other hosts may be potential control agents for
- 2 *Xanthium*. Additional studies on sunflower should be conducted on this host race.

1 **Acknowledgments**

2 The authors thank Angel Cabrera (Instituto Darwinion), for identifying plant specimens.

3 They also thank Juan Briano and Karen Braun, who provided advice in the preparation of

4 the manuscript and two anonymous reviewers for thoughtful comments on the

5 manuscript.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

1 References

2

3 Barrantine, W. L. 1974. Common cocklebur competition in soybeans. *Weed Sci.* 22; 600-
4 603.

5 Bosq, J. M. 1943. “Segunda lista de Coleopteros de la República Argentina
6 dañinos a la agricultura”. *Ingeniería Agronómica* Vol. IV: 18-22, Ministerio de
7 Agricultura de la Nación, Buenos Aires.

8 Claridge, M. F. & M. R. Wilson. 1978. Seasonal changes and alternation of food plant
9 preference in some mesophyll-feeding leafhoppers. *Oecologia* 37: 247-255.

10 Cordo, H. A. 1985. Host specificity of the Argentine weevil *Heilipodus ventralis*, for the
11 biological control of snakeweeds (*Gutierrezia* spp.) in the U. S. In “Proceedings of
12 the VI International Symposium Biological Control of Weeds, Vancouver, Canada,
13 19-25 August 1984” E. S. Delfosse, Ed.), pp 709-720. Agric. Canada, Canadian Print.
14 Centre, Ottawa.

15 Cordo, H. A., C. J. De Loach, & R. Ferrer. 1995. Host range of the Argentine borer
16 *Carmenta haematica* (Ureta) (Lepidoptera: Sesiidae), a potential biocontrol agent of
17 snakeweeds (*Gutierrezia* spp.) in the United States. *Biological Control* 5, 1-10.

18 Cordo H. A., G. A. Logarzo, K. Braun, & O. E. Di Iorio. 2004. Catalog of phytophagous
19 insects of Argentina and their associated plants. 720 pp. Sociedad Entomológica
20 Argentina, San Miguel de Tucumán, Argentina.

21 Cooley, A. W. & D. T. Smith 1973. Germination and emergence of buffalobur,
22 morningglory and cocklebur. Progress Report Texas Agric Exp Station August: 3197-
23 3209 pp.

- 1 Ehler L. E. 2000. Critical issues related to nontarget effect in classical biological control
2 of insects. In: Non Target Effects of Biological Control (Follet, P., & Duan, J. Eds)
3 Kluwer Academic, Norwell, Massachusetts, U.S.A., pp. 3-14.
- 4 Fonseca E. A., N. Marangon, O. M. Navarro & S. Casares. 1979. Girasol. Cuaderno de
5 actualización técnica N° 26. Asociación Argentina de Consorcios Regionales de
6 Experimentación Agrícola, Buenos Aires, Argentina, 36 pág.
- 7 Gandolfo, D. E., Logarzo G. A. & Cordo, H. A. 1997. *Apagomerella versicolor*
8 (Coleoptera: Cerambycidae), candidato para el control biológico de *Xanthium s.*
9 *strumarium* (Compositae) en los EE.UU.: Estimación del daño en laboratorio. Rev.
10 Soc. Entomol. Arg. 56: 147-150.
- 11 Harris, P. & H. Zwolfer. 1968. Screening of phytophagous insects for biological control
12 of weeds. Canadian Entomologist 100: 295- 303.
- 13 Hilgendorf , J. H. & R. D. Goeden .1983. Phytophagous insect faunas on spiny clotbur,
14 *Xanthium spinosum*, and cocklebur, *Xanthium s. strumarium*, in Southern California.
15 Environ. Entomol. 12: 404-411.
- 16 Holm, L. G., D. L. Plucknett, J. V. Pancho & J. P. Herberger. 1977. The World's Worst
17 Weeds. East-West Centre, Univ. Press Hawaii, Honolulu. 609 pp.
- 18 Julien, M. H., & Griffiths, M. W. 1998. Biological Control of Weeds: A World
19 Catalogue of Agents and their Target Weeds. CABI, Oxon, UK.
- 20 Logarzo, G.A, Gandolfo, D. E., & H.A. Cordo. 2002. Biology of *Apagomerella*
21 *versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a candidate for biological
22 control of cocklebur (*Xanthium spp.*) in the U. S. Biological Control 25: 22-29.

- 1 Louda S. M. 2000. Negative ecological effects on the musk thistle biological control
2 agent *Rhinocyllus conicus*. In: Non Target Effects of Biological Control (Follet, P., &
3 Duan, J. Eds) Kluwer Academic, Norwell, Massachusetts, U.S.A., pp. 215-244.
- 4 Quintana F. J. & A. R. Abot, 1987. Girasol: Lista comentada de los organismos animales
5 que atacan al cultivo en la República Argentina. Instituto Nacional de Tecnología
6 Agropecuaria. Publicado por la Estación Regional Agropecuaria de Balcarce y la
7 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce,
8 Buenos Aires, Argentina. 50 pp.
- 9 Rosillo, A. M. 1944. Enumeración de insectos vinculados a la economía de Entre Ríos.
10 (Primera Parte: Coleoptera) Memorias Museo Entre Rios, Argentina No. 22
11 Zoologia.
- 12 Stiling, P., & D. Simberloff. 2000. The frequency and the strength of nontarget effects of
13 invertebrate biological control agents of plant pests and weeds. In: Non Target Effects
14 of Biological Control (Follet, P., & Duan, J. Eds) Kluwer Academic, Norwell,
15 Massachusetts, U.S.A., pp. 31-43.
- 16 Vargas, R. 1984. Weed management systems for cotton. Proc. 36th Ann. Calif. Weed
17 Conf., 1984: 52-62.
- 18 Wapshere, A. J. 1974. An ecological study of an attempt at biological control of
19 noogoora burr (*Xanthium strumarium*). Aust. J. Agric. Res. 25, 275-292.
- 20 Wapshere, A. J. 1989. Biological control of grass weeds in Australia: an appraisal. Plant
21 Protection Quarterly 5: 62-74.
- 22 Whitcomb, R. F., A. L. Hicks, H. D. Blocker, and D. E. Lynn. 1994. Biogeography of
23 leafhopper specialist of shortgrass prairie. Amer. Entomol. 1:19-35.

1 Whitson, T. M., C. B. Larry, S. A. Dewey, D. W. Cudney, B. E. Nelson, R. D. Lee &
2 R. Parker. 1991. Weeds of the West. University of Wyoming. 630 pp.

3

4

5

6

- 1 Table 1. List of plant tested and number of adults of *A. versicolor* emerged in non-choice
 2 tests.

Plant Species	Rpl.	No. plants attacked	No. adults emerged
◆ Vernoniaceae			
1- <i>Vernonia fulva</i> Grieseb	5	0	0
◆ Eupatoriaceae			
2- <i>Ageratum houstonianum</i> P. Mill.	5	0	0
3- <i>Acanthostyles buniifolius</i> (H. & A.) R.M. King & H. Rob.	5	0	0
◆ Astereae			
4- <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	5	0	0
5- <i>Baccharis</i> sp	5	0	0
6- <i>Solidago chilensis</i> Meyen	5	0	0
7- <i>Erigeron karvinskianus</i> DC.	5	0	0
8- <i>Bellis perennis</i> L.	5	0	0
9- <i>Feilicia</i> sp (L.) Voss.	5	0	0
10- <i>Aster novi-belgii</i> L.	5	0	0
◆ Heliantheae			
• Ambrosiinae			
11- <i>Ambrosia scabra</i> Hook. et Arn.	5	2	2
12- <i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	5	2	1
13- <i>Parthenium argentatum</i> A. Gray.	5	0	0
14- <i>Xanthium</i> s. <i>cavanillesii</i> Schouw.	10	9	9
15- <i>Xanthium spinosum</i> L.	10	9	9
16- <i>Xanthium</i> s. <i>strumarium</i> L.	5	4	4
• Rubdeckinae			
17- <i>Rubdeckia speciosa</i> Wender.	5	0	0
• Ecliptinae			
18- <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	5	0	0
19- <i>Verbesina encelioides</i> (Cav.) Benth et Hook	5	0	0
• Helianthinae			
20- <i>Helianthus annuus</i> var <i>wild</i> L.	5	0	0
21- <i>Helianthus annuus</i> var <i>continental</i> L.	50	1	1
22- <i>Helianthus annuus</i> var <i>multiflor</i> L.	5	0	0

Plant Species	Rpl.	No. plants attacked	No. adults emerged
23- <i>Helianthus tuberosus</i>	10	0	0
• Coreopsidinae			
24- <i>Dahlia excelsa</i> Benth.	5	0	0
25- <i>Coreopsis lanceolata</i> L.	5	0	0
26- <i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	5	0	0
• Pectidinae			
27- <i>Tagetes erecta</i> L.	5	0	0
• Gaillardinae			
28- <i>Gaillardia pulchella</i> var <i>picta</i> (Sweet) Gray.	5	0	0
• Inuleae			
29- <i>Pluchea sagittalis</i> Cabr.	10	10	10
30- <i>Tessaria absinthioides</i> DC.	10	3	2
31- <i>Tessaria integrifolia</i> R. et P.	8	0	0
32- <i>Gamochaeta</i> sp.	5	0	0
33- <i>Helichrysum</i> sp.	5	0	0
34- <i>Achyrocline satyroides</i> (Lam) DC.	5	0	0
35- <i>Pterocaulon polystachyum</i> DC.	10	0	0
36- <i>Pterocaulon</i> sp.	5	0	0
◆ Anthemideae			
37- <i>Santolina chamaecyparissus</i> L.	5	0	0
38- <i>Artemisia annua</i> L.	5	0	0
39- <i>Achillea millefolium</i> L.	5	0	0
40- <i>Chrysanthemum</i> sp.	5	0	0
◆ Senecioneae			
41- <i>Senecio mikanoides</i> Otto.	5	0	0
42- <i>Gynura sarmentosa</i> DC.	5	0	0
◆ Calenduleae			
43- <i>Dimorphoteca hybrida</i> DC.	5	0	0
44- <i>Calendula officinalis</i> L.	5	0	0
◆ Arctotideae			
45- <i>Gazania x splendens</i> Hort.	5	0	0
◆ Cynareae			
46- <i>Centaurea dubia</i> L.	5	0	0

Plant Species	Rpl.	No. plants attacked	No. adults emerged
47- <i>Centaurea cyanus</i> L.	5	0	0
48- <i>Cynara cardunculus</i> L.	5	0	0
49- <i>Carthamus tinctorius</i> L.	5	0	0
◆ Mutisieae			
50- <i>Gerbera jamesonii</i> Bolus.	5	0	0
◆ Cichorieae			
51- <i>Cichorium intybus</i> L.	5	0	0
52- <i>Lactuca sativa</i> L.	5	0	0

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18

1 Table 2. List of Asteraceae examined in the field for larvae of *A. versicolor* in Argentina.

	No. sampled sites	No. sites with <i>A. versicolor</i> (%)	No. surveyed plants	No. adults emerged (%)
Asteraceae				
Eupatorieae				
1. <i>Eupatorium hecathantum</i> Bak	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
2. <i>Eupatorium inulaefolium</i> Humboldt, Bompland et Kunth	2	0 (0.0)	85	0 (0.0)
3. <i>Eupatorium</i> sp.	3	0 (0.0)	105	0 (0.0)
Astereae				
4. <i>Baccharis spartioides</i> Remy	1	0 (0.0)	50	0 (0.0)
5. <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	5	0 (0.0)	200	0 (0.0)
6. <i>Baccharis</i> sp.	1	0 (0.0)	50	0 (0.0)
7. <i>Baccharis salicifolia</i> Pers.	4	0 (0.0)	70	0 (0.0)
8. <i>Baccharis spicata</i> Baill.	2	0 (0.0)	100	0 (0.0)
9. <i>Baccharis darwinii</i>	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
10. <i>Solidago chiloensis</i> Meyen	8	0 (0.0)	495	0 (0.0)
11. <i>Grindelia buphtalmoides</i> DC.	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
12. <i>Grindelia</i> sp.	1	0 (0.0)	20	0 (0.0)
13. <i>Grindelia pulchella</i> Dun.	5	0 (0.0)	250	0 (0.0)
14. <i>Conyza</i> sp.	10	0 (0.0)	270	0 (0.0)
15. <i>Gutierrezia solbrigii</i>	2	0 (0.0)	450	0 (0.0)
16. <i>Aster</i> sp	5	0 (0.0)	175	0 (0.0)
17. <i>Aster squamatus</i> Hieron	4	0 (0.0)	205	0 (0.0)
Heliantheae				
Ambrosiinae				
18. <i>Ambrosia scabra</i> Hook. et Arn.	2	2 (100.0)	350	38 (10.9)
19. <i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	25	9 (36.0)	1570	94 (6.0)
20. <i>Ambrosia elatior</i> L.	2	0 (0.0)	60	0 (0.0)
21. <i>Parthenium hysterophorus</i> L.	8	0 (0.0)	290	0 (0.0)
22. <i>Xanthium s.cavanillesii</i> Schouw.	70	44 (62.9)	4759	809 (17.0)
23. <i>Xanthium s. strumarium</i> L.	7	5 (71.4)	565	86 (15.2)
24. <i>Xanthium spinosum</i> L.	25	10 (40.0)	890	69 (7.8)
Ecliptinae				
25. <i>Zinnia peruviana</i>	2	0 (0.0)	70	0 (0.0)
26. <i>Verbesina australis</i> Bak.	2	0 (0.0)	80	0 (0.0)
27. <i>Verbesina</i> sp.	4	0 (0.0)	240	0 (0.0)
28. <i>Verbesina encelioides</i> (Cav.) Benth et Hook	8	0 (0.0)	170	0 (0.0)
29. <i>Flourensia oolepis</i> Blake	6	0 (0.0)	220	0 (0.0)
30. <i>Flourensia campestris</i> Griseb	1	0 (0.0)	55	0 (0.0)
31. <i>Flourensia niederlinii</i> Blake	1	0 (0.0)	60	0 (0.0)
32. <i>Flourensia hirta</i> Blake	4	0 (0.0)	148	0 (0.0)
33. <i>Flourensia tortuosa</i> Griseb	4	0 (0.0)	141	0 (0.0)
34. <i>Flourensia blackeana</i> Dillon	4	0 (0.0)	85	0 (0.0)

	No. sampled sites	No. sites with <i>A. versicolor</i> (%)	No. surveyed plants	No. adults emerged (%)
35. <i>Flourensia riparia</i> Griseb	3	0 (0.0)	45	0 (0.0)
36. <i>Flourensia macroligulata</i> Seeligman	1	0 (0.0)	20	0 (0.0)
37. <i>Flourensia fiebrigii</i> Blake	1	0 (0.0)	15	0 (0.0)
38. <i>Flourensia suffrutescens</i> Blake	2	0 (0.0)	60	0 (0.0)
39. <i>Flourensia leptopoda</i> Blake	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
40. <i>Aspilia</i> sp.	1	0 (0.0)	30	0 (0.0)
41. <i>Wedelia glauca</i> Hoffm.	3	0 (0.0)	130	0 (0.0)
42. <i>Wedelia subvaginata</i> Brown	1	0 (0.0)	40	0 (0.0)
Helianthinae				
43. <i>Helianthus annuus</i> var <i>wild</i> L.	4	0 (0.0)	100	0 (0.0)
44. <i>Helianthus tuberosus</i> L.	3	0 (0.0)	120	0 (0.0)
45. <i>Helianthus petiolaris</i> Nuttall	2	0 (0.0)	100	0 (0.0)
Coreopsidinae				
46. <i>Bidens subalternans</i> DC	3	0 (0.0)	70	0 (0.0)
Pectidinae				
47. <i>Tagetes minuta</i> L.	2	0 (0.0)	90	0 (0.0)
Gaillardinae				
48. <i>Hymenoxis robusta</i> Parker	4	0 (0.0)	330	0 (0.0)
49. <i>Gaillardia pulchella</i> var <i>picta</i> (Sweet) Gray.	5	0 (0.0)	98	0 (0.0)
Inuleae				
50. <i>Pluchea sagittalis</i> Cabr.	44	44 (100.0)	1,169	518 (44.3)
51. <i>Tessaria absinthioides</i> DC.	7	3 (42.9)	655	44 (6.7)
52. <i>Tessaria integrifolia</i> R. et P.	5	0 (0.0)	310	0 (0.0)
53. <i>Gamochoeta</i> sp.	2	0 (0.0)	70	0 (0.0)
54. <i>Achyrocline saturoides</i> DC.	4	0 (0.0)	190	0 (0.0)
55. <i>Pherocaulon polystachyum</i> De Candolle	3	0 (0.0)	175	0 (0.0)
56. <i>Pterocaulon lorentzii</i> or near Malme	4	0 (0.0)	325	0 (0.0)
57. <i>Pherocaulon</i> sp.	5	0 (0.0)	430	0 (0.0)
Senecioneae				
58. <i>Senecio goldsacki</i> Phil.	2	0 (0.0)	160	0 (0.0)
TOTALS	343	117 (34.1)	17,130	1,658 (9.7)

1

1 INTRODUCTION

2 Plant feeding insects are a highly diverse group, with estimates of about 30 mi species
3 (Erwin 1982), and more diverse than their sister non-phytofagous clades (Mitter et al. 1988).
4 This difference has been attributed to the tendency of the group towards specialization, and
5 to undergo host plant shifts resulting in host-race formation followed by speciation (Craig et
6 al.2993, Bush 1994). In addition, phytophagous insects exhibit some kind of evolutionary
7 fidelity, known as taxonomic conservation. Shifts to host plants that are phyllogenetically
8 related to plants used by the insect lineage in the past are more common than shifts to
9 unrelated plants (Janz et al. 2001, Futuyama et al. 1993). Explaining the tendency towards
10 specialization and the taxonomic conservation of phytofagous groups can help to elucidate
11 the underlying mechanisms involved in the generation of biodiversity, which is a central goal
12 in evolutionary biology (Futuyama and Moreno 1988, Jaenike 1990).

13 The prevalence of specialization in phytofagous insects has been explained by the
14 “jack of all trades, master of none” hypothesis, meaning that an optimization in the use of a
15 host plant constraints the insect performance in other hosts (Robinson et al. 1996). However,
16 specialization may also provide adaptive advantages (Smith 1988, Craig *et al.* 1993, Groman
17 & Pellmyr 2000) like escape from natural enemies (predation/parasitism) (Bernays &
18 Graham 1988, Crespi & Sandoval 2000), a better habitat (Futuyma & Keese 1992) or
19 adaptation to chemical defenses of that plant species or group (Dethier 1954, Fraenkel 1959,
20 Ehrlich & Raven 1964, Futuyama & Keese 1992).

21 From an evolutionary standpoint, if host specialization is the force driving the
22 generation of novel species, diversification should conclude when species achieve the
23 highest level of specialization, the diversifying engine may then “run out of fuel” (Janz et at.
24 2006) and reach a “dead end” (Moran 1988, Kelley & Farrell 1998). In that scenario, highly

1 specialized clades may only diversify by cospeciating with the host, which seems to be a rare
2 event in phytofagous insects according to available phylogenetic evidence (Janz and Nylin
3 1998, Percy et al. 2004). However, it has been demonstrated that a phytophagous clade's
4 host range is dynamic along its evolutionary history and may experience alternate phases of
5 expansion and contraction (Janz et al. 2001). A generalization process may be the
6 mechanism providing the "missing fuel" and putting the machine to work again, (Janz et al.
7 2006), and may be as important as specialization in the diversification process.

Con formato: Sin Resaltar

Con formato: Sin Resaltar

8 Most studies dealing with the evolution of host range reconstruct host use of groups of
9 related insects through phylogenetic analysis (Kelley & Farrel 1998, Thomson 1998,
10 Futuyma 2001, Janz et al.2001), or study host shifts to introduced hosts, e.g *Rhagoletis*
11 *pomonella* (Walsh) (Prokopy et al. 1988), *Euphydryas* (Thompson 1993) and *Papilio* butterflies
12 (Singer et. al. 1993).

13 However, some species exhibit geographical variability in host range, what may
14 represent a recent or ongoing evolution process (Singer et al. 1992, Bigger and Fox 1997,
15 Thompson 1998). The study of intraspecific host range variation may provide hints on the
16 evolution of host use and on insect diversification (Funk & Bernays 2001). The aphid
17 *Uroleucon ambrosiae*, for instance, is monophagous on *Ambrosia trifida* (Asteraceae) in the
18 east, which is its ancestral condition; and polyphagous on several species of Asteraceae in
19 the west of its distribution in North America. Generalism within *U. ambrosiae* may have
20 evolved as an adaptation to the scattered and unpredictable distribution of the preferred host
21 *A. trifida* in the most arid area of distribution of the insect (Funks & Bernays 2001).

22 However, like in most studies on intraspecific variation in host range could not find a
23 correlation between genetic variability and host use (Jaenike 1990, Funks & Bernays 2001),
24 then the variation encountered could be an ecological response to host availability.

1 *A. versicolor* exhibits geographical variation in host use: in northern Argentina it is
2 highly specialized on *Pluchea sagittalis* Cabr, in the centre and south it is a generalist (found
3 on seven Asteraceae species, including *P. sagittalis*) (Logarzo & Gandolfo 2005). In
4 addition, beetles collected at latitudes higher than 31° showed obligate diapause (Logarzo et
5 al. 2002, Logarzo & Gandolfo 2005) while northern populations (25-27° SL) were at least
6 bivoltine and did not diapause the first generation (Logarzo & Gandolfo 2005).

7 In this report we study intraspecific geographical variation in host use in the stemborer
8 *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae, subtribe aerini). This species was
9 formerly studied as a candidate for biological control of cocklebur in the United States
10 (Logarzo et al. 2002). The genus *Apagomerella* includes only two species, *A. versicolor* and
11 *A. dissimilis* (sub-tribe Aerini). *Apagomerella versicolor* is distributed in Argentina from
12 northern subtropical areas (23° S) to Patagonia (40° S), covering a wide latitudinal range.
13 Females lay only one egg per oviposition site, and there is always only one larva per stem.
14 The larva bores the stem towards the root, where it pupates (Logarzo et al. 2002).

15 Our main questions regarding host range variation in *A. versicolor* were: 1) is
16 geographical variation in host use an ecological response to host plant availability or is it an
17 evolutionary derived condition? 2) If it is evolutionary derived, which mechanisms were
18 involved in the host expansion? 3) Is the species in a diversifying process triggered by a host
19 range expansion?

20 To address those questions, we combined field studies of host plant use and host
21 availability with controlled experiments on oviposition preference and mating success in
22 relation to host plant use and genetic variation in a phylogeographical framework. Our
23 hypothesis is that diversification in this insect has been driven by a host range expansion
24 followed by a secondary specialization and race formation.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

MATERIALS AND METHODS

Field Studies

Host Plants studied. Four host plant species belonging to the family Asteraceae were used in this study: *Xanthium cavanillesii*, *Ambrosia tenuifolia*, *P. sagittalis* and *P. absinthioides*; all of them having erected single-stems. Detailed information on the characteristics of the host plants chosen is given in Table 1.

The other host plant species reported for *A. versicolor* (*X. strumarium* and *A. scabra*, *X. spinosum*) (Logarzo & Gandolfo 2005) were not included because of they were rare or had restricted distributions (GL unpublished data).

Studies on host plant availability and utilization by *A. versicolor* were performed at several sampling dates between 1990 and 1994, and between 2003 and 2005 in the three Zones, covering the whole distribution area of *A. versicolor*.

Insects emerged from host plant *A. tenuifolia* were not used in the genetic and mating choice laboratory studies due to scarcity of material. Availability and use of *A. tenuifolia* were not estimated because of the low number of specimens (0-10) susceptible to *A. versicolor* attack found at each stand. Only *A. tenuifolia* specimens having a stem diameter > 5 mm are suitable for *A. versicolor* larvae (Logarzo et al. 2002).

Study Area. We studied the whole distribution range of *A. versicolor* in Argentina, between 23° and 40° S latitude (Logarzo et al. 2002). The study area was divided in three zones considering previous studies on host plant occurrence and host use (Logarzo & Gandolfo 2005). **Zone 1:** (aprox. 23° to 27° S) in this zone the four hosts were present, *P. sagittalis* was the only attacked plant. **Zone 2:** (aprox. 27° to 38° S, Central and Eastern Argentina) in this zone all the hosts were present and attacked. **Zone 3:** (aprox. 31° to 40° S,

1 bordering West and South Zone 2) all the hosts were present except *P. sagittalis*, being *P.*
2 *absinthioides* the only attacked plant (Fig.1).

3 **Host plant availability.** We estimated host availability as the number of stands of each
4 host plant species observed every 100 km driven along the latitudinal gradient (between 23°
5 and 40° S latitude). About 17,000 km were driven in 10 trips. Results were grouped in one
6 degree latitudinal bands. The relationship between host availability and latitude was tested
7 through lineal regressions (Spss 11.5).

8 **Host plant utilization.** The number of attacked stands and plants of each of the four
9 host plant species studied were recorded. Among 30-100 plants were examined at each stand,
10 according to stand size. A total of 2,686 plants of *P. sagittalis* in 60 stands, 2826 of *P.*
11 *absinthioides* in 31 stands, 8872 plants of *X. cavanillesii* in 117 stands and 1649 plants of *A.*
12 *tenuifolia* in 26 stands were examined during the study. All cerambycid larvae collected were
13 reared to adulthood in meridic diet (Logarzo et al 2002) to confirm insect identification.

14 **Laboratory Studies.**

15 We explored mating success, oviposition preference and genetic variation
16 associated with *A. versicolor* geographical variation in host use. Studies were conducted
17 between 1990 and 1993, and between 2003 and 2005 with *A. versicolor* adults emerged at
18 the laboratory from larvae and pupae collected in the field. Last instars (sixth or seventh)
19 were obtained by dissecting host plants stems and stumps. Pupae were found only in roots or
20 stumps. Last instars and pupae were reared individually until adult emergence in 34-ml
21 plastic cups with paper lids, which were filled with moist tissue paper (3/4 of total volume)
22 to provide a humid substrate. All insects were held at 25-30 °C, 70-80% RH, with a
23 photophase of 14-10 L:D photoperiod.

24 **Mating tests.** The effect of the geographic and host plant origin of the male on

1 male mating success was investigated through laboratory male mating tests. Two virgin
2 males of the same age, one coming from a given Zone or host plant, and the other from a
3 different one were released in a mating chamber (a transparent plastic container of 500ml)
4 with a virgin female. The specimens were observed until mating took place, the first male
5 that mated was recorded as successful.

6 The effect of the geographic origin was tested using the three possible combinations of
7 males: Zone 1 vs Zone 2 (n=42), Zone 1 vs 3 (n=20), and Zone 2 vs 3 (n=16). To rule out a
8 female effect, for each combination, about half of the replications were conducted with
9 females of each one of the tested zones, e.g. from the 42 crosses conducted between males of
10 Zone 1 vs. 2, 20 crosses were performed with a female of Zone 1 and 22 with a female of
11 Zone 2.

12 The effect of the host plant origin was tested with the following combinations, males
13 emerged from *P. sagittalis* against males from *X. cavanillesii* (Zone 2) (n= 61); males from
14 *P. sagittalis* against males from *P. absinthioides* (n= 25); and males from *X. cavanillesii*
15 against males from *P. absinthioides* (n=8).

16 Different insect specimens (2-4 days old) were used in each replicate; replicates where
17 no mates were observed were not included in the analysis. Adults tested from Zone 1 came
18 from *P. sagittalis*; adults tested from Zone 2 came from *P. sagittalis* and *X. cavanillesii*; and
19 adults tested from Zone 3 came from *P. absinthioides*.

20 The low number of replications we had for some combinations in these assays was the
21 consequence of the low number of larvae collected in some of the zones, and/or mortality
22 during laboratory rearing. A Chi-square test was used to test for the effect of Zone and host
23 plant origin of the male in mating choice.

24 **Oviposition Preference Test.** To investigate how female oviposition preference was

1 affected by their geographical and host plant origin we performed a multiple choice test. A
2 female was given a choice to oviposit in four host plant species: *P. sagittalis*, *X. cavanillesii*,
3 *A. tenuifolia* and *P. absinthioides*. Possible outputs of this experiment were that the female
4 oviposited from one to the four host plants at each replicate. Mated females from the three
5 Zones and from all the host plants were used. Nine to twelve replicates per type of female
6 were run, resulting in a total of 63 cages.

Eliminado:

7 Each female was placed in a 1m side cage having voile screen walls with one specimen
8 of each of the four host plant species evaluated. After 24 h females were removed, and the
9 plants were labeled and kept in an enclosure to avoid infestation with wild adults. At the end
10 of the summer, when larvae reached their last instars, plants were dissected and the plants
11 species with larva of *A. versicolor* were recorded. Females used in these tests had been
12 previously mated with insects coming from the same zone and host plant.

13 **Genetic studies.** The degree of genetic differentiation among zones was investigated
14 analyzing samples of adults collected in the three characterized Zones. In Zone 2, five
15 different localities were sampled due to its broad latitudinal range: Gualeguaychú and Colón
16 from Entre Ríos province; Paso de los Libres from Corrientes province; and Mar del Plata
17 and Reta from Buenos Aires province. Specimens of Zone 1 coming from different
18 collecting sites were pooled in two groups, from Corrientes and Formosa provinces, due to
19 the scarcity of individuals per population. Specimens of Zone3 were collected in only one
20 locality, Río Colorado, from Río Negro province.

21 Total DNA was extracted from *A. versicolor* adults using Puregene kit (Gentra),
22 following the manufacturer protocol. A 690 bp fragment of the *COI* (*cytochrome oxidase I*)
23 mitochondrial gene was PCR-amplified with primers S17 (5' GGA GGA TTT GGA AAT
24 TGA TTA GTT CC 3') and A24 (5' GCT AAT CAT CTA AAA AAT TTT AAT TC CTG

1 TTG G 3'). Reactions were performed in a final volume of 50 μ l containing 8 μ l of dNTPs
2 (1.25 mM each), 10 μ l of 5x reaction buffer, 1 μ l of MgCl₂ (25 mM), 0.2 μ l of *Taq* DNA
3 polymerase (GoTaq Promega) 5U/ μ l, 150 ng of sense and antisense primers, and 50 to 100
4 ng of DNA. Amplifications were carried out according to the following PCR profile: one
5 cycle of 1 min at 94°C, 35 cycles of denaturation (1 min at 94°C), annealing (1 min at 46°C)
6 and extension (1.5 min at 72°C), and a final extension step of 3.5 min at 72°C. Amplified
7 fragments were purified with Wizard SV gel and PCR Clean-Up System (Promega). Pure
8 DNA was used as template for direct sequencing of both strands using same primers as in the
9 amplification. Direct sequencing of pure PCR products were performed with the ABI PRISM
10 BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit version 2.0 (Applied Biosystems)
11 in an Applied Biosystems ABI PRISM 3700 DNA Analyzer automated sequencer. The
12 sequence of 629 bp obtained was homologous to the fragment of *COI* contained between
13 positions 295 and 923 in *D. melanogaster* (Ballard 2000, Genbank accession number
14 AF200828). New sequences are available at Genbank (accession numbers XXX to XXX).

15 **AVISENME CUANDO MANDAR LAS SECUENCIAS A GENBANK, ES UNA**
16 **CONDICION PARA PUBLICAR EN MUCHAS REVISTAS**

17 Nucleotide diversity was estimated with Watterson's estimator (θ_w) and the average
18 number of observed pairwise differences per site (π). Tests of Tajima (1989), Fu (1997) and
19 Ramos-Onsins and Rozas (2002) were applied to determine if populations of *A. versicolor*
20 were in genetic drift-mutation equilibrium, according to expectations of the Neutral theory
21 (Kimura 1983). The significance of the tests was calculated performing 1000 coalescent
22 simulations based on a Monte Carlo process with no recombination (Hudson 1990). All this
23 calculations were carried out using DnaSp 4.0.6 (Rozas et al. 2003).

1 Population structure was investigated by means of analysis of molecular variance
2 (AMOVA, Excoffier et al. 1992). Sequences were arranged in two hierarchical levels, the
3 first according to collection site (population) and the second to the Zone to which
4 populations belong. The significance of variance components and Φ -statistics was obtained
5 by means of 10000 permutations of haplotypes between populations and zones using
6 Arlequin 3.1 software (Excoffier et al. 2005). Genetic differentiation between pairs of Zones
7 was also tested with K_{ST}^* statistics (Hudson et al. 1992) implemented in DnaSp 4.0.6 (Rozas
8 et al. 2003).

9 Phylogenetic relationships between COI haplotypes were analyzed with a statistical
10 parsimony approach. An haplotype network was constructed with TCS 1.18 software
11 (Clement et al. 2000), based on the algorithm proposed by Templeton et al. (1992).

13 RESULTS

14 **Host plant availability.** From a total of 234 surveyed stands, *X. cavanillesii* (117
15 stands) was the most abundant host and the only one that covered the whole geographical
16 distribution area of *A. versicolor* (Fig.2), followed by *P. sagittalis* (60 stands) *P.*
17 *absinthioides* (31 stands) and *A. tenuifolia* (26 stands) in a relation of 4:2:1:1 (Table 2).

18 Regression analysis showed that the availability of *P. sagittalis* and *P. absinthioides*
19 was associated to latitude; as the latitude increased the availability (number of stands every
20 100km) of *P. sagittalis* decreased ($r = 0.80$, $df = 1, 12$, $F = 54.4$, $P = 8.6 \text{ E-}06$), while the
21 availability of *P. absinthioides* increased ($r = 0.63$, $df = 1, 12$; $F = 23.38$; $P = 0.000$). On the
22 contrary, the availability of *X. cavanillesii* was not related to latitude ($r = 0.09$, $df = 1, 12$, $F =$
23 2.24 , $P = 0.159$) (Fig. 3).

1 **Host plant utilization.** *A. versicolor* field host use measured by attacked stands and
2 plants varied according to the geographic area. In Zone 1, *P. sagittalis* was the only host
3 plant holding larvae; in Zone 2, *P. sagittalis* was highly attacked, but hosts *X. cavanillesii*, *A.*
4 *tenuifolia* and *P. absinthioides* were also infested; and in Zone 3, (where *P. sagittalis* is
5 absent) *P. absinthioides* was the only host attacked (Table 2).

6 In all cases, the hosts with more attacked stands within a Zone had higher percentage
7 of attacked plants (Table 2). Number of attacked plants of *P. absinthioides* per stand at Zone
8 2 was very low (1.8%).

9 **Mating tests.** The analysis of mating tests showed that males collected as larvae in
10 some Zones or host plants had higher mating success. In effect, males collected in Zone 3
11 were more successful than males from Zone 2 (87.5% vs. 12.5% of mates) ($X^2= 9,3$ df= 1,
12 $P= 0.003$), while mating occurred at random in tests involving males from Zone 1 versus
13 males from Zone 2 ($P= 0.12$) or 3 ($P= 0.65$) (Table 4b). Regarding host plant origin, mating
14 success of males emerged from *P. sagittalis* (pooling males of Zone 1 and Zone 2) or from *P.*
15 *absinthioides* did not differ significantly, but each of them had a greater mating success (X^2
16 $=8.67$; df= 1; $P= 0.003$ and $X^2= 8.00$, df= 1; $P= 0.005$, respectively) than males emerged
17 from *X. cavanillesii* (Table 4a). No effect of females' geographic origin was observed.

18 **Female Oviposition Preference Test.** Females collected in each one of the defined
19 Zones exhibited different patterns of oviposition preferences (Table 4). Females from Zone 1
20 oviposited only on *P. sagittalis* (n=12); females collected in Zone 2, regardless the host plant
21 origin, attacked mainly *P. sagittalis* followed by *X. cavanillesii* and *A. tenuifolia* (90.2, 48.8,
22 and 4.9 % of offered plants); and females from Zone 3 oviposited on *P. sagittalis* and in a
23 lesser extent on *P. absinthioides* (92.3 and 12.5%) (Table 4). Only females emerged from *A.*
24 *tenuifolia* oviposited in that host plant.

1 **Genetic differentiation among Zones.** Total nucleotide diversity was 0.0113

2 when measured on the basis of the number of segregating sites (θ_W) and 0.005 when
3 expressed as the mean number of pairwise nucleotide differences per site (π) (Table 5). The
4 total number of haplotypes detected in our study was 28, with a total haplotype diversity
5 (H_D) of 0.891. Thirty five polymorphic sites (five non-synonymous and thirty synonymous),
6 were detected in the entire sample, 14 of them parsimony-informative (Table 6).

7 The level of nucleotide variation within zones differed greatly among zones. Zone 1
8 was the most diverse, followed by Zone 2 and Zone 3, which was much less variable than the
9 other two (Table 5).

10 According to the results obtained in the AMOVA genetic differentiation among
11 populations of different zones was highly significant ($\sigma_a^2 = 1.06$, $\Phi_{CT} = 0.52$, d. f. = 2, P =
12 0.009), accounting for 51 % of total sequence variation, whereas differentiation between
13 populations within zones was low and non significant ($\sigma_b^2 = 0.04$, $\Phi_{SC} = 0.04$, d. f. = 5, P =
14 0.127). Pairwise comparisons revealed that Zones 1 and 2 were slightly, though significantly
15 differentiated ($K_{ST}^* = 0.063$, P < 0.0001), as compared to differentiation between each of
16 them and Zone 3 (Zone 1 – Zone 3: $K_{ST}^* = 0.349$, P < 0.0001; Zone 2 – Zone 3: $K_{ST}^* =$
17 0.332, P < 0.0001).

18 We present an haplotype network in Fig. 4. Only one ambiguous connection was
19 found, indicative of either homoplasy or, less probably, recombination. The general shape of
20 the network is star-like, which might be interpreted as indicative of a recent expansion in the
21 species range. This hypothesis was tested using several specific tests such as Tajima's D,
22 Fu's Fs and Ramos-Onsins and Rozas' R2 tests, which are very powerful in detecting
23 departures from neutral expectations due to changes in historical population size (Fu 1987,

1 Ramos-Onsins and Rozas 2002). The three tests were highly significant (Table 5), giving
2 strong support to the idea of a recent range expansion in *A. versicolor*. Moreover, when the
3 same tests were applied to each zone separately, revealed significant departures from neutral
4 expectations in Zones 1 and 2, suggesting that the results for the complete dataset are not a
5 consequence of pooling differentiated populations. However, when applied to Zone 3 these
6 tests yielded non significant results, which could be due either to the low number of
7 segregating sites observed in the set of sequences or to a strong founder effect following a
8 recent colonization.

9 The most frequent haplotype (A), which occupied a central position in the network,
10 was found in 23 individuals spanning all localities sampled in Zone 2, and the surrounding
11 haplotypes differing in one or two mutational steps from (A), were detected either in Zone 2,
12 Zone 1 or both. Remarkably, two groups of divergent haplotypes, separated from haplotype
13 (A) by four or five mutational steps can be observed in the network. One of these groups
14 contained haplotypes z and x, which were only found in northern localities of Zone 2, while
15 the other group involved haplotypes n (shared between Zones 1 and 3) and u (exclusive of
16 Zone 3).

17 We also detected the presence of a highly divergent haplotype (M) separated by six or
18 seven mutational steps from the rest. Interestingly, this haplotype was only recorded in Zone
19 1 and is the first that branches off if the network is rooted using an outgroup in a maximum
20 parsimony analysis (data not shown). Consequently, it may be argued that haplotype (m)
21 represents an old variant that is still segregating in ancestral populations.

1 DISCUSSION

2 *A. versicolor* exhibits wide geographical variation in host utilization in nature (Logarzo &
3 Gandolfo 2005), varying from monophagous in *P. sagittalis* in Zone 1 to oligophagous in Zones 2
4 and 3 (Table 2). The variation encountered was not related to host availability (Table 1, Fig. 2), to
5 which it is usually attributed (Bernays & Graham 1988), and may not be thus proposed as an
6 ecological response.

7 An alternative explanation for the differences in host plant use *vis a vis* host availability is
8 that there is some kind of genetic determination of host use, i.e. that females of different
9 geographic areas differ in their oviposition site preference. The close agreement found between
10 field host use and laboratory oviposition preferences (Table 6) suggest that geographic differences
11 in host use have a genetic basis. When exposed to an even, host plant species offer in the
12 laboratory, oviposition preferences of females of *A. versicolor* from different geographic origins
13 closely resembled the field patterns (Tables 1&4), Females from Zone 3, were an apparent
14 exception, since they preferred for laboratory oviposition *P. sagittalis* over *P. absinthioides* (Table
15 4), while the more used plant in the field was the latter. However, *P. sagittalis* is absent in the field
16 in Zone 3 (Table 2, Fig. 2), and females of Zone 3 may be holding genetically-determined
17 preference for a species used in the past, since during phases of host expansions phytofagous
18 insects that acquire novel hosts can hold fitness on the ancestral host (Futuyma et al. 1995, Janz et
19 al. 2001).

20 The differences in laboratory oviposition preference observed could be also attributed to a
21 learning effect due to larval host plant as observed in other insects (Papaj 1986, Cunningham et al.
22 1998). However, this effect can be ruled out since female host plant origin had no effect in our
23 assay (Table 4). Females of Zone 2 obtained from different host plants (*X. cavanillesii*, *A.*
24 *tenuifolia*, *P. sagittalis* and *P. absinthioides*), showed the same oviposition preferences in the

- Eliminado: data of
- Eliminado: plant
- Eliminado: E
- Eliminado: offer of
- Eliminado: behavior
- Eliminado: females of
- Eliminado: ,
- Eliminado: with the
- Eliminado: of females from Zone 3 (Tables 1&4)
- Eliminado: .
- Eliminado: Females from Zone 3
- Eliminado: plant
- Eliminado: ,
- Eliminado: what may explain why those females use *P. absinthioides*.
- Eliminado: F
- Eliminado: *P. sagittalis*.
- Con formato: Fuente: Sin Cursiva
- Con formato: Fuente: Sin Cursiva
- Eliminado: During
- Eliminado: observed

- Eliminado: collected in the field

1 laboratory suggesting that the niche experienced during larval development does not influence
2 oviposition behavior.

3 Mutation for oviposition preferences causing host expansion or shift are generally followed
4 by reproductive isolation mechanisms like host assortative mating leading to host race formation or
5 geographical differentiation (Itami et al. 1998, Wood and Keese 1999, Janz et al. 2006). In our case
6 study, there is a certain degree of reproductive isolation among populations of the geographic

7 Zones related with abiotic factors and insect (Wood & Keese 1990) and host plant traits,
8 Populations from Zone 1 exhibit a certain isolation from the other Zones, related with to weather
9 constrains, i.e. the presence of frosts. Individuals from Zone 1 cannot establish in Zones 2 or 3
10 given they do not diapause and thus can not survive the lack of hosts during the winter in those
11 Zones. Conversely, Zones 2 and 3 migrant individuals to Zone 1 are in disadvantage since they are
12 obligate diapausers, having only one generation per year, against two of Zone 1 individuals.

13 Among populations from Zones 2 and 3, isolation seems to be related to male mating
14 success and host-plant related fitness. Colonization of Zone 3 by Zone 2 individuals may be
15 impaired by the remarkably higher mating success of males from Zone 3 (87.5 vs. 12.5%, Table
16 4b). In addition, males that grew up the genera *Pluchea*, like all the ones coming from Zone 3,
17 seem to be more virile or attractive to females than males emerged of *X. cavanillesii* (present in
18 Zone 2) according to the mating tests (Table 4a); probably due to specific chemical traits of the
19 genera *Pluchea* (Tooker et al. 2002, Moayeri et al. 2007). On the other hand, the lack or scarcity of
20 suitable hosts on the genera *Pluchea* (Fig. 2) in southern Zone 2 may reduce fitness of migrant
21 individuals from Zone 3.

22 The idea that *A. versicolor* was differentiated in at least three geographic races was further
23 investigated estimating the degree of genetic differentiation within and among geographic zones.
24 The survey of mtDNA sequence variation showed that *A. versicolor* populations are genetically

- Eliminado: different
- Eliminado: host phenologies
- Eliminado: (Wood & Keese 1990)
- Eliminado: male mating success and host plant use
- Eliminado: Populations biological traits
- Eliminado: abiotic
- Eliminado: , like the voltinism, determine an important degree of isolation between Zone 1 and the other Zones
- Eliminado: .
- Eliminado: from Zones 2 and 3
- Con formato: Sin Resaltar
- Eliminado: on the contrary
- Eliminado: to biotic factors, like
- Con formato: Sin Resaltar
- Con formato: Sin Resaltar

1 structured, however, the degree of differentiation varied between zones. On the one hand, Zones 1
2 and 2 were only slightly, though significantly, differentiated whereas the degree of differentiation
3 between Zones 1 and 3, and between Zones 2 and 3 was greater.

4 We also used patterns of within and between zones sequence variation to infer the
5 relationship of ancestry among zones. In this sense, two lines of evidence point to Zone 1
6 populations as best candidates. First, the highest estimates of nucleotide and haplotype diversity
7 were recorded in Zone 1; and second, populations of this Zone shared several haplotypic variants
8 with both Zone 2 and 3. Strikingly, some haplotypes of Zone 1 are at the tips of the network, instead
9 of occupying more central positions as expected under the hypothesis of being ancestral to the other
10 Zones. However, these terminal haplotypes may represent re-colonization events from Zone 2 or just
11 a sampling artifact. More collections spanning a larger number of sites in Zone 1 are needed to
12 further clarify this point.

13 Another interesting feature of our survey of mtDNA sequence variation is that populations
14 from Zone 2 and Zone 3, though geographically close, did not share any haplotype, as both did
15 with Zone 1 (either in the case of Zone 1 and Zone 3 which are allopatric), suggesting either that
16 populations of Zones 2 and 3 originated independently from Zone 1 and/or limited gene flow
17 between Zones.

18 Ecological factors are known to cause rapid evolutionary divergence (Schluter 2000). The
19 phenology of the main host *P. sagittalis* may have had a dramatic impact during the expansion of
20 *A. versicolor* to the south. In Zone 1, perennial herb *P. sagittalis* is available along the entire year
21 in frost-free habitats like stream and river shores (Cabrera 1994) (Argentina has no frost-free areas,
22 with the exception of some ecological habitats (Burgos 1963)). Zones 2 and 3, on the contrary, are
23 exposed to more severe frosts, *P. sagittalis* is either scarce or absent (Fig. 3) and all the host
24 species frost and loose their aerial part in the fall (Logarzo & Gandolfo 2005). Thus, we propose

1 that during *A. versicolor* southward expansion migrants may have undergone strong selective
2 pressures that led to the acquisition (or the expression of) of mechanisms involving diapause and
3 univoltinism, in order to coordinate their life cycle to the phenology of the host plants. The
4 acquisition of diapause, though resulting in the loss of one generation, enabled the species to
5 expand its geographic range, and exploit new hosts. Host expansion, observed in Zone 2 and 3
6 populations, may end up, with time, in secondary specializations. Indeed, mtDNA sequence data
7 provide strong support to the idea of a recent range expansion in this species.

Eliminado: ¶

Eliminado: All the evidence presented so far (Table 6) suggest that

Eliminado:

Eliminado: has a genetic basis; that

Eliminado: and

Eliminado:

Eliminado: that

Eliminado: .

Eliminado:

8 Adressing the original questions in the light of all the evidence gathered (Table 6) in this
9 study, we conclude that: 1) intraspecific geographical variation in host use in *A. versicolor* is an
10 evolutionary derived condition, and *A. versicolor* is differentiated in at least three geographic
11 aces related to host use; 2) the cerambycid has evolved from being monophagous on *P. sagittalis*
12 and bivoltine in the putative ancestral Zone 1 to being oligophagous and univoltine in derived
13 populations of Zones 2 and 3, and evolutionary divergence was triggered by selective pressure of
14 host plants availability and abiotic constrains; and 3) reproductive isolation among zones
15 determined by host plant abundance, host plant and geographically- related male mating success,
16 and insect life cycle (voltinism) may end up in secondary specialization and diversification.

17 In general, it has been postulated the selective advantage of specialization (Dethier 1954),
18 which may imply that the prevailing direction of evolution is from generalists to specialists, and
19 not otherwise. Specialization has also been postulated as the process explaining the high diversity
20 in certain groups like plant feeding insects. However, phytophagous insects pass through phases of
21 host expansion during the colonization of novel hosts, called “evolutionary tinkering” (Armbruster
22 & Baldwin 1998, Scheffer & Wiegmann 2000), and specialization is not irreversible (Janz et al.
23 2006).

24 The importance of host range expansion events in the evolution of phytophagous insects may

1 have been neglected because they have an ephemeral nature (Nosil 2002, Janz et al. 2001) and tend
2 to be followed by secondary specialization, like the one that seems to be undergoing *A. versicolor*
3 in Zone 3. Specialization is far from being a “dead end” since it can be alternated with host
4 expansions and shifts (Janz et al. 2006). Diversity in host use allows a species to conquer new
5 habitats and expand geographically, which followed by secondary specialization and subsequent
6 geographic fragmentation (Kelley et al. 2000) or assortative mating (Hawthorne & Via 2001) is the
7 process generating diversification.

Eliminado: events

8
9 Acknowledgments
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

References cited

Armbruster, W. S. and B. G. Baldwin. 1998. Switch from specialized to generalized pollination. *Nature* 394: 632

Ballard, J. W. O. 2000. Comparative genomics of mitochondrial DNA in *Drosophila simulans*. *J. Mol. Evol.* 51:64–75.

Bernays E & M Graham (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.

Bigger D. S., Fox L. R. 1997. High-density populations of diamondback moth have broader host-plant diets. *Oecologia* 112:179–186.

Burgos J. J. 1963. Las heladas en Argentina. Colección científica de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Volo. III. INTA. Ediciones, Buenos Aires, Argentina. 389 pp.

Bush, G.L., 1994: Sympatric speciation: new wine in old bottles. *Trends in Ecology & Evolution*, 9:285-288.

Cabrera, A. L. 1994. Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, Tomo II, Fascículo 1. ACME, Buenos Aires. 85 pp.

1 Clement M, Posada D and Crandall KA. 2000. TCS: a computer program to estimate gene
2 genealogies. *Molecular Ecology* 9 (10): 1657-1660.

3 Craig, T.P., Itami, J.K., Abrahamson, W.G. & Horner, J.D. 1993. Behavioral evidence for host-race
4 formation in *Eurosta solidaginis*. *Evolution* 47: 1696±1710.

5 Crespi, B.J., and Sandoval, C.P. 2000. Phylogenetic evidence for the evolution of ecological
6 specialization in *Timema* walking-sticks. *J. Evol. Biol.* 13: 249-262.

7 Cunningham, J.P., West, S.A. & Wright, D.J. (1998) Learning in the nectar foraging behaviour of
8 *Helicoverpa armigera*. *Ecological Entomology*, 23, 363-369.

9 Dethier, V.G. 1954 Evolution of feeding preferences in phytophagous insects. *Evolution*, 8, 33–54.

10 Excoffier L, PE Smouse & JM Quattro (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric
11 distance among DNA haplotypes: application of human mitochondrial DNA restriction data.
12 *Genetics* 136: 343-359.

13 Ehrlich, P.R. and P.H. Raven. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*
14 18:586-608.

15 Erwin, T.L (1982) Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species.
16 *Coleopterists Bulletin* 36:74-75.

17 Fraenkel GS (1959) Raison d'etre of secondary plant substances. *Science* **129**: 1466–1470

18 Fu, Y. X.. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking
19 and background selection. *Genetics* 147: 915-925

20 Funk DJ & Bernays EA (2001) Geographic variation in host specificity reveals host range
21 evolution in *Uroleucon ambrosiae* aphids. *Ecology* 82: 726–739.

22 Futuyma, D.J., M.C. Keese, and S.J. Scheffer. 1993. Genetic constraints and the phylogeny of
23 insect-plant associations: responses of *Ophraella communa* (Coleoptera: hrysomelidae) to host
24 plants of its congeners. *Evolution* 47:888-905.

- 1 Futuyama DJ. 2001. Ecological specialization and generalization. In: Fox CW, Roff DA, Fairbairn
2 DJ, eds. *Evolutionary ecology: concepts and case studies*. London, UK: Oxford University
3 Press, 177–189.
- 4 Futuyama, D. J. & Keese, M. C. 1992. Evolution and coevolution of plants and phytophagous
5 arthropods. In: Rosenthal GA, Berenbaum M (eds) *Herbivores: their interactions with plant*
6 *secondary metabolites VII: Evolutionary and ecological processes*. Academic, San Diego, pp 439–
7 475
- 8 Futuyama DJ & Moreno G (1988) The evolution of ecological specialization. *Annual Review of*
9 *Ecology and Systematics* 19: 207–233.
- 10 Gaston, K.J. (1991) The magnitude of global insect species richness. *Conservation Biology* 5:283-
11 296.
- 12 Groman, J.D. & O. Pellmyr. 2000. Rapid evolution and specialization following host colonization
13 in a yucca moth. *Journal of Evolutionary Biology* 13:223-236.
- 14 Hawthorne, D.J. & Via, S. 2001. Genetic linkage of ecological specialization and reproductive
15 isolation in pea aphids. *Nature* 412: 904–907.
- 16 Hudson R. R. 1990. "Gene genealogies and the coalescent process." *Oxford Surveys in*
17 *Evolutionary Biology* 7: 1-44.
- 18 Hudson RR, Boos DD, Kaplan NL. A statistical test for detecting geographic subdivision. *Mol Biol*
19 *Evol.* 1992 Jan;9(1):138–151
- 20 Itami, J. K.; Craig, T. P.; Horner, J. D. 1998. Factors affecting gene flow between the host races of
21 *Eurosta solidaginis*. Pages 375-407 in S. Mopper and S. Strauss, Eds., *Genetic Structure and*
22 *Local Adaptation in Natural Insect Populations: Effects of Ecology, Life History and*
23 *Behavior*. Chapman and Hall, New York.
- 24 Jaenike, J. (1990) Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and*

- 1 Systematics, 21, 243–273.
- 2 Janz N, & Nylin S. 1998. Butterflies and plants: a phylogenetic study. *Evolution* 52:486-502.
- 3 Janz N, Nyblom K & Nylin S (2001) Evolutionary dynamics of host-plant specialization: a case
4 study of the tribe Nymphalini. *Evolution* 55: 783–796.
- 5 Janz, N., Nylin S. & N. Wahlberg 2006 Diversity begets diversity: host expansions and the
6 diversification of plant-feeding insects *BMC Evolutionary Biology* 2006, **6**:4 .
7 doi:10.1186/1471-2148-6-4
- 8 Kelley, S. T., and Farrell, B.D. 1998. Is specialization a dead end? The phylogeny of host use in
9 *Dendroctonus* bark beetles (Scolytidae). *Evolution* 52: 1731-1743.
- 10 Kelley, S. T., Farrell, B.D & J. B. Mitton. . 2000. Effects of specialization on genetic
11 differentiation in sister species of bark beetles. *Heredity* 84: 218-227.
- 12 Kimura, M. 1983 *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press,
13 Cambridge.
- 14 Logarzo, G.A.; D.E.Gandolfo & H.A. Cordo. 2002. Biology of *Apagomerella versicolor*
15 (Coleoptera: Cerambycidae) in Argentina, a Candidate for Biological Control of Cocklebur
16 (*Xanthium* spp.) in U.S. *Biological Control* 25: 22-29.
- 17 Logarzo, G. A. and D. E. Gandolfo. 2005 Análisis de voltinismo y la diapausa en poblaciones de
18 *Apagomerella versicolor* (Coleoptera: Cerambycidae) en el gradiente latitudinal de su
19 distribución en la Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 64: 143-146.
- 20 Mitter, C., B. Farrell. 1988. “The Phylogenetic Study of Adaptive Zones Has Phytophagy
21 Promoted Insect Diversification?” *American Naturalist* **132**(1): 107-128.
- 22 Moayeri, H. R. S., Ashouri, A., Brødsgaard, H. F. and Enkegaard A. 2007. Males of the predatory
23 mirid bug *Macrolophus caliginosus* exploit plant volatiles induced by conspecifics as a sexual

1 synomone. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 123 (1), 49–55

2 Moran, N. A. 1988. The evolution of host-plant alternation in aphids: evidence for specialization as
3 a dead end. *Am. Nat.* 132:681-706.

4 Nosil, P. 2002. Transition rates between specialization and generalization in phytophagous insects.
5 *Evolution* 56 : 1701-1706.

6 Papaj, D. R. 1986. Conditioning of leaf-shape discrimination by chemical cues in the butterfly,
7 *Battus philenor*. *Animal Behaviour*, 34, 1281–1288.

8 Percy DM, Page RDM, Cronk QCB: 2004. Plant-insect interactions: double-dating associated
9 insect and plant lineages reveals asynchronous radiations. *Syst Biol*, 53:120-127.

10 Prokopy, R.J., Diehl, S.R. and Cooley, S.S. (1988) **Behavioral evidence for host races in *Rhagoletis***
11 ***pomonella* flies**, *Oecologia* 76,138–147.

12

13 Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism
14 analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496–2497

15 Ramos-Onsins,S.E. and Rozas,J. (2002) Statistical properties of new neutrality tests against
16 population growth. *Mol. Biol. Evol.*, **19**, 2092–2100.

17 Robinson , B.W., D.S. Wilson, and G.O. Shea. 1996. Trade-offs of ecological specialization: an
18 intraspecific comparison of pumpkinseed sunfish phenotypes. *Ecol.* 77:170-178.

19 Scheffer & Wiegmann 2000) Scheffer, S. J., and B. M. Wiegmann. 2000. Molecular phylogenetics
20 of the holly leafminers (Diptera: Agromyzidae: Phytomyza): species limits, speciation, and
21 dietary specialization. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17: 244-255.

22 Schluter, D. 2000. Ecological character displacement in adaptive radiation. *American Naturalist*
23 156 (Supplement): S4-S16.

24 Singer, M. C., D. Ng, D. Vasco and C. D. Thomas. 1992. Rapidly evolving associations among
25 oviposition preferences fail to constrain evolution of insect diet. *American Naturalist* 139: 9-20.

1 23 Singer, M.C., Thomas, C.D. and Singer, M.(1993) **Rapid human-induced evolution of insect–host associations**, *Nature* 366,
2 681–683
3 24

4 Smith, D. C. 1988. Heritable divergence of *Rhagoletis pomonella* host races by seasonal
5 asynchrony. *Nature* **336**, 66 - 67

6 Tajima, F. 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA
7 polymorphism. *Genetics* 123:585-595

8 Templeton, A. R., K. A. Crandall, & C. F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic
9 associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping of DNA
10 sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132:619-633.

11 Thompson, J.N. (1998). The evolution of diet breadth: Monophagy and polyphagy in swallowtail
12 butterflies. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 563-578
13

14 Thompson, J.N. (1993) **Preference hierarchies and the origin of geographic specialization in host use in**
15 **swallowtail butterflies**, *Evolution* 47, 1585–1594
16

17 Tooker, J. F., W. A. Koenig, and L. M. Hanks. 2002. Altered host plant volatiles are proxies for
18 sex pheromones in the gall wasp *Antistrophus rufus*. *Proceedings of the National Academy of*
19 *Sciences of the United States of America* 99: 15486-15491(Available on-line in
20 <http://www.pnas.org/cgi/reprint/99/24/15486?>)

21 Wood T. K., and M. C. Keese. 1990. Host plant induced assortative mating in *Enchenopa*
22 treehoppers. *Evolution* 44: 619-628.

23
24
25

1 Table 1. Main characteristics of host plants of *Apagomerella versicolor*.

2

	<i>Pluchea sagittalis</i>	<i>Pluchea absinthioides</i>	<i>Xanthium cavanillesii</i>	<i>Ambrosia tenuifolia</i>
Tribe	Plucheeae	Plucheeae	Heliantheae	Heliantheae
Sub-tribe	--	--	Ambrosiinae	Ambrosiinae
Origin	Native	Native	Native	Native
Life Cycle	Perennial	Perennial	Annual	Perennial
Heigh	0.5-2 m	1.2-1.8 m	1-2 m	0.2-1 m
Growth Habit	Forb-Herb	Forb-Subshrub	Forb-Herb	Herb
Habitat	Moist, open places; flat areas with clayish or moist sandy soil. Riparian, common on roadsides.	Weedy species. Normal, saline or sandy soils. Edges of irrigation channels, marine coasts. Common on roadsides	Invasive weed. Grows mostly along river banks. Common on roadsides.	Low, salty fields, stubble, dunes and wasteland. Common on roadsides.
Common name	Wingstem camphorweed	Brea	South American Burr	Lacy Ragweed

3

4

5

6

7

8

9

10

11

Table 2. Patterns of field host plant utilization by *Apagomerella versicolor* in Zones 1, 2 and 3.

Host plant	Zone 1				Zone 2				Stand exam
	Stands exam.	Attacked stands (%)	Attacked plants/stand (%)		Stands exam.	Attacked stands (%)	Attacked plants/stand (%)		
			Mean	SD			Mean	SD	
<i>P. sagittalis</i>	12	100.0	44.0	26.0	47	95.7	44.0	25.8	0
<i>X. cavanillesii</i>	12	0.0	0.0	0.0	69	69.0	21.1	24.9	34
<i>A. tenuifolia</i> ¹	2	0.0	0.0	0.0	15	53.3	13.9	20.4	9
<i>P. absinthioides</i>	3	0.0	0.0	0.0	9	33.4	4.5	9.4	18

Plantas Hospedadoras	Zona 1				Zona 2				Zona 3			
	Manchones		Ptas /manch. atacadas (%)		Manchones		Ptas /manch. atacadas (%)		Manchones		Ptas /manch. atacadas (%)	
	Exam	Atac (%)	Media	DS	Exam	Atac (%)	Media	DS	Exam	Atac (%)	Media	DS
<i>P. sagittalis</i>	16	100.0	55.2	30.7	44	95.5	44.0	25.8	0	0	0.0	0.0
<i>X. cavanillesii</i>	15	0.0	0.0	0.0	75	73.3	23.7	28.6	29	24.1 ²	6.7	17.3
<i>A. tenuifolia</i> ¹	3	0.0	0.0	0.0	18	66.7	13.9	20.4	5	40.0	1.9	3.1
<i>P. absinthioides</i>	2	0.0	0.0	0.0	10	20.0 ²	1.4	3.8	20	90.0	20.5	24.9

¹ *Ambrosia tenuifolia* stands having plants with stem diameters > 6 mm were considered, 66.7% in Zc

overestimation of the plant species use.

²

- 1
- 2
- 3

1 Table 3. Mating test conducted to analyze the effect of host plant (a) and
 2 geographical origin (b) of the male in mating success. Every mate combination was
 3 conducted with about 50% of females of each zone. No female effect was observed in the 6
 4 combinations tested

5 a)

Males host plant origin	Rpl.	Successful mates	Successful male	P_{value}
<i>P. sagittalis</i> vs <i>P. absinthioides</i>	25	11-14	None	0.54
<i>P. sagittalis</i> vs <i>X. cavanillesii</i>	61	42-19	<i>P. sagittalis</i>	0.05
<i>P. absinthioides</i> vs <i>X. cavanillesii</i>	8	8-0	<i>P. absinthioides</i>	0.05

6 b)

Males geographic origin	Rpl.	Successful mates	Successful male	P_{value}
Zone 1 vs Zone 2	42	26-16	None	0.27
Zone 1 vs Zone 3	20	11-9	None	0.58
Zone 2 vs Zone 3	16	2-14	Zone 3	0.04

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

1 **Table 4.** Laboratory oviposition preference (multiple choice test) of *Apagomerella*
2 *versicolor* females coming from different host plants (plant origin) and Zones. At each
3 replicate, a female was caged with four hosts: *P. sagittalis*, *X. cavanillesii*, *A. tenuifolia* and
4 *P. absinthioides* for 24 hs. The percentage of host plant species used for oviposition by
5 each kind of female was calculated as number of attacked/offered plants of sp. A * 100.
6

Female origin		Repl.	Percentage of host plant species used for oviposition			
Area	Plant		<i>P. sagittalis</i>	<i>X. cavanillesii</i>	<i>A. tenuifolia</i>	<i>P. absinthioides</i>
Zone 1	<i>P. sagittalis</i>	12	100.0	0.0	0.0	0.0
Zone 2	<i>P. sagittalis</i>	13	100.0	53.8	0.0	0.0
	<i>X. cavanillesii</i>	15	86.7	46.7	0.0	0.0
	<i>A. tenuifolia</i>	8	75.0	50.0	25.0	0.0
	<i>P. absinthioides</i>	5	100.0	40.0	0.0	0.0
Zone 3	<i>P. absinthioides</i>	8	92.3	0.0	0.0	12.5

7

1 Tabla 5 . n: non-synonymous change. Dot: same nucleotide as the first sequence. N: number
 2 of individuals carrying a certain haplotype.

3

Ha plotype	Variable sites	N		
	n n n n n n	one 1	one 2	one 3
	111111222233333444555566666 6 24677991156880149667795 590788000112 48228361738361561362860 927635036283			
a	CAAAGTCCTGTAAATCTTCATT AGTTATTCTTCC	-	2 3	-
bT.	-	2	-
c	..G.....	-	1	-
dA.....	-	3	-
eG..	-	2	-
fT..... ..C.....T.	-	3	-
gC.....T.	5	2	-
hT.....	1	3	-
iC.	-	1	-
jA.....	-	1	-
kT.....	3	1	-
lC	-	1	-
m	.G..T.T...TG..... G..C.....	1	-	-
nA.T.....T... ..C.....	1	-	3
o	...T.....T.....	1	-	-
pT.....T	1	-	-
q	T..... ..C.....T.	1	-	-
rC...T.....	1	-	-
sT..T...	1	-	-
tT.....	1	-	-

C.....				
uA.T.A.....T... ...C.....	-	-		8
vC.....C...	-	1		-
wC...A.....T....	-	1		-
xA...T.C..... ...T.....	-	1		-
yC.....T.	-	1		-
zA...TC..CT....	-	1		-
aaC..	-	1		-
abC.....	-	1		-
	Total	7	1	5	1

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14

1 Table 6. Summary of findings

2 **NO HABRIA QUE AGREGAR ALGO SOBRE LOS HAPLOTIPOS?**

	Zone 1	Zone 2	
Relative Abundance			
<i>P. sagittalis</i>	High	Medium-Low	
<i>X. cavanillesii</i>	High	High	
<i>P. absinthioides</i>	Low	Low	
<i>A. tenuifolia</i>	Low	Low	
Attacked Stands (see Table 2)	100.0 % <i>P. sagittalis</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i>	95.7 % <i>P. sagittalis</i> 69.0 % <i>X. cavanillesii</i> 33.3 % <i>P. absinthioides</i> 1.0 % <i>A. tenuifolia</i> ²	7 6 2
Oviposition Preference (see Table 3)	100.0 % <i>P. sagittalis</i> 0.0 % <i>X. cavanillesii</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i> 0.0 % <i>A. tenuifolia</i>	90.2 % <i>P. sagittalis</i> 48.8 % <i>X. cavanillesii</i> 4.9 % <i>A. tenuifolia</i> 0.0 % <i>P. absinthioides</i>	88 12 0 0
Voltinism	At least bivoltine	Univoltine	Un
Diapause	Absent	Present	Pr

3 ¹ % of use of *A. tenuifolia* is overestimated (see M&M section).