

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

EFFECTO DE LA PLANTA HUESPED EN EL AISLAMIENTO REPRODUCTIVO ENTRE  
Altica ca. amethystina y A. ca. patruelis (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA CON ENFASIS EN GENETICA

RODOLFO ACHOY MORA

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO  
SAN PEDRO , MONTES DE OCA

1986

Quiero hacer un reconocimiento especial al profesor William E. Searns, director de este trabajo, por su ayuda, su orientación y su estímulo en todo momento.

DEDICATORIA

A los profesores Isaac Quintana, Carlos E. Talarco, Ricardo Soto, todos Miembros del Trófico, por las conferencias y el apoyo brindado; al profesor Carlos R. Villalobos, por su colaboración y su apoyo durante la realización de este estudio.

A todos mis compañeros, en especial a Carlos Rojas, Raúl Soto, Miguel Ruiz, Rafael S. A mis padres, José, Patricia y González, Julio Juárez, César Rojas. A mis hermanos, y

A mi esposa Elsa Mayela .

A Mary Dolores por el trabajo administrativo y el sustento brindado.

A Jorge Sáenz Cervantes y Richard White, por la identificación del material.

Al personal docente y administrativo de la Escuela de Biología, y a todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero hacer un reconocimiento especial al profesor William G. Eberhard, director de este trabajo, por su ayuda, su orientación y su estímulo en todo momento.

A los profesores Misael Quesada, Carlos E. Valerio, Ricardo Soto, todos Miembros del Tribunal, por las sugerencias y el apoyo brindado; al profesor Carlos R. Villalobos, por su colaboración y su apoyo durante la realización de este estudio.

A todos mis compañeros, en especial a Carlos Arias, Julio Arias, Misael Boza, Daniel Briceño, Roberto Céspedes, Patricia González, Julio Jiménez, Edgar Rojas y Angel Solís, por su apoyo y estímulo.

A Mary Solano por el trabajo mecanográfico y el estímulo brindado.

A Jorge Gómez Laurito y Richard White, por la identificación del material.

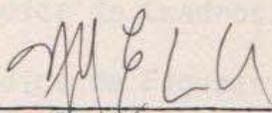
Al personal Docente y Administrativo de la Escuela de Biología, y a todas las personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de este trabajo.

EFFECTO DE LA PLANTA HUESPED EN EL AISLAMIENTO REPRODUCTIVO ENTRE  
Altica ca. amethystina y A. ca. patruelis (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

TESIS PRESENTADA EN LA ESCUELA DE BIOLOGIA

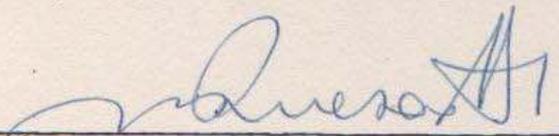
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

APROBADO



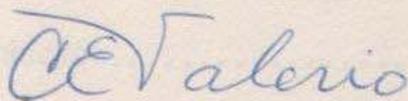
Dr. William G. Eberhard Crabtree

Director de Tesis



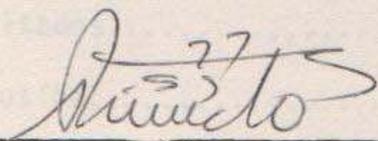
Lic. Misael Quesada Alpizar

Miembro del Tribunal



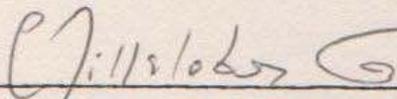
Dr. Carlos E. Valerio Gutiérrez

Miembro del Tribunal



M.Sc. Ricardo Soto Soto

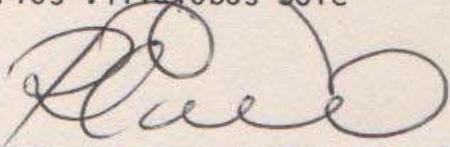
Miembro del Tribunal



M.Sc. Carlos Villalobos Solé

Miembro del Tribunal

Director Escuela de Biología



Rodolfo Achoy Mora

Sustentante

## INDICE GENERAL

Página

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	ii
Tribunal Examinador.....	iii
Indice General.....	IV
Indice de Cuadros.....	V
Indice de Figuras.....	VI
Resumen.....	VII

Introducción.....	1
Materiales y Métodos.....	9
Resultados.....	13
Discusión.....	38
Bibliografía.....	53

INDICE DE CUADROS

CUADRO		Página
1	Variación en el promedio de ovoposición de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> , <u>A. ca. patruelis</u> y del híbrido en apareamiento con machos de diferentes morfos.....	21
2	Promedio diario de ovoposición durante los primeros días de postura de tres morfos de <u>Altica</u> en tres plantas huéspedes.....	22
3	Sobrevivencia de larvas de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> criadas en tres plantas huéspedes.....	23
4	Tiempo de desarrollo en días de las formas inmaduras de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> , <u>A. ca. patruelis</u> criadas en dos plantas huéspedes.....	24
5	Peso en mgs de larvas criadas en dos plantas huéspedes en cruces de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> al finalizar el último estado larval.....	25
6	Sobrevivencia de pupas de cruces de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> criadas en dos plantas huéspedes.....	26
7	Proporción de larvas que completaron el desarrollo hasta el estado adulto en cruces de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> criadas en dos plantas huéspedes.....	27
8	Proporción de sexos de adultos emergidos de cruces de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> , <u>A. ca. patruelis</u> y la forma híbrida criadas en tres plantas huéspedes.....	28
9	Proporción sexual de adultos de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> en muestras de poblaciones naturales.....	29
10	Adultos de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> entremezclados en poblaciones naturales sobre <u>Ludwigia</u> erecta	30

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Página
1	Vista ventral del abdomen en hembra y macho de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> y <u>A. ca. patruelis</u> .....	31
2	Ovoposición promedio de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> en <u>Ludwigia</u> sp.....	32
3	Ovoposición promedio de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> en <u>Ludwigia</u> <u>erecta</u> .....	33
4	Ovoposición promedio de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>amethystina</u> en apareamiento con macho <u>A. ca. patruelis</u> .....	34
5	Ovoposición promedio de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>patruelis</u> en <u>L. erecta</u> .....	35
6	Ovoposición promedio de hembras de <u>Altica</u> ca. <u>patruelis</u> en <u>Gunnera insignis</u> .....	36
7	Ovoposición promedio de hembras híbridas de <u>Altica</u> ( <u>A. ca. amethystina</u> x <u>A. ca. patruelis</u> ) en <u>Ludwigia</u> sp.....	37

## RESUMEN

Altica amethystina (o muy cercana) y A. patruelis (o muy cercana) son especies morfológicamente similares, distinguibles por el color del adulto, azul y morado, respectivamente. A. amethystina habita en Ludwigia sp., L. erecta y L. peruviana, y A. patruelis habita en Gunnera insignis y ocasionalmente coexiste con A. amethystina en L. peruviana y L. erecta. A. amethystina nunca está en G. insignis, y A. patruelis muy rara vez está en Ludwigia sp.

La fecundidad de la hembra es independiente del macho con que es apareada, pero sí está afectada por la planta huésped. La mayor ovoposición se presenta en Ludwigia sp. y la menor en G. insignis. Ciertas características morfológicas de la hoja como pubescencia y textura, parecen influir en la ovoposición.

En el laboratorio las larvas de las dos especies sobreviven en L. erecta y Ludwigia sp., pero las de A. amethystina no logran desarrollarse en G. insignis. Los adultos de todas las formas y las larvas híbridas sobreviven en las tres plantas.

El color del adulto, así como la capacidad de utilizar la planta, parecen estar determinados genéticamente por un sistema autosómico. No existe una clara dominancia de un color sobre el otro, ya que los híbridos F1 no son ni azul ni morado, y los F2 presentan una amplia gama de tonos. El color varía por efecto de la luz y el ángulo de donde se mire el insecto, lo que hace difícil establecer categorías consistentes e impide determinar un modo de herencia.

El éxito de la hibridación demuestra que no existen barreras genéticas ni etológicas. El aislamiento reproductivo se mantiene por especificidad del huésped, ya que cada especie busca y llega a plantas distintas. El flujo génico se interrumpe porque a G. insignis, donde abunda A. patruelis, nunca llega A. amethystina y a Ludwigia sp. huésped de A. amethystina, rara vez llega a A. patruelis.

Debido a que en el laboratorio, A. amethystina no logró desarrollarse en G. insignis, es razonable pensar que la selección natural no favorezca su establecimiento en ella, por lo que la ausencia de A. amethystina en G. insignis parece indicar que han evolucionado mecanismos para que estos insectos no sean atraídos y no lleguen a hospedarse en esta planta.

## I N T R O D U C C I O N

La especie, como unidad básica de clasificación taxonómica, es un concepto importante, pero controversial para biólogos evolucionistas y sistemáticos. La variabilidad presente en la naturaleza hace difícil establecer un criterio uniforme sobre su definición y sobre los procesos que dan origen a nuevas especies (Bush 1975; Sokal 1974; Templeton 1981). Asimismo, aunque frecuentemente se acepta que la especie representa una categoría real y natural (Futuyma 1979), algunos autores lo consideran un concepto arbitrario y subjetivo (Ghiselin 1975; Sokal 1974; Sokal y Crovello 1970).

Tradicionalmente los taxónomos han utilizado características morfológicas para diferenciar las especies, generalmente sin considerar aspectos ecológicos o etológicos. Este método puede resultar poco preciso en aquellos casos donde los polimorfismos son comunes (Futuyma 1979), lo que es muy frecuente en poblaciones de insectos (Brown 1959; Diehl y Bush 1984; Krysan et al., 1983).

El concepto biológico define la especie como un grupo de poblaciones que se entrecruzan o que potencialmente pueden hacerlo y que están reproductivamente aislados de otros grupos de poblaciones similares (Mayr 1963). Este criterio tiene amplia aceptación entre muchos biólogos evolucionistas contemporáneos (Bush 1975; Diehl y Bush 1984; Futuyma 1979; Henry 1985). Otras interpretaciones han sido propuestas (Ghiselin 1975; Sokal 1974) con menor aceptación (Bush 1975; Gibbons 1979).

Una definición general del concepto de especie no satisface todos

Los casos. En organismos de reproducción asexual, como en procariotes, algunas plantas superiores y hongos imperfectos, por ejemplo, el concepto de Mayr no es aplicable. En estos grupos las especies están definidas por diferencias fenotípicas más que por el aislamiento reproductivo (Futuyma 1979).

Sin embargo, no siempre es clara la utilidad de este concepto en organismos de reproducción sexual. En estos grupos una nueva especie se origina al interrumpirse el flujo génico. Cuando este proceso no se ha completado y las poblaciones entran en contacto de nuevo, el aislamiento reproductivo no es total y se producen estados intermedios de especiación. Estas situaciones son consideradas excepciones de la definición biológica de especie, por lo que es poco conveniente ubicar estos grupos en esta categoría (Futuyma 1979).

Una situación similar se presenta cuando se establece una zona de hibridación entre distintas especies. Una aplicación estricta de la definición biológica de especie indicaría que tales poblaciones pertenecen a la misma especie (Sokal y Crovello 1970). No obstante si las poblaciones parentales no sufren el efecto de la hibridación, se puede aceptar que son especies diferentes (Futuyma 1979).

Es claro, que aunque el concepto biológico de especie presenta limitaciones y no es aplicable en todos los casos, ha resultado de gran utilidad en la comprensión de los procesos evolutivos, ecológicos y genéticos.

Las barreras reproductivas que implica este concepto pueden originarse por diferentes mecanismos (Templeton 1981). Estos son pre-cigóticos cuando previenen o evitan la fertilización, como ocurre entre poblaciones que ocupan diferentes habitats o que presentan variaciones en el comportamiento o en la época de reproducción. También estas barreras pueden ser pos-cigóticas si al ocurrir la fertilización se reduce el éxito del entrecruzamiento, originando cigotos no viables o híbridos estériles.

El establecimiento de barreras genéticas es frecuentemente gradual, dificultándose determinar si la población originada es una nueva especie o si representa únicamente un caso de variación intraespecífica (Futuyma y Mayer 1980). Un problema similar se presenta para distinguir cuáles características contribuyen actualmente o han estado asociadas con el aislamiento genético (Templeton 1981). Los estudios realizados en diferentes especies sobre cariotipos, secuencias de ADN, diferenciación isoenzimática y de características genéticamente determinadas, por ejemplo morfología y nicho ecológico, han demostrado que no existe un factor crítico o universal durante el proceso de especiación (Templeton 1981).

La diferenciación genética entre los miembros de una población acumula cambios que al afectar sistemas poligénicos da lugar a variantes fenotípicas. (Oliver 1972). Esta puede ser una de las causas por las que dentro de poblaciones de insectos se encuentren formas genéticamente distintas de la misma especie, biotipos o razas, que difieren en una o más características (Futuyma v Peterson 1985). Las variantes pueden es-

tar relacionadas con la preferencia y capacidad de sobrevivir y reproducirse en diferentes plantas, patrones de comportamiento, tamaño, color y otras características genética o ecológicamente determinadas (Diehl y Bush 1984). La evidencia documentada para algunos de estos casos permite concluir que tales variantes representan especies diferentes, como se establece en el membrácido Enchenopa binotata (Guttman et al. 1981), en el neuróptero Chrysoperla plorabunda (Henry 1985), y en varios crisomélidos, tales como Chrysomela (Brown 1959), Diabrotica (Krysan et al. 1983) y Altica corni, Altica rosae y Altica ulmi (Woods 1918).

El origen de nuevas especies ha sido explicado por tres modos de especiación: alopátrico, si existe separación geográfica, parapátrico, si las poblaciones divergentes están contiguas, y simpátrico, cuando los grupos comparten la misma área (Bush 1975). La especiación alopátrica es considerada por muchos autores como la única o al menos la más probable de ocurrir en la naturaleza (Futuyma y Mayer 1980; Mayr 1963). Sin embargo estudios recientes han acumulado evidencia en favor del modelo simpátrico. Maynard Smith (1966) propone que la especiación simpátrica se puede producir si en un ambiente heterogéneo se favorece un polimorfismo estable entre dos alelos que confieren ventaja selectiva en uno de dos nichos. De acuerdo con este modelo, las dos poblaciones pueden aislarse reproductivamente si los individuos se mantienen y aparean en el nicho en el que se desarrollaron. Esta selección de habitat ocurrirá si les confiere un alto valor adaptativo. Diversos estudios realizados han apoyado, directa o indirectamente, la validez de este modelo (Bush 1975; Gibbons 1979; Guttman et al. 1981; Tauber y Tauber 1977a, 1977 b ; Wood 1980),

aunque es cuestionado por otros autores (Futuyma y Mayer 1980).

La especiación simpátrica es más probable de ocurrir en parásitos fitófagos y parasitoides (Bush 1975), aunque no está restringida únicamente a estos grupos (Tauber y Tauber 1977 a, 1977 b).

En parásitos, incluyendo insectos hervíboros, es común que el apareamiento ocurra en sus huéspedes, por lo que la selección de la pareja está muy relacionada con la selección del huésped (Bush 1975). Un cambio en el sistema genético que controla la selección y reconocimiento del huésped, y en los genes que están asociados con la sobrevivencia, puede establecer una barrera en el flujo genético y reforzar el aislamiento ecológico (Bush 1975). Este proceso es utilizado para explicar las divergencias simpátricas por afinidad de huésped en moscas de la fruta del género Rhagoletis (Bush 1969, 1975). R. pomonella por ejemplo, especie asociada al espino, infestó por el año de 1860 al manzano y cerca de 1960 al cerezo. En estos nuevos huéspedes cada población se diferenció genéticamente al establecerse barreras ecológicas, aunque no etológicas (Bush 1969).

El membrácido Enchenopa binotata representa otro ejemplo en el que simpátricamente se produjo aislamiento genético por adaptación a la planta huésped, y por hábitos de comportamiento (Guttman et al. 1981; Wood 1980; Wood et al. 1982). Originalmente se consideró como una única especie que mostraba variación morfológica relacionada con cada una de las plantas huéspedes. Posteriores estudios de hibridación, selección de habitat,

escogencia de pareja y análisis electroforético demostraron que se trata de un complejo de seis diferentes especies, cada una asociada a un determinado huésped. Las poblaciones mostraron diferencias en la colocación y sitios de alimentación de ninfas, sitio de ovoposición, y se determinó que las hembras prefieren copular y ovopositar en sus huéspedes originales.

Otros ejemplos han sido descritos donde se sugiere un origen simpátrico de especiación tales como competencia entre himenópteros del género Megarhyssa (Gibbons 1979), incompatibilidad citoplasmática en mosquitos Aedes, variación en feromonas de apareamiento en Ostrinia nubilalis y otros casos mencionados por Bush (1975).

Los polimorfismos y razas biológicas presentes en muchos grupos de insectos son un problema difícil en taxonomía (Balbsbough 1980; Brown 1959), pero ofrecen interesantes oportunidades para comprender aspectos genéticos y evolutivos (Diehl y Bush 1984; Futuyma y Mayer 1985).

En Coleoptera, los crisomélidos representan un grupo donde las variaciones morfotípicas y razas simpátricas son especialmente comunes (Brown 1959; Diehl y Bush 1984). En varios casos se ha propuesto la especiación por la planta huésped como el factor determinante del aislamiento entre poblaciones que se entrecruzan en laboratorio (Diehl y Bush 1984). En Chrysomela interrupta individuos morfológicamente idénticos muestran disminución de la tasa de sobrevivencia si son alimentados con plantas distintas a su huésped natural (Brown 1959). En Diabrotica longicornis dos

morfotipos se diferencian genéticamente por asociación con huéspedes diferentes (Krysan et al. 1983). Eickwort (1971) estudió en el crisomélido Labidomera clivicollis un polimorfismo, una hendidura a los lados de una mancha negra en el centro del élitro. Ella determinó mediante cruces controlados, que la ausencia de la muesca está controlada por un gene autosómico dominante con penetrancia completa.

Dentro de los crisomélidos, Altica es considerado un género taxonómicamente difícil (Phillips 1977 a, 1977 b). Woods (1917, 1918) indica la presencia de razas biológicas en Altica bimarginata y separa la especie compuesta A. ignita en tres distintas especies (corni, rosae y ulmi). Para cada una de estas especies, hábitos biológicos como forma de depositar los huevos y escogencia de planta huésped fueron considerados definitivos y característicos (Woods 1918). Muchas especies de Altica son morfológicamente similares. El conocimiento de las relaciones de estos insectos con sus plantas huéspedes y de otros aspectos biológicos y ecológicos, facilitan su correcta identificación (Phillips 1977 a, 1977 b).

En Costa Rica se han observado dos especies de crisomélidos del género Altica, que son morfológicamente similares pero que se diferencian por el color de los adultos, azules y morados. R.E. White, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, identificó en 1985 la especie azul como Altica amethystina Oliver (o muy cercana) y la morada como A. patruelis Harold (o muy cercana). Este estudio se referirá a ellas por estos nombres, teniendo presente que son taxonómicamente muy cercanas a las respectivas especies.

Ambas especies en condiciones favorables se localizan en grandes grupos sobrepasando varios cientos de individuos.

A. amethystina está asociada, al menos, con tres especies de Ludwigia, (Onagraceae), L. erecta, L. peruviana y otra no identificada. Poblaciones puras de A. patruelis han sido observadas únicamente sobre Gunnera insignis. Sin embargo, ocasionalmente, las dos especies de Altica ocupan L. erecta, dando lugar al apareamiento mixto.

Manteniendo cruces controlados, bajo condiciones adecuadas, es posible estudiar aspectos de la genética que influyen en el aislamiento reproductivo entre especies (Templeton, 1981).

En este estudio, el flujo génico potencial se estima por medio del éxito relativo de los cruces en cuanto a viabilidad, fecundidad y sobrevivencia, en tanto que el aislamiento reproductivo puede estar indicado por esterilidad, inviabilidad y la pérdida de valor adaptativo debido a incompatibilidad genética (Peck, 1983).

El objetivo de este estudio es evaluar la efectividad del aislamiento reproductivo entre A. amethystina y A. patruelis por diversificación de habitat, así como determinar el modo de herencia del color del adulto, y conocer aspectos básicos de la historia natural de estos crisomélidos.

Los insectos estudiados fueron criados en el laboratorio a partir de adultos o de larvas provenientes de poblaciones naturales. Los ejemplares de A. patruelis se recolectaron en febrero de 1985 en Monteverde, Puntarenas (1600 msnm) agrupados en el suelo y en aparente migración, y en diferentes ocasiones de marzo 1985 a junio de 1986, sobre G. insignis en Bajo de la Hondura, Parque Nacional Braulio Carrillo (1200-1400 msm). Los individuos de A. amethystina fueron recolectados durante 1984, 1985 y 1986 sobre Ludwigia sp. en el Río Reventado y el Río Barquero, Cartago (1400 msm), y sobre L. erecta y L. peruviana en el Campus de la Universidad de Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca (1200 msm). En este último sitio, y en San Antonio de Escazú (1300 msm) en L. erecta, se observaron grupos entremezclados de las dos especies de Altica.

Se realizaron observaciones de campo para estudiar aspectos de la historia natural de estos insectos, tales como la afinidad o selección del huésped, los patrones de ovoposición, comportamiento gregario de los insectos en las diferentes plantas, proporción de sexos y frecuencia de apareamientos entre ambas especies.

La determinación del sexo se hizo utilizando un estereoscopio en el laboratorio, y un lente de aumento en el campo. En estas especies, como en otras de este género (Barstow y

Gittins 1973; Phillips 1977 a), los machos se distinguen por presentar en el último segmento abdominal una depresión con un lóbulo central que está ausente en las hembras (fig. 1).

Los cruces controlados se realizaron en el laboratorio, donde los sexos fueron separados a menos de 10 horas de emerger, garantizando así la virginidad de las hembras. Una hembra virgen con cinco o seis días de emergida se puso con un macho de edad indeterminada en un frasco de vidrio, con tapa metálica (con huecos) y adecuadamente aireado.

El efecto de los cruces de hembras con machos de la misma o diferente especie o con el híbrido, así como el efecto de la planta huésped en la fecundidad se evaluó midiendo el promedio de ovoposición diaria durante los treinta primeros días de apareamiento, dando a cada pareja hojas o pedazos de hojas frescas de Ludwigia sp., L. erecta o G. insignis. El tratamiento con Ludwigia sp. se efectuó únicamente en los cruces de A. amethystina y de la forma híbrida. El conteo de huevos se realizó cada dos o tres días al reemplazarse el alimento.

El efecto de la temperatura en el color se evaluó por

criando 20 larvas de A. amethystina a pasar a 32 C

La viabilidad de la progenie se estudió aislando y criando larvas de cada uno de los cruces. Para esto, los huevos se trasladaron cuidadosamente de las hojas donde las hembras ovopositaron a un papel de filtro humedecido en cajas de pe-

tri 100 x 15 mm. Se determinó el tiempo requerido para la eclosión de los huevos de los diferentes cruces criados en L. erecta.

Las larvas fueron separadas al azar en grupos de 40 a 50 individuos, los que fueron alimentados con una de las tres especies de planta indicadas, suministrando alimento fresco cada dos días. Cada grupo de larvas fue pesado en una balanza analítica Kern S-2000 y se determinó su estado de desarrollo.

Cuando las larvas iniciaron su último estado fueron trasladadas y alimentadas en recipientes de plástico de uno a dos litros, llenos de tierra hasta la mitad, donde puparon y alcanzaron el estado adulto.

Los adultos emergidos fueron sexados, y se examinaron para determinar su coloración observando si ésta varía al transcurrir el tiempo.

El efecto de la temperatura en el color se evaluó poniendo 20 larvas de A. amethystina a pupar a 32 c.

Se trató de disolver el pigmento machacando los élitros de ocho abejones en un mortero utilizando, como solventes acetona, cloroformo, xilol y etanol.

Los adultos fueron mantenidos vivos por lo menos durante siete días antes de ser sacrificados y preservados en alcohol 70°, con lo cual se dió tiempo para el endurecimiento de ciertas estructuras útiles en los estudios morfológicos de estos insectos.

Los resultados de ovoposición y de peso larval fueron analizados con la prueba de Kruskal-Wallis. Para analizar las diferencias en el desarrollo y sobrevivencia de los insectos, así como la variación en proporciones de sexo, se aplicaron pruebas de chi-cuadrado.

Los datos sobre la ovoposición de cada macho de hembra fueron combinados para los análisis estadísticos posteriores en aquellos casos donde las variaciones fueron insignificantes.

#### EFECTO DE LA PLANTA HUESPED EN LA TASA DE OVOPOSICION

Las tasas de ovoposición de los tres taxones de *Aitica* variaron en las diferentes plantas huéspedes (Cuadro 2). En todos los casos se produjeron huevos a lo largo del período (figs. 2 a 7) excepto en el de *A. anathemina* en *S. insignis*, donde solamente 2 de 40 hembras pusieron unos pocos huevos.

### EFFECTO DEL APAREAMIENTO CON MACHOS DE DISTINTOS MORFOS EN LA OVOPOSICION.

Los promedios diarios de huevos puestos por hembras de A. amethystina, A. patruelis y de la forma híbridos fueron determinados para una misma muestra a los 15 y 25 días del período de ovoposición (cuadro 1). Estos promedios fueron similares en los apareamientos con machos de los diferentes morfos para las hembras de A. patruelis y las híbridas en las tres plantas huéspedes estudiadas, y para A. amethystina en Ludwigia sp. y G. insignis (Cuadro 1). Sin embargo, la tasa de ovoposición de estas últimas hembras aumentó en los cruces con machos de A. patruelis en L. erecta ( $P < 0.005$ ).

Los datos sobre la ovoposición de cada morfo de hembra fueron combinados para los análisis estadísticos posteriores en aquellos casos donde las variaciones fueron insignificantes.

### EFFECTO DE LA PLANTA HUESPED EN LA TASA DE OVOPOSICION

Las tasas de ovoposición de las tres formas de Altica variaron en las diferentes plantas huéspedes (Cuadro 2). En todos los casos se producían huevos a lo largo del período (figs. 2 a 7) menos en el de A. amethystina en G. insignis, donde solamente 2 de 40 hembras pusieron unos pocos huevos

después de 35 días de apareamiento. Todas las hembras pusieron menos huevos en este huésped.

Las hembras de A. amethystina y las híbridas tuvieron una ovoposición más alta en Ludwigia sp. que en L. erecta (Cuadro 2). La ovoposición de A. amethystina en Ludwigia sp. (fig. 2) mostró una regresión lineal significativa ( $r^2 = 0.60$ ,  $F_{1,24} = 38.59$ ,  $P < 0.005$ ), indicando que el número de huevos puestos disminuye al envejecer las hembras. Sin embargo, en los demás casos las regresiones lineales no fueron significativas ( $P > 0.1$ ) durante los primeros 25 días de su vida.

Durante los primeros 15 días las hembras híbridas pusieron más huevos en L. erecta que las parentales, salvo en el cruce de hembras A. amethystina con machos de A. patruelis (Cuadro 2).

#### EFFECTO DE LA PLANTA HUESPED EN LA SOBREVIVENCIA DE ALTICA sp.

El ciclo de vida de las especies de Altica estudiadas presenta tres estados larvales, más el de la pupa, cuyo desarrollo y sobrevivencia fueron afectados por el huésped del que se alimentaron (cuadros 3 a 7).

La sobrevivencia de las larvas fue mayor en L. erecta, seguido por G. insignis y luego por Ludwigia sp., excepto en el caso de las hijas del cruce hembra A. patruelis con macho A. amethystina, de las que sobrevivieron mayor número en G. insignis (Cuadro 3).

Las larvas hijas de hembras A. amethystina, de cruces intra e interespecíficos, en L. erecta sobrevivieron mejor que las hijas de las hembras de A. patruelis (Cuadro 3). En este huésped, las larvas de los dos cruces intraespecíficos sobrevivieron mejor que las de cruces híbridos, pero en G. insignis las híbridas sobrevivieron mejor que las de A. amethystina e igual que las de A. patruelis. Las larvas de A. patruelis en Ludwigia sp. murieron más que las de A. amethystina y las de los cruces híbridos.

El tiempo de desarrollo de las formas inmaduras varió entre los cruces en las diferentes plantas. Los huevos criados en L. erecta tardaron más en eclosionar cuando provenían de cruces híbridos.

El desarrollo larval fue más lento en los cruces criados en G. insignis que aquellos en L. erecta, (Cuadro 4).

Las larvas híbridas en G. insignis tardaron menos en completar el ciclo, seguidas por las de A. patruelis, y finalmente por las de A. amethystina.

Las larvas de A. amethystina, tuvieron el desarrollo más rápido en L. erecta, seguido por las híbridas y luego por las A. patruelis.

Las larvas de A. amethystina criadas en L. erecta y en G. insignis, mostraron mayor mortalidad en el primer estadio ( $\chi^2 = 13.67$  y  $\chi^2 = 28.27$ ;

respectivamente, ambos  $P < 0.005$ ).

En G. insignis, la mortalidad en el primer estadio larval también fue más alta para los cruces intraespecíficos y el de ♀ A. patruelis x ♂ A. amethystina ( $X^2 = 37.46$ ,  $P < 0.005$  y  $X^2 = 8.36$ ,  $P < 0.025$ , respectivamente), mientras que en el cruce de ♀ A. amethystina x ♂ A. patruelis se observó una mortalidad similar en los tres estados larvales ( $X^2 = 0.42$ ,  $P > 0.10$ ).

Las larvas criadas en Ludwigia presentaron mayor mortalidad en el tercer estadio ( $X^2 = 9.22$  para A. amethystina,  $X^2 = 14.58$  para el cruce entre híbridas y  $X^2 = 17.84$  para A. patruelis, todos con  $P < 0.005$ ).

El tercer estadio fue también el más afectado para las larvas híbridas en L. erecta ( $X^2 = 49.98$ ,  $P < 0.005$  en el de ♀ A. patruelis x ♂ A. amethystina;  $X^2 = 8.75$ ,  $P < 0.025$  en el de ♀ A. amethystina x ♂ A. patruelis).

El efecto de las plantas huéspedes en el desarrollo también se observó en el peso de larvas de los distintos cruces (Cuadro 5). El peso de las larvas criadas en L. erecta fue mayor que en G. insignis. Las larvas de A. amethystina y las del cruce ♀ A. patruelis x ♂ A. amethystina pesaron más que las de los otros cruces cuando fueron criadas en L. erecta, mientras que en G. insignis las larvas de los cruces de hembras A. patruelis (tanto intra como interespecíficas) pesaron más que las de origen materno A. amethystina (Cuadro 5).

La sobrevivencia de las pupas de A. amethystina fue superior cuando las larvas fueron criadas en L. erecta que en G. insignis; en tanto que más pupas del cruce ♀ A. amethystina x ♂ A. patruelis sobrevivieron si las larvas se alimentaron de G. insignis, a la vez que para las pupas de los cruces de hembras A. patruelis la mortalidad fue similar en ambos huéspedes (Cuadro 6).

La proporción de individuos que completaron el desarrollo desde el estado larval hasta el adulto fue mayor en los cruces criados en L. erecta excepto por el ♀ A. patruelis x ♂ A. amethystina, que alcanzó más éxito en G. insignis. En este huésped este cruce originó más adultos que el de A. patruelis (Cuadro 7).

Se obtuvo más adultos de A. amethystina que de los otros cruces en L. erecta, en tanto que de 804 larvas de esta especie criadas en G. insignis únicamente emergió un macho, el cual tenía un evidente menor tamaño que el normal.

Finalmente, los cruces de A. patruelis y los de ♀ A. amethystina x ♂ A. patruelis mostraron proporciones similares de adultos emergidos tanto en L. erecta como en G. insignis (Cuadro 7).

Los adultos de las dos especies y los híbridos sobrevivieron en todos los huéspedes, durante el tiempo en que fueron realizadas las pruebas de laboratorio.

## PROPORCIONES DE SEXO

Las variaciones significativas en las proporciones de sexos de adultos criados en laboratorio (Cuadro 8) y en muestreos de poblaciones naturales (Cuadro 9) generalmente mostraron mayor número de hembras.

Los hijos de A. amethystina criados en las diferentes plantas mantuvieron una proporción de sexo 1 ♀ : 1 ♂ (Cuadro 8); no obstante en algunos casos en los adultos de esta especie originados de larvas colectadas en tercer estadio esta proporción varió significativamente. (Cuadro 9).

En los muestreos de poblaciones naturales sobre G. insignis (Cuadro 9), así como en los hijos de cruces controlados en G. insignis y en Ludwigia sp. (Cuadro 8) la proporción de sexos de A. patruelis fue 1:1. Sin embargo, cuando este morfo fue criado en L. erecta sus hijos presentaron una relación cercana a 5 ♀ : 3 ♂ (N=126,  $\chi^2_1 = 8.12$ ,  $P < 0.005$ ). Entre los adultos hijos del cruce ♀ A. patruelis con ♂ A. amethystina esta relación fue algo superior a 2 ♀ : 1 ♂ tanto en L. erecta (N= 55,  $\chi^2_1 = 8.01$ ,  $P < 0.005$ ) como en G. insignis (N= 91,  $\chi^2_1 = 10.56$ ,  $P < 0.005$ ); combinando los adultos hijos del cruce ♀ híbrido con ♂ A. patruelis, en Ludwigia sp. y G. insignis la proporción fue 5 ♀ : 1 ♂ (N;24,  $\chi^2_1 = 10.66$ ,  $P < 0.005$ ).

Entre los hijos del retrocruce ♀ A. amethystina con ♂ híbrido, tanto en Ludwigia sp. como en L. erecta y G. insignis se observó una

clara tendencia hacia una mayor proporción de hembras, pero únicamente fue significativa al combinar los resultados en los diferentes huéspedes (Cuadro 8), estableciéndose una relación de 4 ♀ : 3 ♂  $N=223$ ,  $\chi^2_1=4.31$ ,  $P < 0.005$ ).

#### CRUZAMIENTO Y TRASLAP. EN POBLACIONES NATURALES

En algunos grupos naturales de A. amethystina en L. erecta es frecuente la presencia de individuos de A. patruelis (Cuadro 10). En los diferentes muestreos combinados se determinó un 8 % de esta especie en una población de 707 abejones, aunque en dos casos esta proporción fue cercana a un 30% y 45% (Cuadro 10).

#### BASE GENÉTICA DEL COLOR DEL ADULTO

En todos los cruces realizados se comprobó que el color azul del adulto de A. amethystina y el morado de A. patruelis se hereda a los hijos independientemente del sexo y de la planta en que fueron criados, incluyendo el caso de A. amethystina criada en G. insignis donde el único adulto emergido mostró la coloración parental.

El color del adulto no varió con la edad del insecto. Se intentó disolver el pigmento con el fin de cuantificar su concentración o densidad en un espectrofotómetro. Para esto fueron machacados los élitros de ocho abejones en un mortero, utilizando como solventes acetona, cloroformo, xilol y etanol, pero los resultados fueron infructuosos.

La coloración del adulto tampoco parece verse afectada por la temperatura, ya que un grupo de 20 larvas de A. amethystina puestas a pupar a 32 C, originó 8 adultos deformes, con el mismo color de sus padres.

Los híbridos F 1 y F 2 presentaron una amplia gama de tonalidades intermedias entre el azul y el morado. Se trató de establecer relaciones entre la coloración de ciertas partes del cuerpo, por ejemplo en el pronoto, tórax, región interocular, borde y parte superior de élitros, abdomen, tibia y tarso, pero no fue posible definir patrones claros que permitieran agrupar los individuos en clases, ni clasificarlos en forma consistente. El ángulo de incidencia de la luz tiene efecto en la longitud de onda captada, ya que el color varía en diferentes posiciones.

El patrón observado en los híbridos muestra una aparente codominancia de los alelos que determinan el color del adulto, ya que ninguno de los colores predomina sobre el otro.

CUADRO 1

Variación en el promedio de ovoposición de hembras Altica ca. amethystina (A), A. ca. patruelis (P) y del híbrido A-P (H) en apareamientos con machos de diferentes morfos. N° de huevos/día. Los promedios a los 15 y 25 días corresponden a la misma muestra de hembras. N=número de hembras. Los promedios con la misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Kruskal-Wallis: a, b, c, P < 0.005.

PROMEDIO DE HUEVOS POR DIA

PRIMEROS 15 DIAS

PRIMEROS 25 DIAS

TIPO DE CRUCE Hembra - Macho	PRIMEROS 15 DIAS			PRIMEROS 25 DIAS		
	<u>Ludwigia sp.</u> X ± s. (N)	<u>L. erecta</u> X ± s. (N)	<u>Gunnera insignis</u> X ± s. (N)	<u>Ludwigia sp.</u> X ± s. (N)	<u>L. erecta</u> X ± s. (N)	<u>G. insignis</u> X ± s. (N)
A x A	32.8 <sup>±</sup> -15.1 (22)	15.7 <sup>±</sup> -5.1a (19)	0.00 (10)	34.5 <sup>±</sup> -14.9 (14)	14.6 <sup>±</sup> 3.2c (14)	0.00 (10)
A x P	36.7 <sup>±</sup> -16.3 (13)	33.8 <sup>±</sup> -9.9ab (20)	0.00 (10)	38.9 <sup>±</sup> 9.3 (10)	30.8 <sup>±</sup> -10.8c (17)	0.00 (10)
A x H	31.9 <sup>±</sup> 6.9 ( 5)	17.3 <sup>±</sup> - b ( 1)	-	-	-	-
P x P	-	14.7 <sup>±</sup> -3.0 (15)	2.7 <sup>±</sup> -1.4 (17)	-	12.5 <sup>±</sup> 2.6 (15)	2.6 <sup>±</sup> -1.1 (14)
P x A	-	12.8 <sup>±</sup> -2.8 (15)	2.4 <sup>±</sup> -1.0 ( 9)	-	11.4 <sup>±</sup> 2.0 (13)	2.2 <sup>±</sup> -0.6 ( 9)
H x H	32.3 <sup>±</sup> 4.4 ( 7)	22.2 <sup>±</sup> -3.6 ( 3)	-	31.9 <sup>±</sup> 6.5 ( 4)	-	-
H x A	22.7 <sup>±</sup> 6.9 ( 3)	23.4 <sup>±</sup> -5.4 ( 4)	-	27.0 <sup>±</sup> - ( 1)	-	-
H x P	35.4 <sup>±</sup> - ( 1)	20.6 <sup>±</sup> - ( 1)	-	-	-	-

CUADRO 2

Promedio diario de ovoposición durante los primeros días de postura de tres morfos de Altica en tres plantas huéspedes. N° de huevos/día. Los promedios a los 15 y 25 días corresponden a la misma muestra de hembras. N= número de hembras. Los promedios con la misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Kruskal-Wallis: a hasta q  $P < 0.005$ , r  $P < 0.05$ . Las letras mayúsculas a la derecha de un valor indican el(los) morfo(s) de los machos en cada apareamiento: (A) A. ca. amethystina, (B) A. ca. patruelis, (C) A. ca. amethystina y forma híbrida, (D) con machos de los tres morfos. En los demás promedios se combinan apareamientos con machos A. ca. amethystina y A. ca. patruelis.

PROMEDIO DE HUEVOS POR DIA

PRIMEROS 15 DIAS

Hembra	<u>Ludwigia sp.</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)	<u>L. erecta</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)	<u>Gunnera insignis</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)	<u>Ludwigia sp.</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)	<u>L. erecta</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)	<u>G. insignis</u>	$\bar{x} \pm s$ (N)
<u>A. ca. amethystina</u>	(D)33.9 <sup>±</sup> 14.6jk(40)	(C)15.7 <sup>±</sup> 4.9aejl(20)	0.00fk1(20)	36.2 <sup>±</sup> 12.8op(24)	(A)14.6 <sup>±</sup> 3.2gop(14)	0.00ipq(20)						
	(B)33.8 <sup>±</sup> 9.9abc (20)											

A. ca. patruelis

13.7<sup>±</sup>3.0bdm (30) 2.6<sup>±</sup>1.2 fm (26)

Híbrido (D)30.0<sup>±</sup>6.6r (11) (C)22.6<sup>±</sup>4.2cder( 8)

(C)31.0<sup>±</sup>6.0 ( 5)

12.0<sup>±</sup>2.4hm (28) 2.5<sup>±</sup>0.9 ain(23)

(B)30.8<sup>±</sup>10.8gh (17)

Sobrevivencia de larvas de cruces de Aitica ca. amethystina (A) y A. ca. patruelis (P) criadas en tres plantas huéspedes.

L. erecta  
G. insignis

Ludwigia sp.

Tipo de Cruce Hembra - Macho	Nº Inicial II	Estado larval		Nº Inicial I	Proporción que sobrevive el ciclo larval desde II	Nº Inicial I	Estado larval		Nº Inicial I	Proporción que sobrevive el ciclo larval desde II	Nº Inicial I	Estado larval		Nº Inicial I	Proporción que sobrevive el ciclo larval desde II	Nº Inicial I	Proporción que completa el ciclo larval desde I, II
		Proporción sobreviviente III	Proporción completa I				Proporción sobreviviente II	Proporción completa I				Proporción sobreviviente III	Proporción completa I				
A x A	808	0.77	0.70	564	0.54bm	0.97	0.98	1.00	0.95BCDL	0.98cdem	804*	0.08	0.28	0.16	0.00MIJL	0.04hijm	
P x P	305	0.72	0.54	177	0.39abno	0.89	0.94	0.89	0.75CEGM	0.84dfn	181	0.70	0.93	0.92	0.60HKM	0.86hko	
A x P	410	0.81	0.69	469	0.57apq	0.94	0.96	0.91	0.82BEFN	0.87cgpr	327	0.86	0.88	0.87	0.66IN	0.77iklqr	
P x A	-	-	-	109	-	0.97	0.92	0.64	0.57DFGO	0.58efgs*	131	0.84	0.92	0.95	0.73JKO	0.87jls	

Los promedios con la misma letra son significativamente diferentes en prueba de  $\chi^2$ : a hasta j, m hasta s, g, d, f, hasta N = P < 0.005

O P < 0.01  
Tk P < 0.025  
KE P < 0.05

La comparación en Ludwigia sp. se hace únicamente a partir de larvas que inician su segundo estado.

CUADRO 4

Tiempo de desarrollo en días de las formas inmaduras de cruces de Altica ca. amethystina (A) y A. ca. patruellis (P) criadas en dos plantas huéspedes.

Ludwigia erecta

Gunnera insignis

TIPO DE CRUCES	Ludwigia erecta										Gunnera insignis															
	Huevos					Estado larval					TOTAL					Estado larval					TOTAL					
	♀	♂	Ambito	N	̄x	I	Ambito	N	̄x	III	Ambito	N	̄x	Ciclo larval	I	Ambito	N	̄x	II	Ambito	N	̄x	III	Ambito	N	̄x
A	x	A	5.4abc	4-6	(959)	3.4gh	3-4	(547)	3.7lmm	3-4	(538)	7.2pqr	5-8	(537)	8.7abc	8-12	(73)	9.6ghi	7-10	(20)	22	opq	22	(2)	40.3ABC	
P	x	P	4.5ade	4-6	(232)	4.1gij	4-5	(154)	4.8i	4-5	(147)	12.7pst	7-18	(124)	6.1aef	5-9	(127)	6.5gjk	6-9	(119)	20.7mno	11-26	(38)	34.7ABE		
A	x	P	5.6bdf	5-7	(132)	3.9hik	3-4	(280)	4.8no	4-5	(382)	8.8qsu	7-9	(288)	6.9bde	6-8	(144)	7.3hjl	6-8	(112)	15.0mp	14-23	(83)	29.3BDF		
P	x	A	5.0cef	4-6	(193)	3.5jk	3-4	(104)	4.5no	4-5	(96)	8.4rtu	7-9	(53)	7.0cdf	5-8	(101)	7.1ikl	7-8	(94)	15.1nq	11-20	(71)	29.4CEF		

Los promedios con la misma letra son significativamente diferentes

P < 0.005) con la prueba de X<sup>2</sup>.

Peso en mgr. de larvas criadas en dos plantas huéspedes en cruces de Altica ca. amethystina (A) y A. ca. patruelis (P) al finalizar el último estado larval.

TIPO DE CRUCE		<u>L. erecta</u>		<u>G. insignis</u>	
Hembra	Macho	$\bar{x} \pm s$	(N <sub>1</sub> )	$\bar{x} \pm s$	(N <sub>2</sub> )
A	x A	45.3 <sup>±</sup> 2.2ai	(533)	10.6 <sup>±</sup> 0.2defi	( 3)
A	x P	42.3 <sup>±</sup> 3.8jabk	(326)	30.2 <sup>±</sup> 4.2eghjk	(144)
P	x P	42.9 <sup>±</sup> 2.2cl	(131)	36.6 <sup>±</sup> 1.9dgl	(111)
P	x A	45.9 <sup>±</sup> 2.0bcm	( 64)	34.7 <sup>±</sup> 0.9fhm	( 78)

Los promedios con la misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Kruskal-Wallis, aplicada en N<sub>2</sub>.

defijk	P <	0.005
l	P <	0.01
cgm	P <	0.025
a	P <	0.05
bh	P <	0.10

N<sub>1</sub> = Número total de larvas pesadas.

N<sub>2</sub> = Número de grupos de larvas pesadas.



CUADRO 7

Proporción de larvas que completaron el desarrollo hasta el estado adulto en cruces de Altica ca. amethystina (A) y A. ca. patruelis (P) criados en dos plantas huéspedes. Los valores con la misma letra son significativamente diferentes con la prueba de  $\chi^2$ : a hasta m  $P < 0.005$ , 1  $P < 0.025$ .

		<u>L. erecta</u>				<u>G. insignis</u>			
TIPO DE CRUCE		Inician lar,	Llegan a	Proporción	Inician lar,	Llegan a	Proporción		
Hembra -	Macho	estado larval	adulto		estado larval	adulto			
A	x	A	564	523	0.93abcj	804	1	0.00fghj	
P	x	P	177	126	0.71bek	181	102	0.56fkm	
A	x	P	469	345	0.74adl	327	205	0.63gl	
P	x	A	109	55	0.50cdei	131	91	0.69him	

CUADRO # 8

Proporción de sexos de adultos nacidos de cruces de Altica ca. amethystina(A), A.ca. patruelis (P) y la forma híbrida A-P (H) criados en tres plantas huéspedes.

TIPO DE CRUCE Hembra x Macho	Ludwigia sp.		L. erecta		G. insignis		TOTAL	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
A x A	287	285	264	271	-	1	551	557
				Proporción				
				0.97				
P x P	20	20	79	47	52	50	151	117
				Proporción				
				1.68a				
A x P	61	63	188	167	126	113	375	343
				Proporción				
				1.13				
P x A	-	-	38	17	61	30	99	47
				Proporción				
				2.23				
A x H	69	52	36	24	22	20	127	96
				Proporción				
				1.50				
H x A	6	6	-	-	9	8	15	14
				Proporción				
				-				
H x P	4	0	-	-	16	4	20	4
				Proporción				
				-				
H x H	27	33	13	14	6	5	46	52
				Proporción				
				0.93				

Nivel de significancia, en prueba  $\chi^2$

a  $P < 0.005$

b  $P < 0.01$

c  $P < 0.05$

Se indican únicamente las variaciones significativas ( $P < 0.05$ ) de lo esperado.

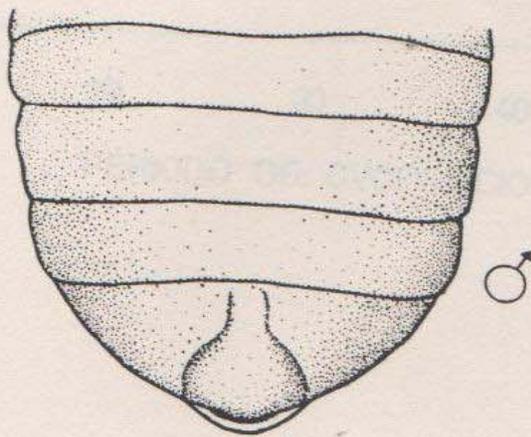
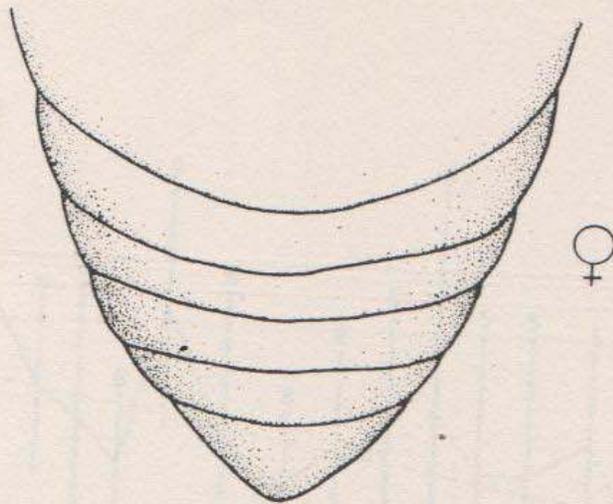


CUADRO 10

Adultos de Altica ca. amethystina (A) y A. ca. patruelis (P) entremezclados en poblaciones naturales sobre Ludwigia erecta.

	Solitarios Parejas ( $\phi-\sigma^1$ )							Total individuos (Proporción)		TOTAL
	P	A	A-A	P-P	P-A	P	A			
30-5-84	13	13	3	2	2	19(0.47)	21(0.53)		40	
6-9-84	1	36	7	1	3	6(0.10)	53(0.90)		59	
17-7-85	10	78	127	-	-	10(0.03)	333(0.97)		343	
1-6-85	8	10	11	-	7	15(0.27)	40(0.73)		55	
23-9-85	3	17	8	1	-	5(0.13)	33(0.87)		38	
26-9-85	1	42	62	-	2	3(0.02)	169(0.98)		172	
	36	196	218	4	14	58(0.08)	649(0.92)		707(1.00)	
	TOTAL									

Nota: Estos muestreos se realizaron entre 1p.m. y 3p.m., por lo que gran parte de los individuos no se encontraron aparados.



1mm.

Fig. 1. Vista ventral del abdomen en hembra y macho de *Altica* ca. amethystina y *A.* ca. patruelis.

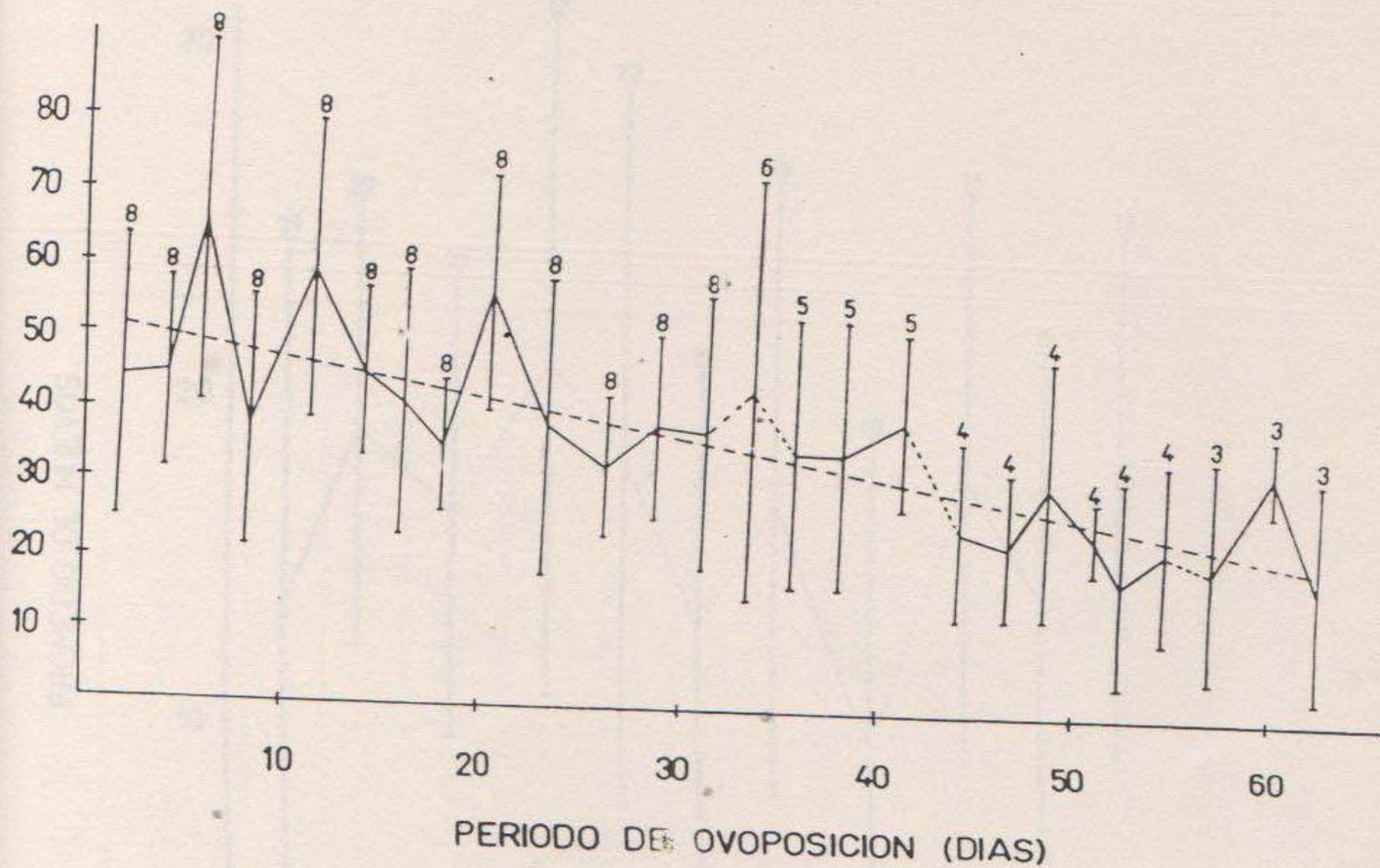


Fig. 2. Oviposición promedio de hembras *Altica ca. amethystina* en *Ludwigia* sp. . Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio, y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

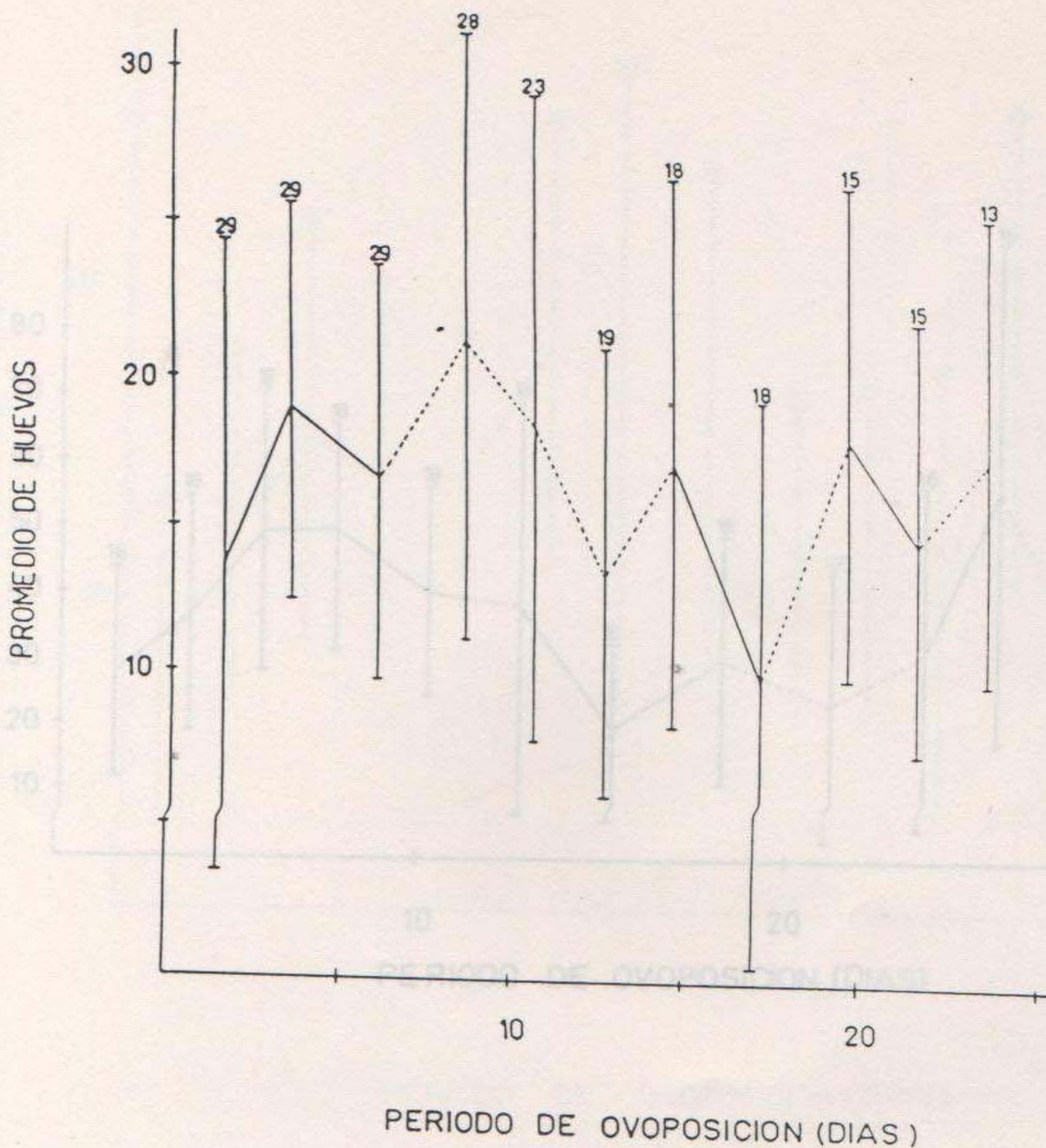


Fig. 3. Oviposición promedio de hembras de A. ca. amethystina en L. erecta. Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio, y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

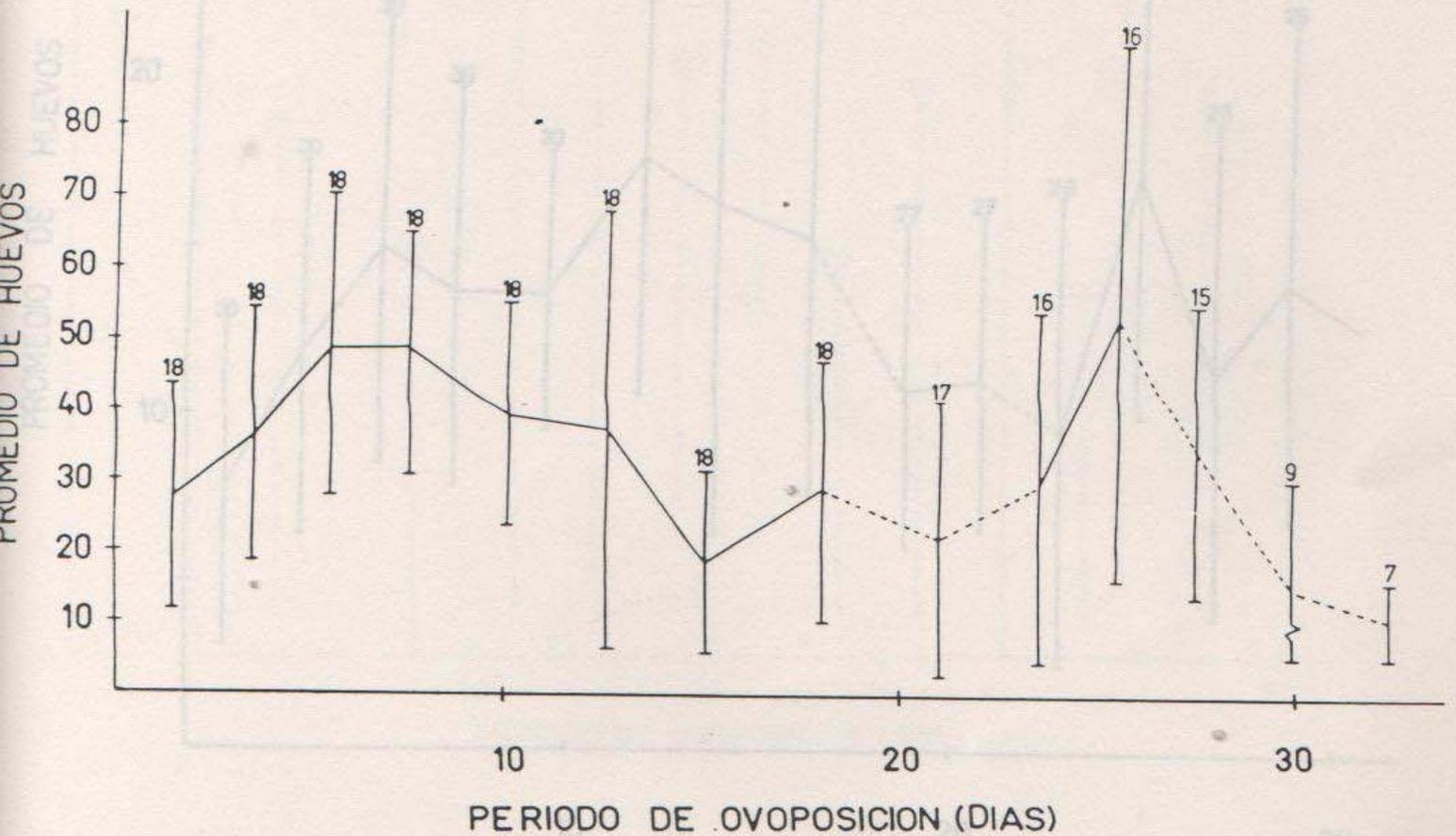


Fig. 4. Oviposición Promedio de hembras de A. ca. amethystina en apareamiento con macho A. ca. patruelis en L. erecta. Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio, y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

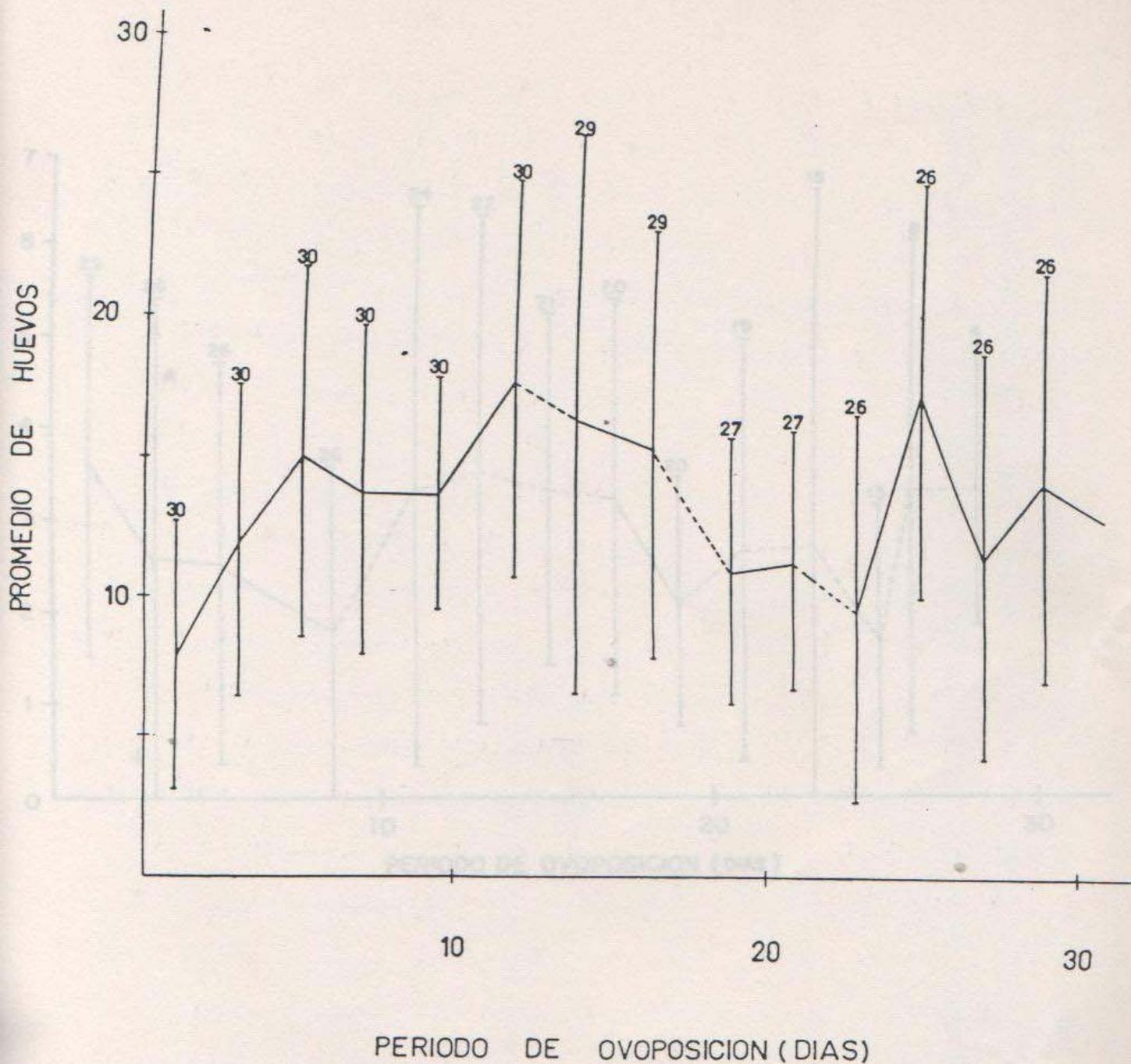


Fig. 5. Ovoposición promedio de hembras de A. ca. patruelis en L. erecta. Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio, y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

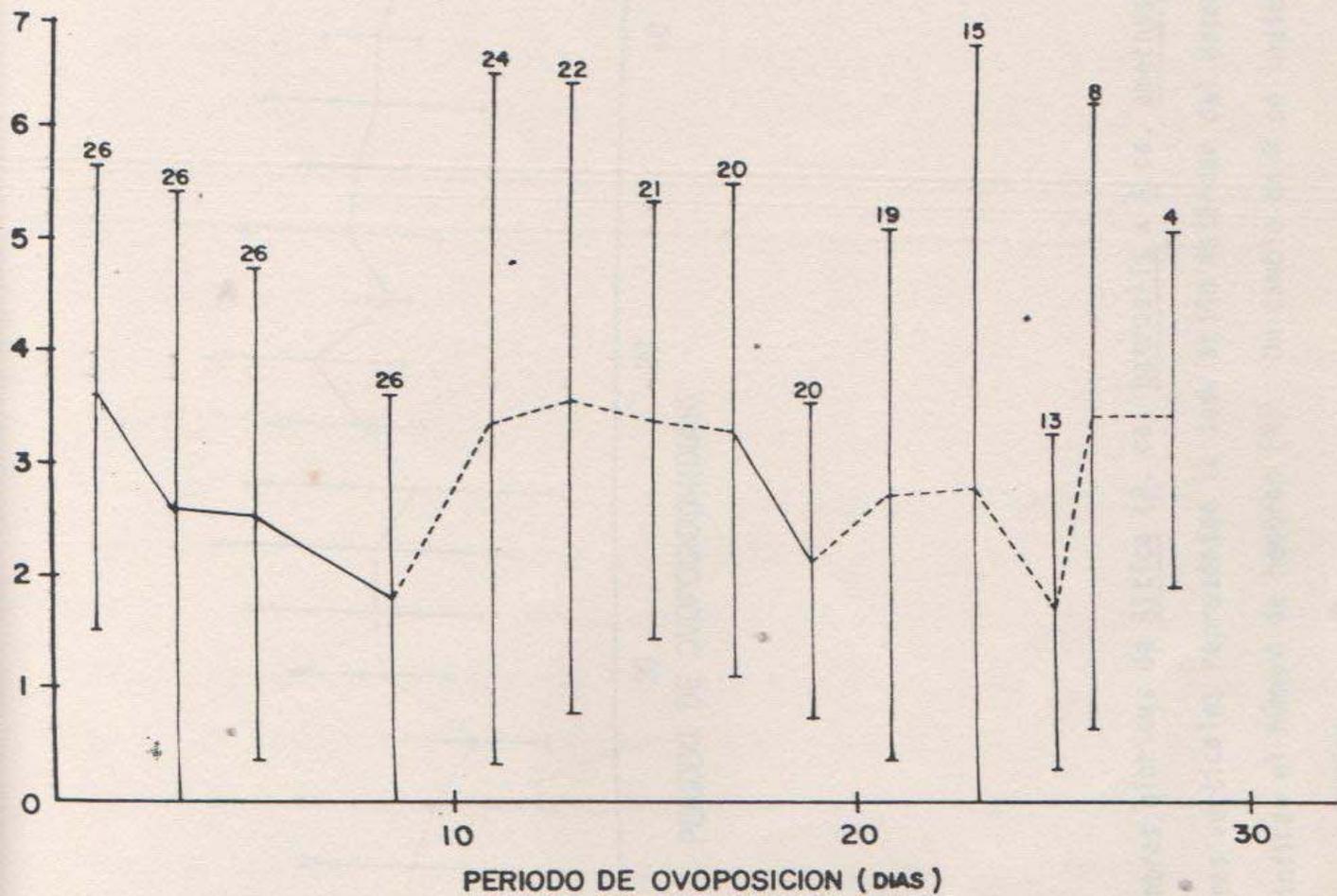


Fig. 6. Ovoposición promedio de hembras de *Altica ca. patruelis* en *Gunnera insignis*. Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio, y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

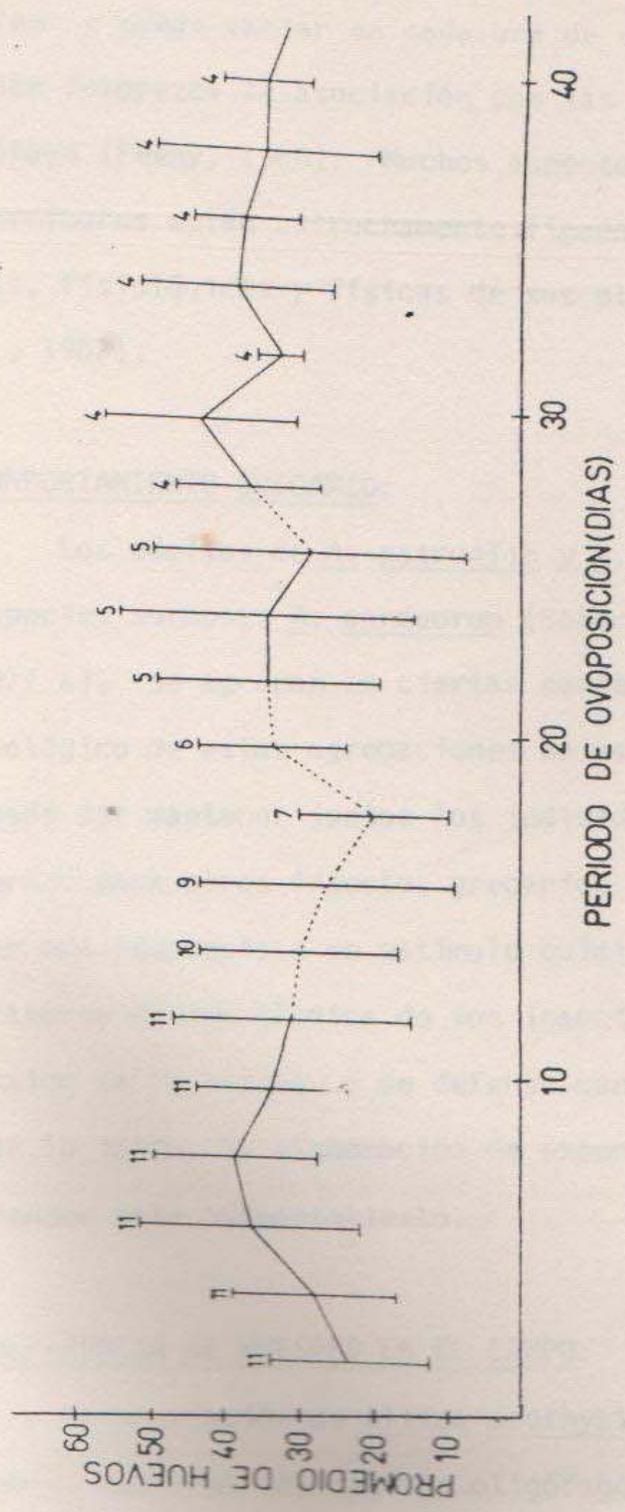


Fig. 7. Oviposición promedio de hembras híbridas de Altica (A. ca. patruelis x A. ca. amethystina) en Ludwigia sp.. Las líneas verticales representan la desviación estándar del promedio y los números sobre ellas indican el número de hembras (N). Un cambio en N se indica por una línea punteada entre los promedios.

El éxito reproductivo de los insectos asociados con diferentes plantas puede variar en cada una de ellas, dando lugar a que la selección favorezca la asociación con las más ventajosas para la especie fitófaga (Feeny, 1980). Muchos aspectos ecológicos y evolutivos de estos herbívoros están estrechamente ligados con las características nutritivas, fisiológicas y físicas de sus plantas huéspedes (Feeny, 1980; Futuyama, 1983).

#### COMPORTAMIENTO GREGARIO:

Los adultos de A. patruelis y A. amethystina, al igual que en las especies europeas A. carduorum (Baker, 1972) y A. lythri (Phillips, 1977 a), se agrupan en ciertas partes de la planta. El significado biológico de estas agregaciones no está bien claro. Una posible función puede ser mantener juntos los individuos de los dos sexos, como se ha sugerido para otros insectos gregarios (Phillips, 1977 a), o bien, puede ser una respuesta a un estímulo químico de la planta. También podría tratarse de una táctica de los insectos para reducir el efecto de algún tóxico de la planta, o de defensa contra depredadores. Es necesario, por lo tanto, la elaboración de experimentos adecuados que ayuden a comprender este comportamiento.

#### PREFERENCIA DE HUESPED EN EL CAMPO:

La asociación de Altica amethystina y A. patruelis con varios huéspedes, confirma los hábitos oligófagos de las especies de este género (Phillips, 1977 b; Woods 1917, 1918). Sin embargo, las observaciones en el campo demostraron que ambas especies tienen diferencias en la pre-

ferencia y selección del huésped. Así, A. amethystina se localiza en grandes grupos en Ludwigia sp., L. erecta y L. peruviana (Onagraceae); y A. patruelis es muy abundante en G. insignis (Gunneraceae) y ocasionalmente se ha visto en L. peruviana y L. erecta, compartiendo una misma planta con A. amethystina. Sin embargo, A. patruelis rara vez se observó en Ludwigia sp. y A. amethystina nunca se vió en G. insignis.

La coexistencia de varias especies en un mismo huésped parece ocurrir con alguna frecuencia en este género. En L. erecta en varias ocasiones también he observado un pequeño abejón Altica sp. (especie no identificada), y Phillips (1979) observó agrupaciones mixtas de A. oleracea y A. lythri en Chamaenerion (Onagraceae).

En el Refugio de Vida Silvestre de Tapantí, en Cartago, en junio de 1985 se observó un grupo de 81 adultos de A. patruelis en una planta de L. peruviana, entremezclada con otras de G. insignis. En este lugar se ha recolectado en L. peruviana unos pocos individuos de A. amethystina entremezclados con A. patruelis (Angel Solís, comunicación personal). Sin embargo en el Bajo de la Hondura A. patruelis solo está en G. insignis, a pesar de que L. peruviana es muy abundante (W. Eberhard, com. personal).

Las plantas de Ludwigia y los G. insignis son taxonómicamente muy distantes y de habitats diferentes. Las especies de Ludwigia crecen en lugares muy húmedos, especialmente en cercanías de ríos o quebradas, en tanto que G. insignis tolera sitios más secos. Así, la especie no iden-

tificada, Ludwigia sp. no se encuentra ni en el Bajo de la Hondura ni en Tapant pero se ha observado con grandes grupos de A. amethystina en el Río Reventado, Río Barquero, (Cartago) y en una quebrada cercana a la Fábrica Kativo.

Durante 1984 y 1985 en las Ludwigia sp. del Río Reventado y del Río Barquero la población de A. amethystina alcanzó varios miles de individuos, pero nunca se observó entre ellos ejemplares de A. patruelis. En los Ludwigia sp. de la quebrada cercana a la Fábrica Kativo tampoco fue común la presencia de A. patruelis, y únicamente en una ocasión en setiembre de 1984 se contaron 3 individuos de A. patruelis entremezclados con 101 de A. amethystina.

Estas observaciones indican que las dos especies son atraídas específicamente por huéspedes diferentes, lo que permite el establecimiento de una barrera reproductiva. Así, A. patruelis en G. insignis y A. amethystina en Ludwigia sp. logran mantenerse reproductivamente aisladas, ya que, en estas plantas se interrumpe el flujo génico entre ambas especies. Además, como la taxonomía actual relaciona cada una de estas especies con otra distinta, probablemente no son especies hermanas.

Este caso demuestra una vez más las limitaciones del concepto biológico de especie, toda vez que bajo ciertas circunstancias dos especies pueden cruzarse entre sí.

La selección del huésped puede estar determinada por diferentes

factores. Algunas propiedades de las plantas, como la concentración de atrayentes o repelentes químicos (Futuyma, 1983), el valor nutritivo o de sustancias tóxicas (Feeny, 1980) y las características visuales, mecánicas, gustativas y olfativas (Visser, 1986) pueden tener un papel importante en la selección. Debido al impacto de las sustancias químicas de las plantas en los insectos, la escogencia o cambio del huésped es más probable que ocurra entre plantas con características químicas similares (Feeny, 1980), como se ha sugerido para el crisomélido Aulacophora foveicollis (Alikhan y Yousuf, 1985). Algunos de estos factores pueden influir en la preferencia de huésped observada en las especies de Altica.

#### OVOPOSICION:

El morfo del macho con el cual fueron apareadas no influyó en la fecundidad de las hembras. Unicamente en los cruces de ♀ A. amethystina x ♂ A. ca. patruelis se presentaron variaciones con respecto a sus otros cruces. Esto sugiere que en este proceso no intervienen mecanismos específicos de estímulo macho-hembra. En algunos casos, hembras vírgenes no apareadas pusieron huevos inviables, lo que indica que la ovoposición depende, entre otros factores, de la fisiología de la hembra y no necesariamente de la cópula.

Se estableció que la especie de planta influye en la fecundidad de estos insectos. La ovoposición más alta fue en Ludwigia sp., luego en L. erecta y finalmente en G. insignis. Es posible que algunas propiedades químicas y físicas de estas plantas influyan en esta preferencia.

En especies oligófagas la ovoposición puede ser inhibida o estimulada por una variedad de compuestos químicos presentes en la planta (Futuyama 1983; Vissier, 1986). En ciertos casos la preferencia por un huésped depende de un equilibrio entre las sustancias repelentes y las estimulantes (Futuyama, 1983). Ottens y Todd (1979) en sus estudios con el curculiónido Graphognathus peregrinus, y Alikhan y Yousuf (1985) con el crisomélido Aulacophora foveicollis encontraron variaciones en la tasa de ovoposición en huéspedes diferentes. La preferencia de A. foveicollis es asociada con tres clases de alcaloides presentes en el huésped donde tiene más éxito (Alikhan y Yousuf, 1985).

La cercanía filogenética de las especies de Ludwigia hace suponer que su fisiología química es similar, aún cuando en otros aspectos pueden ser diferentes (Feeny, 1980), lo que puede explicar, en parte que en ambas plantas las diferencias de ovoposición fueran menos acentuadas que con respecto a G. insignis.

La menor ovoposición en G. insignis puede estar relacionada con la presencia en esta planta de sustancias fenólicas no identificadas (Fernández, 1984).

La ovoposición diaria de las hembras de A. amethystina en Ludwigia sp., estuvo relacionada con la edad, lo que ocurre comúnmente en otros crisomélidos, por ejemplo, en A. carduorum (Riordan y Peschken, 1970) y en Phytodecta olivacea (Waloff y Richards, 1958).

La relación de la ovoposición con la edad no fue establecida para las hembras de los otros morfos, quizás, debido a que el período analizado fue corto y a que hubo una apreciable variación en la fecundidad individual, también observada por Phillips (1977a) en A. lythri y A. oleracea.

En condiciones naturales las hembras de A. amethystina depositan los huevos en el envés de las hojas, agrupándolos cerca de la vena central. La mayor parte de los huevos puestos por A. patruelis quedan dispersos en el envés y unos pocos son colocados en fila junto a las venas principales de las hojas de G. insignis. Se desconoce cuál es el patrón de ovoposición de A. patruelis en L. erecta.

En el laboratorio no se dieron patrones definidos de ovoposición, y en algunas ocasiones los huevos fueron puestos en las paredes o en el fondo de los frascos donde se mantuvieron los insectos.

Phillips (1979) en sus estudios con las especies europeas A. lithri, A. ericeti, A. oleracea y A. patruelis, y Woods (1918) con las americanas A. corni, A. rosae y A. ulmi concluyen que los patrones de ovoposición son característicos y útiles en la identificación de especies. Las observaciones mencionadas anteriormente para las especies estudiadas en este trabajo parecen favorecer esta hipótesis, pues cada una tiene un comportamiento de ovoposición diferente en sus huéspedes naturales. En algunos insectos este comportamiento está controlado por unos pocos genes, pero existe mucha interacción genotipo-ambiente (Futuyma, 1983).

La ovoposición de las hembras de Altica parece ser afectada mecánicamente por las características físicas de las plantas. Phillips (1977 b) determinó en sus estudios sobre la preferencia y comportamiento de ovoposición de A. lythri, que las hembras ponen los huevos en plantas desprovistas de vellosidades. La capacidad de la hembra de detectar la morfología de la hoja, probablemente está relacionada con la presencia de sensilios táctiles en el ovopositor (Phillips, 1978). La menor frecuencia de ovoposición en G. insignis parece apoyar esta idea. Las hojas de esta planta vistas al estereoscopio tienen un envés con textura áspera, superficie reticulada, granulosa con espinillas en las venas y dispersas en la superficie. Las hojas de L. erecta tiene envés pubescente con tricomas en las venas y superficie granulosa. En su haz la pubescencia es mayor con pequeños gránulos y tricomas en venas y márgenes. Estas características contrastan con las de Ludwigia sp., donde pusieron más huevos y cuya superficie es lisa y presenta muy poca pubescencia.

#### SOBREVIVENCIA EN DISTINTOS HUESPEDES:

Los huevos puestos por hembras de A. amethystina y A. patruelis en L. erecta tardaron más en eclosionar cuando provenían de cruces híbridos. Esta situación parece reflejar cierto grado de incompatibilidad genética entre los morfos. Desafortunadamente no fue posible, antes de finalizar este estudio, determinar proporciones de mortalidad o inviabilidad de huevos de los diferentes cruces, dado que en algunos casos se observó depredación de huevos por larvas recién nacidas, lo cual podría haber afectado los resultados.

Un aspecto interesante que demuestra la predisposición genética de los insectos a un determinado huésped (Futuyma y Peterson, 1985), y que puede ser un indicador de diferencias en la integración genética de las especies (Peck, 1983) es la variación en el tiempo de desarrollo y la mortalidad de las larvas.

Los resultados de los cruces parecen indicar que hay factores genéticos que influyen en la capacidad de utilizar eficientemente las plantas. Así, las larvas híbridas desarrollan más rápido y eficientemente que las de A. amethystina en G. insignis, y que las de A. patruelis en L. erecta.

Oliver (1972) considera que en etapas tardías del desarrollo la incompatibilidad genética puede manifestarse al activarse nuevos genes. La más alta mortalidad de pupas híbridas que de puras en L. erecta puede sugerir cierta incompatibilidad entre las especies.

Las larvas criadas en G. insignis mostraron un crecimiento más lento, pesaron menos y, generalmente, originaron menos adultos que aquellas en L. erecta. Las diferencias en el aprovechamiento de las plantas pueden deberse a varias circunstancias, tales como indigestibilidad, valor nutritivo, variaciones en la tasa de consumo o a sustancias nocivas presentes en las plantas (Futuyma y Peterson, 1985). La evidencia de sustancias fenólicas en G. insignis (Fernández, 1984) puede indicar compuestos que afectan el desarrollo de los insectos.

Las larvas de A. amethystina en G. insignis tardaron más tiempo en completar el ciclo larval, alcanzaron cerca del 30% del peso de las larvas de los otros cruces en este huésped, la mortalidad larval fue casi total y el único adulto que nació fue de tamaño más pequeño que el normal.

Efectos similares se han observado en varios morfos de Chrysomela (Brown, 1959) y en A. lythri (Phillips, 1977b) cuando se han tratado de criar en plantas diferentes a su huésped natural.

En el laboratorio los adultos de A. amethystina sobrevivieron durante varias semanas en G. insignis, pero la incapacidad de las hembras en la ovoposición y el poco éxito de las larvas, factores claves en la selección del huésped, demuestran un bajo valor adaptativo de estos insectos en esta planta.

El fracaso de esta especie en esta planta explica que la selección no favorezca su establecimiento y que evolucionaran mecanismos para evitar que estos insectos la invadan o la visiten, de manera que la planta no les es atractiva. Esta situación es interesante porque puede constituir una barrera reproductora que ayuda a mantener aisladas ambas especies.

Las larvas de los diferentes cruces tuvieron un razonable éxito en L. erecta. Las de A. patruelis presentaron un ciclo larval más largo y menor sobrevivencia que las de A. amethystina, lo que puede reflejar una mayor adaptación de esta especie a esta planta.

La más alta mortalidad de larvas criadas en G. insignis, y en las de cruces intraespecíficos en L. erecta, se presentó en el primer estadio. Este resultado coincide con lo observado en Altica lythri (Phillips, 1977 b) y Aulacophora foveicollis (Alikhan y Yousuf, 1985).

En los cruces híbridos en L. erecta y aquellos criados en Ludwigia sp., la mortalidad fue mayor en el tercer estadio, lo cual frecuentemente se relaciona con deficiencias nutritivas de la planta (Alikhan y Yousuf, 1985).

Las pruebas de sobrevivencia, en general, demuestran que no existen problemas serios de incompatibilidad genética entre las dos especies, ya que las hembras son capaces de cruzarse con machos de diferentes morfos y producir una descendencia fértil. Brown (1959) obtuvo resultados similares en varias especies de Chrysomela.

#### PROPORCIONES DE SEXOS

Las proporciones de sexos de los adultos criados en laboratorio y en muestreos de poblaciones naturales indicaron un mayor número de hembras. En otras especies del género, desviaciones similares se han observado, proponiéndose en algunos casos una forma de reproducción partenogenética (Phillips, 1979). Sin embargo, no parece ser el caso de las especies estudiadas aquí, pues aunque hembras vírgenes ocasionalmente ovopositan, los huevos son infértiles. Una posibilidad es que entre la población se mantenga algún nivel de endogamia, lo que puede originar mayor número de hembras. Las variaciones en el laboratorio podrían deberse, al menos en parte, al parasitismo de que son víctimas las larvas

de A. amethystina por el sarcófago Chrysagria alticophaga, si es que larvas machos son más fácilmente parasitadas. De 641 larvas colectadas sobre Ludwigia sp. en Río Reventado, 152 (24%) estaban parasitadas.

#### BASE GENETICA DEL COLOR DEL ADULTO:

Los cruces híbridos mostraron que la coloración es heredada por un sistema autosómico, lo que también se ha determinado en el carábido Agonun decorum (Liebherr, 1983) y en el polimorfismo del crisomélido Labidomera clivicollis (Eickwort, 1971),

Aparentemente no existe en las especies de Altica estudiadas, una clara dominancia de un color sobre el otro, ya que todos los individuos F1 no fueron ni azul ni morado, y los F2 presentaron una amplia gama de tonos. Debido a que la tonalidad varía por efecto de la luz y del ángulo de los ojos, no se logró clasificar los individuos consistentemente, haciéndose difícil establecer un modo de herencia. Patrones intermedios de coloración son obtenidos en los híbridos de especies de Chrysomela (Brown, 1959).

#### AISLAMIENTO ENTRE ESPECIES:

El éxito de los híbridos en los diferentes huéspedes demuestra que entre estas especies no existen barreras genéticas ni etológicas capaces de interrumpir el flujo génico.

En el campo las dos especies se cruzan, pero existe una leve tendencia a aparearse con individuos de la misma especie (Eberhard, com. personal). Esto hace suponer, con mucha certeza, que entre estos grupos

hay híbridos, aunque por los problemas en la clasificación consistente de los colores no se ha comprobado.

La planta huésped juega un papel muy importante como barrera reproductiva entre ambas especies, no tanto porque los insectos no desarrollen en ellas (pues en laboratorio los híbridos desarrollan con éxito) sino porque cada especie busca huéspedes específicos. Así, en G. insignis, principal huésped de A. patruelis, nunca se ha observado A. amethystina; y en Ludwigia sp. , uno de los huéspedes de A. amethystina, solo en una ocasión se observó A. patruelis, y en una muy baja proporción (3 en un grupo de 104 abejas).

Por lo tanto, al buscar y ser atraídas por huéspedes distintos, ambas especies se mantienen separadas, lo que puede ayudar a establecer una barrera reproductiva.

La presencia ocasional de A. patruelis en plantas de Ludwigia no es un caso sorprendente. El género Altica está bien adaptado a plantas de esta familia, Onagraceae, y muchas especies están asociadas con ellas (Phillips 1977 b; Woods 1918). Este puede ser uno de los factores que contribuyen a que en un mismo huésped coexistan varias especies.

Esta capacidad de las especies de Altica de utilizar los Onagraceae, permite hipotetizar que A. patruelis inicialmente estaba en Ludwigia, y que posteriormente logró adaptarse a G. insignis, manteniendo aún la capacidad de hospedarse y desarrollarse con éxito en Ludwigia.

El fracaso de A. amethystina en G. insignis, demuestra que esta especie, a diferencia de A. patruelis, no logró adaptarse a esta planta y explica que la selección no favorezca su establecimiento en ella. Es posible, por lo tanto, que evolucionaran mecanismos que hacen que G. insignis no se presente atractiva para A. amethystina, por lo que esta especie no se siente estimulada a invadir o visitar a esta planta.

A. amethystina (o muy cercana) y A. patruelis (o muy cercana) son especies con mucha similitud morfológica y que ocasionalmente ocupan el mismo huésped. La primera se localiza en grandes números en Ludwigia sp., L. erecta y L. peruviana, y la otra en G. insignis, L. peruviana y L. erecta. A. amethystina nunca está presente en G. insignis, y muy rara vez A. patruelis está en Ludwigia sp.

En L. erecta, ambas especies se cruzan, si bien, existe una ligera tendencia a aparearse con individuos de la misma especie. La presencia de híbridos en el campo es muy probable, pues en el laboratorio desarrollan con mucho éxito. Sin embargo, no se ha comprobado ya que el color varía con la luz y con el ángulo de donde se ve, impidiendo clasificar consistentemente los individuos.

Los híbridos desarrollan bien y logran producir una abundante descendencia fértil, lo que demuestra que no hay incompatibilidad genética que interrumpa el flujo entre las especies. Las únicas posibles indicaciones de incompatibilidad son una mayor demora en la eclosión de huevos híbridos y una más alta mortalidad de pupas híbridas.

El aislamiento reproductivo entre estas especies puede mantenerse debido a que cada una busca huéspedes diferentes. Así, A. amethystina nunca llega a G. insignis, huésped de A. patruelis, y en muy rara ocasión A. patruelis está en Ludwigia sp., huésped de A. amethystina. Esta escogencia de distintos huéspedes ayuda a interrumpir el flujo génico y a que estas especies se mantengan aisladas. Es posible que no sean espe-

cies hermanas, ya que la taxonomía actual las asocia con dos especies diferentes.

La ausencia de A. amethystina en G. insignis demuestra que esta planta no atrae a esta especie, lo que podría ser una consecuencia de la evolución de mecanismos que evita que estos insectos lleguen a esta planta, donde tienen muy bajo o ningún valor adaptativo.

Los estudios de la genitalia de especies de Altica morfológicamente similares son de gran utilidad para identificarlas correctamente (Phillips 1979). Estudios de la genitalia de los machos de A. amethystina y A. patruelis muestran diferencias consistentes entre ambas (Eberhard y Achoy, en prep.), lo que indica que la genitalia puede ser usada en la taxonomía de estas especies. Estudios adicionales de los cromosomas y del comportamiento sexual serán interesantes para comparar ambas especies.

- Alikhan, M.A., y M. Yousuf. 1985. Effect of host on the oviposition and development and survival of the larvae of Aulacophora foveicollis Lucas (Chrysomelidae, Coleoptera). Can. J. Zool. 63: 1634-1637.
- Baker, C.R.B., R.L. Blackman y M.F. Claridge. 1972. Studies on Haltica carduorum Guerin (Coleoptera: Chrysoidea: Chrysomelidae), an alien beetle biological control of creeping thistle, Cirsium arvense (L.) Scop. J. of Applied Ecol. 9:819-830.
- Balsbaugh, E.U. 1980. New collection records of three rare species of flea beetles: Distigmoptera foveolata Balsbaugh, D. texana Blake, and Altica nancyae Stirrett. Journ. Kansas Entomol. Soc. 53 (4): 833-836.
- Brown, W.J. 1959. Taxonomic problems with closely related species. Ann. Rev. Entomol. 4: 77-98.
- Bush, G.L. 1969. Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus Rhagoletis (Diptera, Tephritidae). Evolution 23: 237-251.
- Bush, G.L. 1975. Modes of animal speciation. Ann. Rev. Ecol. Syst. 6: 339-364.
- Diehl, S.R., y G.L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. Ann. Rev. Entomol. 29: 471-504.
- Eickwort, K.R. 1971. The ecology of Labidomera clivicollis, a relatively rare milkweed beetle closely related to the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae, Doryphorim). Ph.D. Thesis Cornell U, Ithaca, N.Y.
- Feeny, p. 1980. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. IN: Coevolution of animals and plants. L.E. Gilbert and P.H. Raven (eds) U. of Texas Press, 2<sup>nd</sup> Ed. pp 3- 19.
- Fernández, D. 1984. Estudio anatómico y morfológico de Gunnera insignis (Oerst) A.DC. Rev. Biol. Trop. 32 (2): 197-202.
- Futuyma, D.J. 1979. Evolutionary biology. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 565 pp.

- Futuyma, D.J. 1983. Evolutionary interactions among herbivorous insects and plants. In: COEVOLUTION. D.J. Futuyma & M. Slatkin (Eds) Sinauer Associates Inc. pp 207-231.
- Futuyma, D.J. , y G.C.Mayer. 1980. Non-allopatric speciation in animals. Syst. Zool. , 29:254-271.
- Futuyma, D.J. y S.C. Peterson. 1985. Genetic variation in the use of resources by insects. Ann. Rev. Entomol. 30: 217-38.
- Gliselin, M.T. 1975. A radical solution to the species problem. Syst. Zool. 23: 536-544.
- Gibbons, J.R.H. 1979. A model for sympatric speciation in Megarhyssa (Hymenoptera: Ichneumonidae): competitive speciation. Amer. Nat. 114: 719-741.
- Guttman, S.I.; T.K. Wood y A.A. Karlin. 1981. Genetic defferentiation along host plant lines in the sympatric Enchenopabinota Say complex (Homoptera: Membracidae). Evolution 35: 205-217.
- Henry, C.S. 1985. Sibling species, call differences, and speciation in green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae: Chrysoperla). Evolution 39: 965-984.
- Krysan J.L. R.F. Smith, y P.L. Guss. 1983. Diabrotica barberi (Coleoptera: Chrysomelidae) elevated to species rank based on behavior, habitat choice, morphometrics, and geographical variation of color. Ann. Entomol. Soc. Am. 76: 197-204.
- Liebherr, J.K. 1983. Genetic basis for polymorphism in the Ground Beetle, Agonum decorum (Say) (Coleoptera: Carabidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 76: 349-358.
- Maynard Smith, J. 1966. Sympatric speciation. Amer. Natur. 100: 637-650.
- Mayr, E. 1963. Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 797pp.
- Oliver, C.G. 1972. Genetic and phenotypic defferentiation and geographic distance in four species of Lepidoptera. Evolution 26: 221-241.

- Ottens, R.J. , y J.W. Todd. 1979. Effects of host plant on fecundity, longevity, and oviposition rate of a whitefringed beetle. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 72: 837-839.
- Peck, S.B. 1983. Experimental hybridizations between populations of cavernicolous *Ptomaphagus* beetles (Coleoptera: Leiodidae: Cholevinae). *Can. Ent.* 115:445-452.
- Phillips, W.M. 1977 a. Observations on the biology and ecology of the chrysomelid genus Haltica Geoff. in Britain. *Ecol. Entomol.* 2:205-217.
- Phillips, W.M. 1977 b, Some aspects of the host plant relations of the chrysomelid genus Haltica with special reference to Haltica lythri. *Ent. exp. & appl.* 21-274.
- Phillips, W.M. 1978. Sensilla types from the ovopositor of flea beetle Altica lythri (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ent. exp. & appl.* 24:399-400.
- Phillips, W.M. 1979. A contribution to the study of species relations within the chrysomelid genus Altica Muller in Britain. *Zool. J. of Linnean Soc.* 66 (3): 289-308.
- Riordan, D.F. y D.P. Peschken. 1970. A method for obtaining P labelled eggs of the flea beetle Altica carduorum (Coleoptera: Chrysomelidae). *Can. Ent.* 102: 1613-1616.
- Sokal, R.R. 1974. The species problem reconsidered. *Syst. Zool.* 22: 360-374.
- Sokal, R.R. y T.J. Crovello. 1970. The biological species concept: a critical evaluation. *Amer. Natur.* 104:127-154.
- Tauber, C.A. y M.T. Tauber. 1977 a. Sympatric speciation based on allelic changes at three loci: evidence from natural population in two habitats. *Science* 197: 1298-1299.
- Tauber, C.A. y M.T. Tauber. 1977 b. A genetic model for sympatric speciation through habitat diversification and seasonal isolation. *Nature* 268: 702-705.

- Templeton, A.R. 1981. Mechanisms of speciation—a population genetic approach. *Ann Rev. Ecol, Syst.* 12: 23-48.
- Visser, J. H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Ann. Rev. Entomol.* 31: 121-144.
- Waloff, N. y Richards, O.W. 1958. The biology of the Chrysomelid beetle, Phytodecta olivacea (Foster), *Coléoptera: Chrysomelidae Trans. R. ent. Soc. Lond* 110 (5): 99-116.
- Wood, T.K. 1980. Divergence in the Enchenopa binotata Say complex (Homoptera: Membracidae) effected by host plant adaptation. *Evolution* 34: 147-160.
- Wood, T.K. y S.I. Guttman. 1982. Ecological and behavioral basis for reproductive isolation in the symatric Enchenopa binotata complex (Homoptera: Membracidae). *Evolution.* 36: 233-242.
- Woods, W.C. 1917. The biology of the alder flea-beetle. *Bull. Me.Agric. Exp. Stn.* 265: 249-289.
- Woods, W.C. 1918. The biology of the Maine species of Altica. *Bull. Me. Agric. Exp. Stn.* 273, 149-204.