

## Control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante su feromona para la interrupción del apareamiento

Control of *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) through its pheromone for mating disruption

FELIPE BOSA O.<sup>1</sup>, PABLO OSORIO M.<sup>2</sup>, ALBA MARINA COTES P.<sup>3</sup>, MARIE BENGTTSSON<sup>4</sup>,  
PETER WITZGALL<sup>5</sup>, TAKEHIKO FUKUMOTO<sup>6</sup>

**Resumen:** El objetivo del trabajo fue evaluar la técnica de control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) por medio de la interrupción del apareamiento para su posible factibilidad en el cultivo de la papa. En un túnel de viento una mezcla antagonista de la feromona constituida por E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac en la proporción 100:50:100, respectivamente (70 mg por dispensador) produjo una inhibición total en la atracción de machos hacia la feromona liberada por las hembras, en comparación con hembras liberando la feromona (69% de atracción). En campo esta mezcla a 10 ng/trampa inhibió significativamente la captura con dos machos/trampa, a diferencia de trampas control conteniendo E3-12Ac y Z3-12Ac (100:1 respectivamente) capturándose 50 machos/trampa. En 3 ha tratadas con la mezcla antagonista en dispensadores colocados en la base de plantas de papa a una densidad de 1.227 dispensadores/ha, (equivalente a 86 g de feromona/ha), se redujo significativamente la captura de machos en trampas para monitoreo en 94%, en 89% en trampas con hembras y la cópula de parejas confinadas se redujo en 67%, en comparación con un área testigo (1 ha sin tratar). Estos resultados indican el potencial de esta técnica para reducir poblaciones de la plaga.

**Palabras clave:** Papa. Semioquímicos. Túnel de viento.

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the control of *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) through mating disruption for its possible feasibility in potato crops. In a wind tunnel, an unbalanced blend of the pheromone consisting of E3-12Ac, Z3-12Ac and 12Ac in the proportion 100:50:100, respectively (70 mg per dispenser), produced a total inhibition of male attraction to the pheromone released by females, as compared to females releasing the pheromone (69% attraction). In the field, this blend at 10 ng/trap significantly inhibited capture with two males/trap, whereas control traps containing E3-12Ac and Z3-12Ac (100:1 respectively) captured 50 males/trap. In 3 ha treated with the unbalanced blend in dispensers placed at the base of potato plants at a density of 1,227 dispensers/ha (equivalent to 86 g of pheromone/ha), male attraction was significantly reduced to monitoring traps by 94%, by 89% to traps with females, and mating of confined pairs was reduced by 67%, in comparison with a control area (1 ha untreated). These results indicate the potential of this technique for reducing populations of the pest.

**Key words:** Potato. Semiochemicals. Wind tunnel.

### Introducción

Uno de los insectos plaga más limitantes en la producción y comercialización del cultivo de la papa en países de Centro y Sur América es la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny, 1973 (Corredor y Flórez 2003). En Colombia este insecto está presente en más del 80% de las zonas productoras de papa de los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia, provocando pérdidas significativas en la cadena de producción con una disminución en los rendimientos anuales superiores al 30% (Arévalo 2003). Los estados larvales se alimentan exclusivamente de los tubérculos, afectando tanto los destinados para semilla en condiciones de almacenamiento como aquellos presentes en el campo (Arévalo 2003). Algunos estudios han demostrado que en campo los adultos pueden congregarse en los bordes de los cultivos, permanecer refugiados en el follaje de las malezas y las hembras copuladas ovipositar en la base de los tallos, en cercanía a la base de las plantas o sobre los tubérculos expuestos en el suelo (Torres 1989).

Para el manejo de esta plaga bajo condiciones de campo, sólo unos pocos insecticidas químicos han sido aprobados por el ICA (Arévalo y Castro 2003). Sin embargo, las aplicaciones frecuentes de estos productos pueden producir riesgos de neurotoxicidad por exposición aguda y crónica, impacto sobre la entomofauna benéfica e invertebrados acuáticos, causar problemas de resistencia del insecto y de contaminación irreversible en suelos por la formación de residuos no extraíbles (Liñan 1997). A diferencia de los insecticidas químicos, el uso de semioquímicos, incluidas las feromonas sexuales, no representa riesgo toxicológico, ambiental o para la salud humana, debido a que estos están clasificados en la categoría toxicológica IV, según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA 2006). Las feromonas son sustancias liberadas al ambiente por las hembras de una especie en cantidades mínimas, debido a su alta especificidad sólo afectan el comportamiento sexual de los individuos de la misma especie (Haynes y Baker 1988). Una feromona está constituida por varios compuestos llamados primarios y secundarios

<sup>1</sup> Autor para correspondencia. Investigador, M. Sc. en Ecología química, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. [carlosfelipeb@yahoo.es](mailto:carlosfelipeb@yahoo.es).

<sup>2</sup> Investigador, Ingeniero Agrónomo, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. [posorio@yahoo.com](mailto:posorio@yahoo.com).

<sup>3</sup> Investigadora, Ph. D. en Fitopatología, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. [cotesprado@yahoo.com](mailto:cotesprado@yahoo.com).

<sup>4</sup> Profesora, Ph. D. en Química, Universidad Agrícola de Suecia (SLU), Box SE 44 230-53 Alnarp Sweden. [marie.bengtsson@vv.slu.se](mailto:marie.bengtsson@vv.slu.se).

<sup>5</sup> Profesor e investigador, Ph. D. en Ecología, Universidad Agrícola de Suecia (SLU). Box SE 44 230-53 Alnarp Sweden. [peter.witzgall@phero.net](mailto:peter.witzgall@phero.net).

<sup>6</sup> Investigador, Shin-Etsu Chemical Co., Nakakubiki-gun, Niigata 942-8601, Japan.

según su proporción, así como también por grupos funcionales como aldehídos, alcoholes, acetatos, cetonas, entre otros (Dekramer y Hemberger 1987). Aportando una mayor complejidad, una feromona está constituida por isómeros que son compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en su estructura, confiriéndole diferentes propiedades físicas y químicas y clasificándose en isómeros *cis*, *trans*, *E* y *Z* (Dekramer y Hemberger 1987).

Para el caso de *T. solanivora* la primera descripción de la feromona fue realizada por Nesbitt *et al.* (1985) quienes identificaron como únicos constituyentes los isómeros *E*(3)-dodecenil acetato (*E*3-12Ac) y (*Z*)3-dodecenil acetato (*Z*3-12Ac). Posteriormente, Bosa *et al.* (2005a, 2005b) identificaron un tercer compuesto el dodecil acetato (12Ac), que combinado con los isómeros en la proporción 100:1:20 originó las mayores capturas de machos en trampas a diferencia de utilizar solamente el principal compuesto (*E*3-12Ac), mezcla seleccionada para la detección y monitoreo de machos en campo (Bosa *et al.* 2006).

Dentro del manejo etológico de *T. solanivora* se han realizado estudios de determinación de umbrales, vigilancia fitosanitaria y seguimiento de las poblaciones de machos de la plaga en campo, aunque esto no implica un control de la misma. Para llevar a cabo un control de las poblaciones de insectos plaga, existe una técnica denominada de la interrupción del apareamiento de adultos, en donde se realizan aplicaciones de altas concentraciones de una feromona sintética o formulada en dispensadores de polietileno colocados en un cultivo, para enmascarar la feromona liberada por las hembras presentes en el área. Por acción de la feromona, los receptores de las antenas así como el sistema nervioso de los machos se bloquean lo cual no pueden localizar a las hembras dispuestas a copular conllevando la interrupción de la cópula con la consecuente reducción o eliminación del daño a la cosecha (Haynes y Baker 1988; Pedigo 1996; Ogawa 1997). Se han reportado resultados significativos de control con la utilización de esta técnica en Lepidópteros de la familia Tortricidae, como en la polilla de guisantes *Cydia nigricana* Fabricius, 1794 (Witzgall *et al.* 1996a), la polilla del manzano *Cydia pomonella* Linnaeus, 1758 (Bäckman 1999; Witzgall *et al.* 1999), en el barrenador de la hoja del manzano *Bonagota cranaodes* Meyrick, 1986 (Coracini *et al.* 2002). De otra parte, se ha comprobado que la utilización prolongada y continua de dispensadores formulados con feromonas, reduce progresivamente a través de los años el daño en los cultivos (Ioriatti *et al.* 2004). Es el caso de los estudios realizados por Downham *et al.* (2001) donde para el control de *Cylas puncticollis* (Boheman) y *C. brunneus* (Fabricius) (Coleoptera: Apionidae), se obtuvieron porcentajes de infestación bajos en cultivos de remolacha tratados con la feromona durante tres años consecutivos.

Existen estudios que han dado origen a productos biológicos registrados con base de feromonas para el control de diversos insectos plaga con resultados satisfactorios (Biosignal 2006; EPA 2006; IOBC Working Group 2006). Sin embargo para el caso de *T. solanivora* tanto a nivel nacional como internacional no existen aún desarrollos tecnológicos o productos comerciales con base en su feromona, que puedan ser utilizados en el sistema de producción de papa para el control de adultos de la plaga; por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar una mezcla de la feromona diferente de la de monitoreo de machos, para producir la interrupción del apareamiento en adultos de la plaga en campo.

## Materiales y Métodos

Los estudios se realizaron durante el 2005 y 2006 en el Laboratorio de Control Biológico y en cultivos de papa ubicados en el Centro de Investigación Tibaitatá - CORPOICA (Colombia), así mismo en los Laboratorios de Ecología Química de la Universidad Agrícola de Suecia (SLU).

**Evaluación de los isómeros *E* y *Z* en campo.** Se evaluó en campo el efecto que ocasionan mezclas de los isómeros geométricos de la feromona (*E*)-3-dodecenil acetato (*E*3-12Ac) y (*Z*)-3-dodecenil acetato (*Z*3-12Ac) en la captura de machos. Para evaluar el umbral de comportamiento de machos de *T. solanivora*, se utilizaron las dosis de 10 y 1000 microgramos ( $\mu$ g), en las cuales se adicionó el principal compuesto de la feromona (*E*3-12Ac) sólo y combinado con el *Z*-isómero (*Z*3-12Ac) adicionado al 1% y al 50% en las dosis mencionadas, respectivamente. Como tratamiento de referencia se evaluaron los compuestos *E*3-12Ac y *Z*3-12Ac en la proporción (100:1), es decir a la dosis de 10:0,1 y 1000:10 microgramos ( $\mu$ g) respectivamente, proporción que fue seleccionada previamente para el monitoreo de machos en trampas (Bosa *et al.* 2005b).

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad de muestreo consistió en una trampa delta pegante con un caucho rojo de polietileno tipo farmacéutico en su interior formulado con la mezcla de la feromona respectiva (PheroNet, Sweden). La distancia de cada trampa entre tratamientos fue de 15 metros y de 30 metros entre bloques, en un área de 2 ha ubicada en el C.I. Tibaitatá, la cual contenía residuos de cosechas de papa anteriores y estaba infestada con la polilla. Las lecturas de los machos capturados en trampas se realizaron una vez por semana durante dos meses. Los resultados se transformaron a  $\log(x + 1)$ , se sometieron a una ANOVA y a una prueba de comparación de promedios de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

**Evaluación de los isómeros *E* y *Z* en túnel de viento.** Con el propósito de evaluar el comportamiento de vuelo de los machos de *T. solanivora* frente a la mezcla de los isómeros de la feromona *E*3-12Ac y *Z*3-12Ac en la proporción (100:50) formulada en dispensadores, se realizaron ensayos en un túnel de viento de 63 x 90 x 200 cm de acuerdo con Witzgall *et al.* (2001). Se evaluó la respuesta del vuelo de machos de *T. solanivora* frente a esta mezcla de la feromona. En la parte anterior del túnel de viento, una corriente de aire de 30 cm por segundo conducida previamente a través de cilindros de carbón activado, permitió la dispersión de la pluma de la feromona. En la parte anterior del túnel se liberó un macho de dos días de edad cada vez. Se evaluó la trayectoria de vuelo durante dos minutos de cada uno, registrándose la respuesta desde el punto de liberación hasta el alcance de la fuente emisora de la feromona. Los ensayos se realizaron cinco minutos después de iniciado el período de luz, debido a que en éste comienza la actividad sexual y vuelo de los machos. Para el análisis de la trayectoria de vuelo se consideraron las siguientes etapas del comportamiento de cada macho: actividad inicial, vuelo desde el sitio de liberación, trayectoria de vuelo hasta 50, 100 y 150 cm tomados a partir del punto de liberación, aterrizaje en la fuente emisora de la feromona, cortejo e intento de cópula con la fuente de la feromona. Para los ensayos biológicos, se utilizó una temperatura entre 16°C a 19°C y una intensidad lumínica de 12 lux.

Cada repetición estuvo constituida por veinte machos con cuatro repeticiones por tratamiento realizadas en días diferentes ( $n = 80$  individuos por tratamiento). Los tratamientos colocados al inicio del túnel de viento a una altura de 30 cm sobre el suelo fueron: **1.** diez hembras vírgenes de dos días de edad que liberaban la feromona durante el inicio del período de luz (testigo), donde cada una fue confinada en un tubo de vidrio con muselina presente en cada abertura y colocadas en posición horizontal con respecto al suelo del túnel (para cada repetición se utilizaron diez nuevas hembras). **2.** Un tubo de polietileno de 20 cm de largo (dispensador) formulado con los isómeros de la feromona E3-12Ac y Z3-12Ac en la proporción 100:50 respectivamente (previamente evaluada en campo), a razón de 70 mg por dispensador. **3.** La combinación del dispensador con la mezcla mencionada y diez hembras vírgenes que liberaban la feromona. Para este caso, el dispensador y el grupo de hembras como fuentes emisoras de feromona fueron distanciadas 20 cm una de la otra. Los resultados de la respuesta y trayectoria de vuelo de machos frente a los diferentes tratamientos, se transformaron a  $\log(x + 1)$ , se sometieron a una ANOVA y a una prueba de comparación de promedios de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

**Eficacia de la interrupción de la cópula en campo.** Para evaluar la interrupción de la cópula se seleccionó aquella mezcla inhibitoria y la proporción de los isómeros de la feromona (E3-12Ac) y (Z3-12Ac) que ocasionó una inhibición en la captura de machos en trampas en campo, lo cual indicaría posiblemente una inhibición del comportamiento de vuelo y atracción de machos debido a esta mezcla antagonica como método de control. Debido al bajo costo de producción y facilidad industrial de síntesis, a esta mezcla se le adicionó el compuesto secundario saturado dodecil acetato (12Ac) que también constituye la feromona de este insecto. Estos tres compuestos se formularon en tubos rojos de polietileno de 20 cm de largo en la proporción de 100:50:100 o lo mismo que decir (1: 0,5: 1), respectivamente a razón de 70 miligramos de esta mezcla por dispensador. Estos dispensadores que liberaban constantemente la feromona con un 99% de pureza, fueron diseñados y producidos por la empresa Japonesa Shin-Etsu. Estudios previos conducidos por Bosa *et al.* (2006), determinaron que el incremento en la proporción del compuesto secundario 12Ac no afectó el comportamiento de respuesta de vuelo de machos del insecto, por lo cual éste fue adicionado a la mezcla en los dispensadores.

Las pruebas de campo se llevaron a cabo durante el primer semestre de 2006 en el municipio de Mosquera (Centro de Investigación Tibaitatá CORPOICA)  $4^{\circ}41'40''N$  y  $74^{\circ}12'08''W$ , con una altitud de 2.543 msnm. Se utilizaron tres hectáreas cultivadas con papa pastusa *Solanum tuberosum* L. variedad andígena. Durante el período previo a la floración del cultivo (15 días antes), cada dispensador con la feromona se colocó en la base de cada planta de papa manteniéndose una distancia de 2,5 m entre dispensador, obteniéndose una densidad de 1.200 dispensadores por ha y una dosis de aplicación de 86 g de ingrediente activo por ha (Fig. 1A). Por otra parte, se utilizó como testigo una hectárea de papa ubicada a 500 m del área tratada, en la cual no se colocaron los dispensadores con la feromona.

Las variables de evaluación de la eficacia de esta técnica para la interrupción del apareamiento fueron:

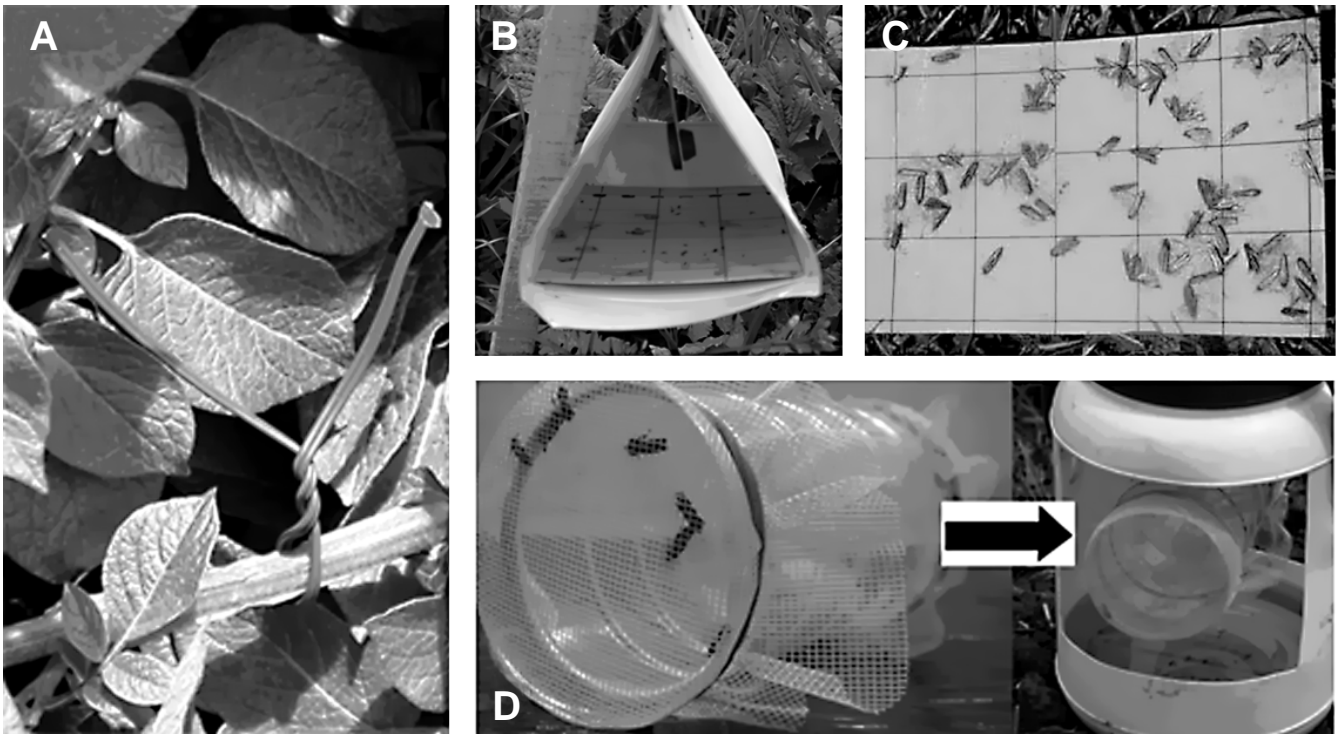
1) El número de machos capturados en trampas de monitoreo. Cada trampa contenía un caucho de goma impreg-

nado con la mezcla seleccionada para el monitoreo de machos, constituida por los compuestos (E3-12Ac), (Z3-12Ac) y (12Ac) en la proporción 100:1:20, respectivamente, a la dosis de 1000 microgramos ( $\mu g$ ) por caucho (Bosa *et al.* 2005b). La pureza química de los isómeros de los compuestos sintéticos fue del 99,6% (Pherobank, Wageningen, Holanda). Cada trampa fue colocada a 40 cm del suelo mediante una estaca de madera y distanciada 30 m una de la otra formando una cuadrícula ( $n = 41$  trampas en el área tratada,  $n = 10$  en el área control) (Figs. 1B, 1C). Las lecturas se realizaron una vez por semana hasta la época de cosecha en ambas áreas. Los resultados se sometieron a una prueba de Fisher (Instat 3, GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

2) El número de machos capturados en trampas cebadas con hembras vírgenes de *T. solanivora*. Diez hembras vírgenes de un día de edad procedentes de una cría mantenida en el Laboratorio de Entomología se confinaron en un recipiente cilíndrico transparente de 20 cm de largo x 5 cm de diámetro, el cual se colocó en el interior de un recipiente plástico de 10 cm de diámetro y 23 cm de largo, en cuyo fondo se adicionó agua jabonosa suficiente para retener los machos atraídos por la feromona liberada (Fig. 1D). Las hembras y el agua jabonosa se reemplazaron cada cuatro días. Se colocaron cinco trampas de este tipo dentro de cada área de papa manteniéndose una distancia de 30 m entre cada trampa y cada semana se reemplazaron por nuevas ( $n = 5$ ). Las lecturas de machos capturados se realizaron una vez por semana durante dos meses hasta el período de cosecha. Los resultados se sometieron a una prueba de Fisher (Instat 3, GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

3) Para determinar el efecto del tratamiento de la feromona en parejas de *T. solanivora*, se estimó el porcentaje de cópulas de parejas confinadas en jaulas de malla ubicadas en el área tratada y control. Pupas provenientes de una cría en laboratorio se separaron y agruparon por sexo en cajas plásticas. Una vez emergidos los adultos vírgenes, una pareja de *T. solanivora* se ubicó en una jaula de malla de 100 x 43 x 43 cm. Para su alimentación dentro de la jaula se colocó algodón impregnado con una solución de miel al 10% colocado en dos viales plásticos de 1,5 mL. Se colocaron cinco jaulas con parejas de la polilla distanciadas cada 15 m a lo largo de cada una de las áreas de papa tratada y no tratada, las parejas se renovaron con nuevas parejas cada semana. Después de cuatro días, se evaluó el estatus de cópula de las parejas confinadas en jaulas mediante la disección de cada hembra para evidenciar o no la presencia del espermatóforo del macho por *bursa copulatrix* como indicativo de apareamiento. Esta prueba tuvo una duración de dos meses hasta la época de cosecha de la papa, comprendiendo un total de 30 repeticiones por área cultivada. Los resultados se sometieron a una prueba de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) con un nivel de significancia de 0,05.

4) Observaciones de la actividad de adultos en el área tratada y no tratada con la feromona. Durante el tratamiento con la feromona, antes y durante la salida del sol se realizaron observaciones diarias para evidenciar algún tipo de comportamiento sexual de los machos presentes de manera natural en ambas áreas. De igual manera, durante este tiempo se realizaron observaciones de los machos atraídos y capturados en las trampas cebadas con la feromona sintética para monitoreo, en las trampas cebadas con los dispensadores de la feromona y en las trampas cebadas con las hembras vírgenes colocadas en ambas áreas cultivadas. Los resultados de capturas fueron analizados mediante una prueba de Fisher con un nivel de



**Figura 1.** A) Tubo dispensador de polietileno de 20 cm de largo formulado con la mezcla antagonista de la feromona (E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac). B) Trampa delta de cartón cebada con un caucho tipo farmacéutico impregnado con la mezcla de monitoreo de machos. C) Machos capturados en papel pegante. D) Trampa cebada con diez hembras vírgenes de *T. solanivora* para la captura de machos y a la derecha detalle de su ubicación.

significancia de 0,05. De otra parte, se realizaron observaciones al follaje y al suelo para evidenciar algún tipo de comportamiento del insecto durante este período. Así mismo, se realizaron observaciones adicionales entre las 20:00 y las 3:00 de la madrugada para evidenciar si existía algún tipo de comportamiento de los adultos en el campo durante esas horas.

5) Evaluación del daño en tubérculos ocasionado por *T. solanivora*. Antes de la cosecha de papa en ambas áreas cultivadas, se llevaron a cabo muestreos destructivos de los tubérculos producidos por las plantas. En cada caso, cada muestra consistió en la recolección de todos los tubérculos producidos por tres plantas de papa cercanas a una trampa cebada con la feromona sintética. Para las tres hectáreas, se recolectaron 45 muestras distribuidas en toda el área cultivada y 30 muestras para el sitio de una hectárea (testigo). Con base en las muestras recolectadas se estimó también el rendimiento teórico por hectárea de cada una de las áreas de papa. Los resultados se analizaron mediante una ANOVA y una prueba de comparación de medias de Tukey con un alfa de 0,05.

## Resultados y Discusión

**Evaluación de los isómeros E y Z de la feromona en campo.** La feromona de *T. solanivora* está constituida normalmente por el principal compuesto E3-12Ac y su isómero el Z3-12Ac producidos en la glándula de la feromona en la proporción 100:2, respectivamente (Bosa *et al.* 2005a). Sin embargo, cuando al E3-12Ac se le adicionó el isómero Z en la proporción (100:50, respectivamente), se originó un efecto antagonista en la captura de machos obteniéndose capturas menores promedio de 2 y 0,3 machos por trampa, tanto a la concentración de 10 microgramos ( $\mu\text{g}$ ) como de 1.000 microgramos ( $\mu\text{g}$ ) respectivamente (Tabla 1). Esto fue posiblemente debido al in-

cremento en la proporción del isómero Z que ocasionó la confusión de los machos o la repelencia de estos hacia esta mezcla. En contraste, con el principal compuesto (E3-12Ac) a la dosis de 10 ( $\mu\text{g}$ ) evaluado en forma individual o combinada con el Z3-12Ac en la proporción similar a la de las hembras, se presentaron capturas significativamente mayores con 31 y 50 machos por trampa, respectivamente (Tabla 1).

Se demostró que el isómero (Z3-12Ac) adicionado al 50% al E3-12Ac, originó un efecto inhibitorio significativo en la atracción y captura de machos de *T. solanivora* en trampas. Esto posiblemente indicaría que esta proporción específica de estos dos compuestos puede tener un potencial como mezcla antagonista para su utilización en el control de la plaga.

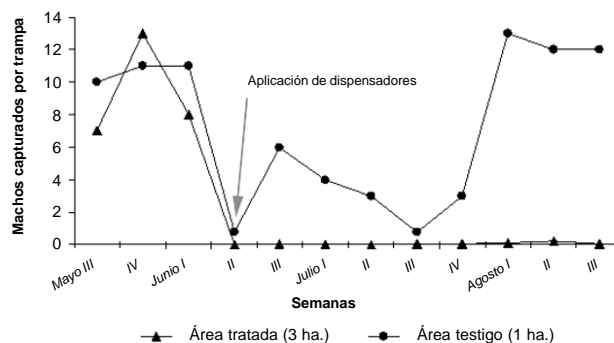
**Evaluación de los isómeros E y Z de la feromona en túnel de viento.** En túnel de viento al evaluar el efecto de esta mezcla antagonista, se observó que un 41% de los machos presentó movimiento inicial y tan sólo un 34% de estos realizó un vuelo preliminar pero no continuaron con la trayectoria (Tabla 2). Estos resultados no fueron diferentes de los obtenidos cuando se combinó un dispensador con esta mezcla y diez hembras vírgenes que liberaban la feromona; donde un 43% de los machos presentó vuelo inicial pero no pudieron continuar con la trayectoria de vuelo (Tabla 2).

Estos resultados difieren de los obtenidos en el testigo correspondiente a diez hembras vírgenes, donde se obtuvieron las respuestas de vuelo de machos más significativas; allí, un 85% de los machos presentó actividad inicial y el 69% alcanzó satisfactoriamente a las hembras (Tabla 2). Esto indica que la mezcla en el dispensador en la proporción 100:50 de los compuestos E3-12Ac y Z3-12Ac respectivamente, inhibió significativamente la atracción y respuesta de vuelo de los machos, posiblemente debido a la adición del isómero Z3-12Ac

al 50% y a la concentración de la mezcla en el dispensador a razón de 70 mg, lo que originó el enmascaramiento de la feromona liberada por las hembras.

Estos resultados confirmaron lo evidenciado en campo, donde la proporción antagonista (100:50) del E3-12Ac y Z3-12Ac, respectivamente inhibió la captura de los machos en trampas. A diferencia de lo observado con *T. solanivora*, para otros estudios desarrollados con Lepidópteros de la familia Tortricidae tales como *Grapholita molesta* (Busck, 1916), *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758), *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) y *Argyrotaenia velutiana* (Walker), donde los machos de estas especies si fueron atraídos hacia tubos dispensadores formulados con la feromona de cada especie a las dosis de 205 a 274 mg de ingrediente activo (Stelinski *et al.* 2004a, b). A la luz de estos resultados, el mecanismo de interrupción de la comunicación sexual en *T. solanivora*, se basa en el camuflaje de la feromona liberada por las hembras, mecanismo posiblemente asociado también a la saturación neurosensorial de las antenas de los machos por la concentración de la feromona en los dispensadores (Minks y Cardé 1988; Sanders 1996).

**Eficacia de la interrupción de la cópula de *T. solanivora* en campo.** Se observó que las capturas de machos desde la siembra hasta los 120 días fueron muy similares no presentándose diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, obteniéndose un mínimo de siete y cinco machos capturados en estas áreas respectivamente y un máximo de 66 y 100 machos por trampa, respectivamente. Luego, cuando se aplicó el tratamiento con los dispensadores con la mezcla antagonista en el área de 3 ha (15 días antes de floración), se observó que



**Figura 2.** Capturas de machos de *Tecia solanivora* en trampas con la feromona sintética en el área de 3 ha. y en el área testigo de 1 ha. Mezcla E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac (100:1:20) respectivamente, dosis de 1.000 µg por caucho por trampa.

las capturas fueron afectadas significativamente; no hubo capturas con respecto al promedio de 0,75 machos por trampa en el área testigo (Fig. 2).

Desde el establecimiento de los dispensadores y durante dos meses en el área de 3 ha se redujo casi a cero las capturas de machos en trampas en comparación con el testigo debido a la densidad y a la tasa de liberación obtenida (1.227 dispensadores/ha y 86 g de ingrediente activo/ha). Los resultados concuerdan con los de otros autores como Schroeder *et al.* (2000) quienes encontraron diferencias en el número de machos capturados de la polilla dorso de diamante *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) en cul-

**Tabla 1.** Captura de machos de *Tecia solanivora* en trampas cebadas con mezclas isoméricas de E3-12Ac en cultivos de papa (Mosquera, Colombia).

Compuestos	Dosis (µg)					
	10	10	10	1000	1000	1000
E3-12Ac						
Z3-12Ac		0,1	5		10	500
<b>Machos por trampa</b>	31 a <sup>1</sup>	50 a <sup>1</sup>	2 c <sup>1</sup>	9 b <sup>2</sup>	13 b <sup>2</sup>	0,3 c <sup>2</sup>

Valores que comparten letras semejantes no presentan diferencias significativas según prueba de Tukey, n = 10 trampas. <sup>1</sup>(P < 0,05; F = 75,52; g.l. = 2,27; P < 0,0001). <sup>2</sup>(P < 0,05; F = 101,17; g.l. = 2,27; P < 0,0001).

**Tabla 2.** Comportamiento de machos de *T. solanivora* frente a: hembras liberando feromona naturalmente, un dispensador con la mezcla sintética 100:50:100 de E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac respectivamente (70 mg/dispensador) y la combinación de ambos en un túnel de viento.

Comportamiento	Respuesta de vuelo de machos (%)		
	Dispensador	Dispensador más hembras	Hembras
<sup>1</sup> Actividad inicial en punto de liberación	41 b	49 b	85 a
<sup>2</sup> Vuelo inicial	34 b	43 b	83 a
Vuelo hasta 100 cm	0	0	76
Aterrizaje en fuente a 180 cm	0	0	69
Movimiento e intento de cópula sobre la fuente	0	0	64

Valores dentro de una misma fila seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes, P < 0,05 (Anova, seguida de test de Tukey) (n = 4 grupos de 20 machos vírgenes cada uno). <sup>1</sup>Actividad inicial (F = 10,4; g.l. = 2,9; P = 0,004). <sup>2</sup>Vuelo inicial (F = 13,0; g.l. = 2,9; P = 0,0022).

tivos de repollo tratados con dispensadores, en comparación con un mayor número de capturas en trampas de áreas no tratadas.

En este trabajo, los resultados indican que la aplicación de esta dosis de la feromona fue suficiente para producir la confusión de los machos. Esto es una ventaja competitiva en términos de reducción de costos cuando a futuro se aplique esta técnica en cultivos de papa, ya que para otros insectos plaga se ha reportado la utilización de dosis mayores de una feromona para producir un control; por ejemplo para *C. pomonella* en manzano y durazno, se utilizan dosis mayores de feromona y se aplican 1.000 dispensadores/ha, obteniéndose una tasa de liberación entre 150 y 200 g de i.a/ha, lo cual incrementa los costos para el control de esta plaga (Witzgall *et al.* 1999).

Al cabo de los dos meses de exposición de los dispensadores en el área, se observó un ligero incremento en las capturas de machos por trampa, coincidiendo con la época de cosecha del cultivo (Fig. 2). Este incremento en las capturas pudo obedecer a una disminución de la concentración de la feromona por dispensador, debido posiblemente al efecto de las temperaturas registradas durante el mes de agosto que oscilaron entre 20°C y 21°C.

La técnica de interrupción del apareamiento, ha sido utilizada para el control de otras polillas de la familia Gelechiidae, subfamilia Gelechiinae a la cual pertenece *T. solanivora*; entre estas plagas están el gusano alfiler del tomate *Keiferia lycopersicella* (Walshingham, 1946) (Jenkins *et al.* 1990; Trumble 1996) y el gusano rosado del algodón *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843) con el cual esta técnica fue utilizada por primera vez, extendiéndose su uso y comercialización durante la década de los 80 y 90 (Staten *et al.* 1996).

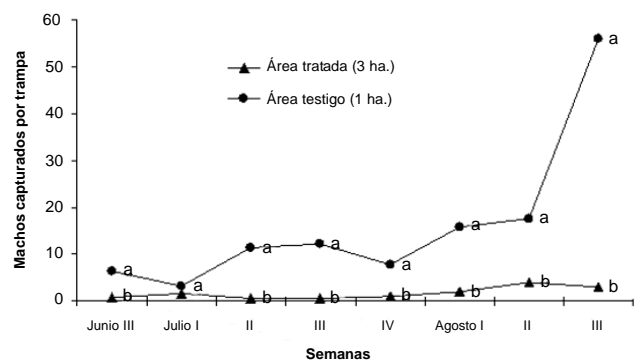
En cuanto a las capturas de machos en trampas cebadas con hembras de *T. solanivora* se observó también una reducción en el área tratada, a diferencia de las mayores capturas obtenidas en el área testigo; sin embargo, en el área tratada unos pocos machos fueron capaces de localizar a las hembras confinadas en estas trampas (Fig. 3). La desorientación sexual de los machos por localizar a las hembras confinadas en las trampas fue posiblemente debido a la adición del compuesto isomérico Z3-12Ac adicionado al 50% en los dispensadores, mezcla que produjo también un fuerte efecto inhibitorio en la orientación y atracción de los machos de *T. solanivora* en el túnel de viento (Tabla 2). En campo esta mezcla inhibitoria posiblemente enmascaró la feromona liberada por las hembras confinadas en las trampas. Sin embargo, al cabo de dos meses también se observó un ligero incremento en las capturas de machos en el área tratada con los dispensadores (Fig. 3) con tres machos por trampa en comparación con 56 machos en el área testigo. Estos resultados proponen la hipótesis de que debido a esta mezcla antagonica en los dispensadores, se pudo producir una reducción de los encuentros nupciales y el apareamiento de los machos con las hembras presentes en el área tratada. Esto fue comprobado en la prueba del estatus de apareamiento de las parejas confinadas en jaulas, donde un 23% de las parejas copularon en el área tratada a diferencia de un 70% de cópulas exitosas en el área testigo sin tratar, siendo la inhibición del apareamiento de las parejas de adultos en el área tratada del 67% ( $n = 30$  parejas por área, una pareja por jaula, g.l.= 1;  $P < 0,001$ ). Los resultados indicaron que a pesar de observarse un efecto positivo en la inhibición de la cópula de los adultos confinados, un 33% de las parejas copularon en el área tratada lo cual podría indicar que a cortas distancias la comunicación y orientación de los machos hacia las hembras

receptivas a copular, no fue totalmente interrumpida por el tratamiento con la mezcla en dispensadores. Es necesario entonces realizar estudios para esclarecer qué capacidad de migración y vuelo tienen las hembras de *T. solanivora* en campo, además de recomendar el uso de tubos dispensadores de larga duración que garanticen una prolongada liberación de la feromona.

En el área no tratada se evidenció que el período de actividad sexual de los machos estuvo comprendido entre las 5:00 y las 6:15 a.m. que corresponde con la salida del sol, ya que en este período se observó el vuelo de machos, su llegada y captura en las trampas de monitoreo cebadas con la feromona y cebadas con las hembras vírgenes; fuera de este tiempo no se observó ningún tipo de actividad o comportamiento de los machos. De otra parte, se observó muy escasa actividad de machos en vuelo y capturas en el área tratada con los dispensadores a diferencia de la obtenida en el área no tratada (Tabla 3). Se desconoce si en el área tratada, los machos permanecieron inactivos o si estos fueron repelidos fuera del área por acción de la feromona en dispensadores. Se ha demostrado que mezclas de feromonas incompletas en cuanto a sus compuestos constituyentes o desbalanceadas en cuanto a las proporciones de los compuestos, han sido efectivas en experimentos de interrupción de la cópula para el control de varios lepidópteros (Johnson *et al.* 1991; Charmillot y Pasquier 1992; Bengtsson *et al.* 1994; Deland *et al.* 1994; Suckling y Burnip 1996).

No se evidenció atracción de los machos hacia las trampas cebadas con dispensadores en ambas áreas de papa (Tabla 3). Esto confirma lo observado en las pruebas bajo condiciones de túnel de viento, donde la mezcla antagonica fue suficiente para inhibir la respuesta de vuelo de los machos (Tabla 2). Se ha reportado que el comportamiento sexual de machos puede variar de una especie a otra; autores como Witzgall *et al.* (1996b) observaron respuestas de atracción y vuelo de machos de *C. pomonella* hacia dispensadores que contenían la feromona codlemone (E8, E10-12OH) tanto en túnel de viento como campo.

Para *T. solanivora* se desconoce aún la capacidad de migración y vuelo que pueden tener las hembras, lo cual es necesario explorar a futuro para conocer mejor el comportamiento de la plaga en campo. Al estimarse el porcentaje de tubérculos con daño por la plaga durante los muestreos a la cosecha, se encontró un 9% de tubérculos afectados en el área tratada con los dispensadores, en comparación con un 19% en el área tes-



**Figura 3.** Machos capturados en trampas cebadas con hembras vírgenes de *Tecia solanivora* confinadas ( $n = 5$  trampas por área por semana). Valores dentro de una misma semana con diferentes letras presentan diferencias significativas según prueba de Fisher,  $P < 0,05$ .

**Tabla 3.** Promedio de machos de *T. solanivora* atraídos hacia las trampas y porcentaje de tubérculos afectados por larvas de *T. solanivora* a cosecha.

Machos capturados por trampa	Trampas cebadas con feromona <sup>1</sup>	Trampas cebadas con hembras <sup>2</sup>	Trampas cebadas con dispensadores <sup>3</sup>	Tubérculos con daño <sup>4</sup> (%)	Rendimiento (kg/ha)
Área tratada (3 ha)	0,51 b	1,10 b	0,09 b	9 b	9.660 a
Área testigo (1 ha)	8,58 a	8,67 a	0,68 a	19 a	7.552 a

Valores dentro de una misma columna con letras diferentes presentan diferencias significativas ( $\alpha$  de 0,05). <sup>1</sup>P < 0,0001, <sup>2</sup>P < 0,0001, <sup>3</sup>P = 0,0210, <sup>4</sup>P = 0,0149.

tigo, siendo estos valores diferentes. De igual forma, se obtuvieron mayores rendimientos en el área tratada con 9.660 kg por hectárea a diferencia de 7.552 kg/ha en el área testigo (Tabla 3).

La captura de machos en trampas cebadas con hembras, en trampas con la feromona sintética, el estatus de apareamiento de las hembras y la estimación del daño en tubérculos, fueron herramientas fundamentales para evaluar la eficacia de la técnica de interrupción del apareamiento en insectos Lepidópteros como *T. solanivora* como lo describen Baker *et al.* (1997). Para futuros estudios de interrupción, se recomienda colocar los dispensadores de la feromona cuando las plantas tengan una altura aproximada de 15 cm, con el fin de proteger el cultivo del ataque de *T. solanivora* desde los primeros estados fenológicos, ya que la presencia de los tubérculos semilla colocados en la siembra pueden servir como reservorio y fuentes de alimento para mantener las poblaciones de la plaga. Esto se sustenta por las capturas de machos en las trampas de monitoreo desde la siembra hasta la aplicación de los dispensadores (época de floración).

### Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos por su apoyo financiero al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y a la agencia "Swedish Foundation for International Research and Higher Education (STINT)". Igualmente agradecen a la empresa Japonesa Shin-Etsu por la elaboración y formulación de los tubos dispensadores de la feromona.

### Literatura citada

- ARÉVALO, A. 2003. Análisis de la problemática de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en Colombia, pp. 129-133. En: Memorias del II taller nacional sobre *Tecia solanivora* "Presente y futuro de la investigación sobre *Tecia solanivora*". CEVIPAPA. Bogotá.
- ARÉVALO, A.; CASTRO, R. 2003. Evaluación post-registro de los insecticidas con licencia de uso para controlar la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en Colombia, pp. 86-89. En: Memorias del II taller nacional sobre *Tecia solanivora* "Presente y futuro de la investigación sobre *Tecia solanivora*". CEVIPAPA. Bogotá.
- BÄCKMAN, A. 1999. Olfactory communication in the codling moth, *Cydia pomonella* L. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Crop Science. Agraria 165. ISBN: 91-576-5491-3. Alnarp, Sweden. 33 p.
- BAKER, T.C.; MAFRA-NETO, A.; DITTL, T.; RICE, M. 1997. Novel controlled release device for disrupting sex pheromone communication in moths. IOBC wprs Bulletin 20: 141-149.
- BENGTSSON, M.; KARG, G.; PHILIPP, P. A.; LÖFQVIST, J.; SAUER, A.; WITZGALL, P. 1994. Mating disruption of pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae) by a repellent blend of sex pheromone and attraction inhibitors. Journal of Chemical Ecology 20 (4): 871-887.
- BIO SIGNAL. 2006. Pheromones and kairomones for control of pest insects. <http://www.biosignal.org.html>. Fecha último acceso: [15 noviembre 2006].
- BOSA, F.; WITZGALL, P.; BENGTSSON, M.; COTES, P. 2005a. Caracterización biológica de los compuestos de la feromona sexual de *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). Revista Colombiana de Entomología 31 (2): 139-144.
- BOSA, F.; COTES, A.; FUKUMOTO, T.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P. 2005b. Pheromone-mediated communication disruption in Guatemalan potato moth *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). Entomologia Experimentalis et Applicata 114:137-142.
- BOSA, F.; COTES, A.; OSORIO, P.; FUKUMOTO, T.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P. 2006. Disruption of pheromone communication in *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae): Flight tunnel and field studies. Journal of Economic Entomology 99 (4): 1245-1250.
- CHARMILLOT, P. J.; PASQUIER, D. 1992. Comparison of three dispensers for mating disruption technique to control the summerfruit tortrix *Adoxophyes orana*. Mitt Schweiz Entomology Ges 65: 107- 113.
- CORACINI, M.; BENGTSSON, M.; RECKZIEGEL, A.; ALVARO, E.; VILELA, E.; ANDERSON, P.; FRANCKE, W.; LÖFQVIST, J.; WITZGALL, P. 2002. Behavioural effects of minor sex pheromone components in Brazilian apple leafroller *Bonagota cranaodes* (Lepidoptera: Tortricidae), pp. 1-13. En: Coracini, M (ed.). Semiochemicals claim territory - Sex pheromones and plant volatiles for control of codling moth and Brazilian apple leafroller. Doctoral thesis in Chemical ecology, Department of crop science. Swedish University of Agricultural Sciences. Agraria 366. ISSN: 1401-6249, ISBN: 91-576-6193-6. Alnarp, Sweden. 28 p.
- CORREDOR, D.; FLÓREZ, E. 2003. Estudios básicos de la biología y comportamiento de la polilla de la papa en un área piloto en el municipio de Villapinzón, pp. 23-31. En: Memorias del II Taller nacional sobre *Tecia solanivora*. Cevipapa. Bogotá.
- DEKRAMER, J.; HEMBERGER, J. 1987. Pheromone Biochemistry, pp. 433-472. En: Preswich, G. D. (ed). Academic Press Inc. New York. USA. 563 p.
- DELAND, J. P.; JUDD, G. J. R.; ROITBERG, B. D. 1994. Disruption of pheromone communication in three sympatric leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) pests of apple in British Columbia. Environmental Entomology 23: 1084-1090.
- DOWNHAM, M. C. A.; SMIT, N. E. J. M.; LABOKE, P. O.; HALL, D. R.; ODONGO, B. 2001. Reduction of pre-harvest infestations of African sweet potato weevils *Cylas brunneus* and *C. puncticollis* (Coleoptera: Apionidae) using a pheromone mating-disruption technique. Crop Protection 20: 163-166.
- EPA, 2006. Plaguicidas registrados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América. Bioplaguicidas:

- atrayentes de insectos plaga. Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/.html>. Fecha última revisión: 21 noviembre 2006.
- HAYNES, K.; BAKER, T. 1988. Potential for evolution of resistance to pheromones. *Journal of Chemical Ecology* 14: 1547-1560.
- IOBC WORKING GROUP. 2006. Pheromones and other semiochemicas in integrated production. <http://www.phero.net/iobc/.html>. Fecha última revisión: 3 diciembre 2005. Fecha último acceso: [15 noviembre 2006].
- IORIATTI, C.; BAGNOLI, B.; LUCCHI, A.; VERONELLI, V. 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia* 87: 117-128.
- JENKINS, J. W.; DOANE, C. C.; SCHUSTER, D. J.; MCLAUGHLIN, J. R.; JIMENEZ M. J. 1990. Development and commercial application of sex pheromone for control of the tomato pinworm, pp. 269-280. En: Ridgway, R. L.; Silverstein, R. M.; Inscoc, M. N. (eds.). *Behaviour-modifying Chemicals for Insect Management: Applications of Pheromones and other Attractants*. Marcel Dekker. New York. EU. 432 p.
- JOHNSON, D. T.; LEWIS, B.A.; SNOW, J. W. 1991. Control of grape root borer (Lepidoptera: Sesiidae) by mating disruption with two synthetic pheromone compounds. *Environmental Entomology* 20: 930- 934.
- LIÑAN, C. 1997. *Farmacología vegetal*. Ediciones aerotécnicas. S.L. Madrid. 1187 p.
- MINKS, A. K.; CARDE, R. T. 1988. Disruption of pheromone communication in moths: is the natural blend really most efficacious?. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 49: 25-36.
- NESBITT, B.; BEEVOR, P.; CORK, A.; HALL, D.; MURILLO, R.; LEAL, H. 1985. Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalopsis solanivora*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38: 81-85.
- OGAWA, K. 1997. The key to success in mating disruption. *IOBC/WPRS Bulletin* 20 (1): 1-9.
- PEDIGO, L. 1996. *Entomology and pest management*. Academic Press. New York. USA. 987 p.
- SANDERS, C. J. 1996. Mechanisms of Mating Disruption in Moths, pp. 333-347. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- SCHROEDER, P.; SHELTON, A.; FERGUSON, C.; HOFFMANN, M.; PETZOLDT, C. 2000. Application of synthetic sex pheromone for management of diamondback moth, *Plutella xylostella*, in cabbage. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94: 243-248.
- STATEN, RT.; EL-LISSY, O.; ANTILLA, L. 1996. Successful area-wide program to control pink bollworm by mating disruption, pp. 383-396. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- STELINSKI, L. L.; GUT, L. J.; PIERZCHALA, A. V.; MILLER, J. R. 2004a. Field observations quantifying attraction of four tortricid moths to high-dosage pheromone dispensers in untreated and pheromone-treated orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 113: 187-196.
- STELINSKI, L. L.; GUT, L. J.; VOGEL, K. J.; MILLER, J. R. 2004b. Behaviours of naive and pheromone pre-exposed leafroller moths in plumes of high-dose pheromone dispensers in a sustained-flight wind tunnel: implications for pheromone-based mating disruption of these species. *Journal of Insect Behaviour* 17: 533-553.
- SUCKLING, D. M.; BURNIP, G. M. 1996. Orientation disruption of *Planotortrix octo* using pheromone or inhibitor blends. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 149-158.
- TORRES, F. 1989. Algunos aspectos de la biología y comportamiento de la polilla guatemalteca de la papa *Scrobipalopsis solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en el estado del Táchira Venezuela. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 86 p.
- TRUMBLE, J. T. 1996. Integrating Pheromones Into Vegetable Crop Production, pp. 397-410. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; KARG, G.; BENGTTSSON, M.; STREINZ, L.; KIRSCH, P.; BLUM, Z.; LÖFQVIST, J. 1996a. Behavioral observations and measurements of aerial pheromone in a mating disruption trial against pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Chemical Ecology* 22 (2): 191-206.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; SVENSSON, M.; BENGTTSSON, M.; UNELIUS, C.; VIKOC, J.; LÖFQVIST, J. 1996b. Potential of a blend of E8, E10-12OH and E8, E10-12Ac for mating disruption of codling moth, *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera:Tortricidae). *Journal of Applied Entomology* 120: 611-614.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; SVENSSON, M.; KOCH, U.; RAMA, F.; EL-SAYED, A.; BRAUCHLI, J.; ARN, H.; BENGTTSSON, M.; LÖFQVIST, J. 1999. Behavioral observations of codling moth, *Cydia pomonella*, in orchards permeated with synthetic pheromone. *BioControl* 44: 211-237.
- WITZGALL, P.; BENGTTSSON, M.; RAUSCHER, S.; LIBLIKAS, I.; BACKMAN, A-C.; CORACINI, M.; ANDERSON, P.; LOFQVIST, J. 2001. Identification of further sex pheromone synergists in the codling moth, *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101: 131-141.

Recibido: 16-ene-2007 • Aceptado: 2-abr-2008