

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**DETERMINACIÓN MORFOLÓGICA Y CARIOTÍPICA DEL GÉNERO
Diabrotica (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE), EN LAS LOCALIDADES
DE K´AYRA Y SAYLLA DE LA PROVINCIA DE CUSCO**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO
PROFESIONAL DE BIÓLOGO**

Presentada por:

Bach. Elisa Gutiérrez Prudencio

Bach. Aliz Villegas Segovia

Asesor:

Blga. Olga Libia Cjuno Huanca

Coasesor:

Dr. Wilfredo Catalán Bazán

Cusco-Perú

2022

DEDICATORIA

Primeramente, dedicamos este trabajo con mucho cariño al Dios Todopoderoso porque entendemos que sin Él nada hubiera sido posible, al mismo tiempo:

Agradecemos a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por abrirnos sus puertas y educarnos en ella.

Agradecemos a nuestros padres Fausto Gutiérrez E. y Augusta Prudencio C. por todos sus sacrificios y confianza puesta en nosotras en educarnos en esta institución prestigiosa.

Agradecemos a nuestros asesores, a la Bióloga Olga Libia Cjuno Huanca y al Ingeniero Wilfredo Catalán Bazán por ayudarnos incondicionalmente y transmitirnos sus conocimientos con paciencia y esmero.

Agradecemos a todos nuestros docentes por la formación profesional y enseñarnos a amar nuestra carrera.

Agradecemos a todos nuestros compañeros de aulas por compartir tantos momentos inolvidables y aprender juntos.

CONTENIDO

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	III
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	V
JUSTIFICACIÓN.....	VI
OBJETIVOS:	VII
HIPOTESIS.....	VIII
CAPITULO I	
I. MARCO TEORICO.....	
1.1 Antecedentes	1
1.2 Familia Chrysomelidae Latreille 1802.....	4
1.3 Sub Familia Galerucinae Latreille 1802.....	9
1.4 Sección Diabroticita Chapbred, 1875.....	13
1.5 Género <i>Diabrotica</i> Chevrolat 1837	14
1.5.1 Diagnósis del Género <i>Diabrotica</i>	15
1.5.1.1 Morfología	16
1.6 Especie	22
1.7 Enfoque Fenético	27
1.7.1 Acumulación de Datos, según Crisci & Lopez (1983)	28
1.7.2 Construcción de la Matriz Básica de Datos (MBD):	28
1.7.3 Procesamiento de los Datos.....	29
1.7.4 Métodos de Ordenación	31
1.8 Análisis Discriminante (AD)	32
1.9 Citogenética y su Importancia.....	32

1.10	Clasificación de los Cromosomas	35
1.11	Estudios Cromosómicos en Chrysomelidae	38
CAPÍTULO II.....		
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	42
2.1	Área de Estudio.....	42
2.1.1.	Lugar de ejecución de la Investigación.....	43
2.2	Materiales	44
2.3	Metodología.....	46
2.3.1	Tipo de investigación.....	46
2.4	Puntos de Muestreo	48
2.5	Colecta	48
2.5.1	Técnicas de Captura Directa según Márquez (2005) modificada. 48	
2.6	Determinación del Género <i>Diabrotica</i>	49
2.6.1	Determinación de Especies de <i>Diabrotica</i>	49
2.7	Morfología y Morfometría de <i>Diabrotica</i>	50
2.7.1	Determinación Morfológica	50
2.7.1.1	Enfoque Fenético Según Crisci & Lopez (1983)	52
2.7.2	Determinación Morfométrica.....	53
2.7.2.1	Análisis Discriminante (AD).....	53
2.8	Determinación Cariotípica	53
2.8.1	Clasificación Cromosómica según Levan et al. (1964).....	55
CAPITULO III		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
3.1	RESULTADOS	56

3.1.1 Determinación Morfológica de <i>Diabrotica</i>	56
3.1.1.1 Descripción morfológica de <i>Diabrotica speciosa</i> Germar (1824)	56
3.1.1.2 Descripción morfológica de <i>Diabrotica sicuanica</i> Bechyne, 1958.....	63
3.1.1.3 Análisis Fenético.	69
3.1.2 Determinación Morfométrica.....	74
3.1. 2.1. Análisis Discriminante (AD).....	76
3.1.3 Determinación Cariotípica.....	78
3.1.3.1 Cariotipo de <i>Diabrotica speciosa</i> Germar 1824 (2n=21, 22, X0/XX, NF= 40).	78
3.1.3.2 Cariotipo de <i>Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958 (2n=19, 20, X0/XX, NF= 36).	81
3.2 DISCUSIÓN	
CONCLUSIONES	
RECOMENDACIONES	
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	
ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Morfología Externa de un Representante de la Familia Chrysomelidae, (Insecta Galerucinae), Mostrando Detalles Generales del Cuerpo</i>	6
Figura 2. <i>Morfología de un Representante de la Familia Chrysomelidae, Mostrando en Detalle las Partes</i>	7
Figura 3. <i>Ciclo de Vida de los Chrysomelidae</i>	8
Figura 4. <i>Morfología General de un Crhysomelidae</i>	9
Figura 5. <i>Detalles Morfológicos y Genitalia del Macho en un Representante de Galerucinae (Chrysomelidae)</i>	11
Figura 6.. <i>Relaciones Filogenéticas de los Coleópteros Vinculados a la Familia Chrysomelidae y Relaciones Filogenéticas entre Sub Familias, Basado en Datos Morfológicos y Moleculares</i>	12
Figura 7. <i>Distribución Geográfica de Diabrotica speciosa en Sudamérica</i>	15
Figura 8. <i>Genitalia del Macho del Género Diabrotica Chevrolat 1837</i>	20
Figura 9. <i>Genitalia de la Hembra del Género Diabrotica Chevrolat 1837</i>	21
Figura 10. <i>Estructura, Partes y Clasificación de un Cromosoma</i>	34
Figura 11. <i>Escala para Clasificar los cromosomas y Tipos de Cromosomas de acuerdo a la posición del Centrómero</i>	37
. Figura 12. <i>Consenso Entre Cariotipos y Sistemática de Insectos Coleópteros</i>	39
Figura 13. <i>Mapa del Área de Estudio Mostrando las Zonas de K'ayra y Saylla, de la Provincia de Cusco</i>	43
Figura 14. <i>Flujograma de la Investigación</i>	47
Figura 15. <i>Sacrificio de los Insectos (izquierda) y Separación de las Especies (derecha)</i> ..	51

Figura 16. <i>Morfología Externa de Diabrotica speciosa</i> , German 1824 (Coleóptera, Chrysomelidae).....	57
Figura 17. <i>Partes Principales de Diabrotica speciosa</i> German 1824.....	58
Figura 18. <i>Piezas Maxilares de Diabrotica speciosa</i> German 1824. (Coleóptera, Chrysomelidae).....	59
Figura 19. <i>Genitalia del Macho de Diabrotica speciosa</i> . German 1824. (Coleóptera, Chrysomelidae).....	61
Figura 20. <i>Genitalia de la Hembra de Diabrotica speciosa</i> . German 1824. (Coleóptera, Chrysomelidae).....	62
Figura 21. <i>Morfología Externa de Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958 (Coleóptera, Chrysomelidae).....	63
Figura 22. <i>Partes Principales Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958.	64
Figura 23. <i>Piezas Maxilares de Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae).....	66
Figura 24. <i>Genitalia del Macho de Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae).....	67
Figura 25. <i>Genitalia de la Hembra de Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae).....	68
Figura 26. <i>Fenograma de Similitud Morfológica en las Especies del Género Diabrotica de la Provincia de Cusco</i>	72
Figura 27. <i>Análisis de Componentes Principales (ACP)</i>	73
Figura 28. <i>Análisis Discriminante de D. sicuanica y D. speciosa</i>	77
Figura 29. <i>Cariotipo Somático de Diabrotica speciosa</i> 2n= 21, X0 , NF= 40.....	78

Figura 30. <i>Plano Bidimensional de los Pares Cromosómicos para Determinar el Tipo de Cromosomas de Diabrotica speciosa Germar 1824</i>	80
Figura 31. <i>Idiograma de Diabrotica speciosa Germar 1824</i>	80
Figura 32. <i>Cariotipo de Diabrotica sicuanica, 2n= 19 X0 , NF= 36.</i>	81
Figura 33. <i>Plano Bidimensional de los Pares Cromosómicos para Determinar el Tipo de Cromosomas de Diabrotica sicuanica.</i>	83
Figura 34. <i>Idiograma de Diabrotica sicuanica</i>	84
Figura 35. <i>Zonas de Colecta y Diversos Cultivos Andinos Donde se Encontraron las Especies de Diabrotica.</i>	97
Figura 36. <i>Laboratorio de Biología Celular de la Escuela profesional de Biología-UNSAAC</i>	98
Figura 37. <i>Laboratorio de Entomología de la Escuela profesional de Agronomía- UNSAAC</i>	98
Figura 38. <i>Procesamiento de las Muestras en Laboratorio de Biología</i>	99
Figura 39. <i>Procesamiento de las Muestras en Laboratorio de Biología</i>	99
Figura 40. <i>Instrumentos de Disección y Aparatos Utilizados en Laboratorio</i>	100
Figura 41. <i>Preparación de Reactivos y Fijador</i>	100
Figura 42. <i>Muestras Biológicas en el Campo.</i>	101
Figura 43. <i>Muestras de Diabrotica Montadas</i>	101
Figura 44. <i>Algunas partes de Diabrotica sicuanica</i>	101
Figura 45. <i>Cromosomas de Diabrotica speciosa con Colorantes Convencionales.</i>	102
Figura 46. <i>Cariotipo de la Hembra de Diabrotica speciosa con Colorante Orceina</i>	102
Figura 47. <i>Metafases Mitóticas de Ciegos Intestinales</i>	103

Figura 48. <i>Principales Medidas Morfométricas Utilizadas en el Estudio de las Especies de Chrysomelidae. Tomada de Cabrera (2001).</i>	104
Figura 49. <i>Detalles Morfológicos del Genero Diabrotica Chevrolat 1837 según Wilcox (1972)</i>	104
Figura 50. <i>Clave para Determinar Géneros de la Familia Chrysomelidae de Derunkov ..</i>	106
Figura 51. <i>Clave para Determinar Especies del Género Diabrotica de Krysan & Miller (1986)</i>	107
Figura 52. <i>Descripciones de Dibrotica sicuanica de Krysan et al. (1984)</i>	112

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Especies de Diabrotica speciosa y Diabrotica sicuanica.</i>	25
Tabla 2. <i>Plantas Hospederas de Especies de Diabrotica.</i>	26
Tabla 3. <i>Dificultades en la Determinación de las Especies.</i>	26
Tabla 4. <i>Relación de Especies del Género Diabrotica con Estudios Cariotípicos.</i>	40
Tabla 5 <i>Colecta de las Muestras de Diabrotica speciosa</i>	49
Tabla 6 <i>Colecta de las muestras de Diabrotica sicuanica</i>	50
Tabla 7 <i>Especies de Diabrotica Determinadas en las Localidades de K'ayra y Saylla</i>	56
Tabla 8. <i>Caracteres Utilizados en el Análisis Fenético</i>	70
Tabla 9. <i>Matriz Básica de Datos OTUS/ CARACTERES</i>	71
Tabla 10. <i>Matriz de Similitud, Distancias Taxonómicas OTUS X OTUS</i>	71
Tabla 11. <i>Morfometría de Diabrotica speciosa Germar 1824, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 machos</i>	74

Tabla 12. <i>Morfometría de Diabrotica speciosa Germar 1824, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 hembras</i>	74
Tabla 13. <i>Morfometría de Diabrotica sicuanica, Bechyné, 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 machos</i>	75
Tabla 14. <i>Morfometría de Diabrotica sicuanica, Bechyne 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 hembras</i>	75
Tabla 15. <i>Matriz de variables Discriminantes para Diabrotica speciosa y Diabrotica sicuanica</i>	76
Tabla 16. <i>Valores Cariométricos de los Cromosomas de Diabrotica speciosa (Juego Haploide)</i>	79
Tabla 17. <i>Valores Cariométricos de los Cromosomas de Diabrotica sicuanica, (Juego Haploide)</i>	82
Tabla 18. <i>Recuento de Cromosomas de Diabrotica speciosa (Coleóptera, Chrysomelidae)</i>	113
Tabla 19. <i>Recuento de Cromosomas de Diabrotica sicuanica (Coleóptera, Chrysomelidae)</i>	113

RESUMEN

El género *Diabrotica* (Coleóptera, Chrysomelidae), de la provincia de Cusco; posee un comportamiento simpátrico y polífago otorgándole importancia económica; debido a los daños que ocasionan a los principales cultivos agrícolas de la región, tales como maíz, papa, quinua, habas entre otros. El objetivo de la investigación fue la determinación morfológica y cariotípica del género *Diabrotica* (Coleóptera, Chrysomelidae), de dos localidades, K'ayra y Saylla de la Provincia de Cusco, para lo cual se realizaron 2 muestreos en K'ayra (Febrero y Marzo) colectando 354 especímenes y 2 muestreos en Saylla (Abril y Mayo) colectando 82 especímenes. En base a descripciones de la morfología externa e interna (genitalia), morfometría y cariotipo de las especies, se identificaron dos especies de *Diabrotica*: *Diabrotica speciosa* y *Diabrotica sicuanica*, presentes en cultivos de haba, quinua, maíz, papa y plantones de retama. De acuerdo a la descripción morfológica y morfométrica de las dos especies, se encontró que el mejor carácter para la determinación de las especies, fue la descripción de la morfología del saco interno de la genitalia del macho es así que *D. speciosa* presenta 3 escleritos en su saco interno, uno laminar dentado y 2 espinosos y *D. sicuanica* presenta en su saco interno 4 escleritos uno laminar y dentado y 3 espinosos, el número cromosómico para *D. speciosa* fue de $2n = 21$ cromosomas en el macho y 22 en la hembra, con un $NF = 40$, según el sistema X0/XX para la determinación del sexo, se determinó 10 pares autosómicos metacéntricos y un gonosoma "X" metacéntrico, para *D. sicuanica* fue de $2n = 19$ cromosomas en el macho y 20 en la hembra, con un $NF = 36$ y según el sistema X0/XX para la determinación del sexo, se determinó 9 pares de autosomas metacéntricos y un gonosoma "X", submetacéntrico.

ABSTRACT

The genus *Diabrotica* (Coleóptera, Chrysomelidae), from the province of Cusco, has a sympatric and polyphagous behavior, giving it economic importance due to the damage they cause to the main agricultural crops of the region, such as corn, potato, quinoa, beans, among others. The objective of the research was the morphological and karyotypic determination of the genus *Diabrotica* (Coleoptera, Chrysomelidae), from two localities, K'ayra and Saylla in the Province of Cusco, for which 2 samplings were carried out in K'ayra (February and March) collecting 354 specimens and 2 samplings in Saylla (April and May) collecting 82 specimens. Based on descriptions of the external and internal morphology (genitalia), morfometry and karyotype of the species, two species of *Diabrotica* were identified: *Diabrotica speciosa* and *Diabrotica sicuanica*, present in crops of broad bean, quinoa, maize, potato and broom seedlings. According to the morphological and morphometric description of the two species, it was found that the best character for the determination of the species was the description of the morphology of the internal sac of the genitalia of the male, thus in *D. speciosa* it presents 3 sclerites in its internal sac, one laminar and dentate and 2 spiny and in *D. sicuanica* it presents in its internal sac 4 sclerites, one laminar and dentate and 3 spiny, the chromosomal number for *D. speciosa* was $2n = 21$. chromosomes in the male and 22 in the female, with a $NF = 40$, according to the X0/XX system for sex determination was determined 10 metacentric autosomal pairs and a metacentric gonosome "X", for *D. sicuanica* was $2n = 19$ chromosomes in the male and 20 in the female, with a $NF = 36$ and according to the X0/XX system for sex determination, 9 pairs of metacentric autosomes and a submetacentric "X" gonosome were determined.

INTRODUCCIÓN

El género *Diabrotica* Chevrolat, (Coleóptera, Chrysomelidae) comprende 334 especies reconocidas y distribuidas por todo el mundo, excepto en las áreas polares.

En el Perú, la familia Chrysomelidae con la subfamilia Galerucinae, está representada por tres tribus, 45 géneros y 270 especies, el género *Diabrotica* Chevrolat de la tribu Luperini está representada por 45 especies (Chaboo & Clark, 2015), cuya sistemática está en proceso de desarrollo con nuevos criterios morfológicos, citológicos y moleculares (Schneider et al., 2002), que incluyen descripciones morfológicas y cariotipo de las especies para mejorar su caracterización y establecer sus relaciones filogenéticas (White, 1973).

Existe escasa información de estas especies en la zona de estudio; sin embargo, se reconoce la importancia que tienen desde el punto de vista económico, ya que son reconocidas como plagas que limitan el desarrollo y el rendimiento de los cultivos de la región, caso del maíz, la papa, la quinua y otros, que son permanentemente dañados por estas especies en forma muy significativa, por su condición polífaga y su plasticidad de adaptación a diferentes pisos ecológicos.

El conocimiento adecuado de las especies, mediante un estudio morfológico detallado de los órganos genitales y la valoración del cariotipo, son dos criterios valiosos que permitió interpretar este trabajo, permitiendo conocer mejor su comportamiento y diferenciarlas de otras especies, para un adecuado manejo de información taxonómica, biológica, comportamiento de reproducción y daño, luego el control integrado, teniendo como base una identificación real y correcta.

El presente estudio tiene como propósito determinar las especies del género *Diabrotica* (Chrysomelidae), colectadas en las localidades de K'ayra y Saylla (Cusco), al mismo tiempo describir la morfología externa e interna (genitalia) complementado con las características morfométricas y determinar el cariotipo; de esta manera aportar a un mejor conocimiento de los crisomélidos en la región del Cusco, como una contribución más a su análisis morfológico y citogenético.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Perú el estudio de la Familia Chrysomelidae es aún un poco limitado por lo que son escasos los estudios. En los últimos años no se realizó ninguna investigación que busque una delimitación amplia en el género *Diabrotica*, muchos solo son intentos de revisiones genéricas y regionales.

Para la región Cusco se han realizado pocos estudios sobre el género *Diabrotica* no existiendo estudios detallados y completos de las especies de *Diabrotica*, las referencias encontradas se limitan a catálogos o listas de especies y en algunos casos tan solo hay referencias morfológicas muy superficiales, sin ilustraciones en detalle y no se usan los caracteres conspicuos como es la morfología del saco interno en la genitalita del macho, que es la única que permite separar especies del género *Diabrotica* muy relacionadas, polimórficas y gemelas. El uso de otros caracteres de mayor significación sistemática, como las moleculares y citogenéticas han sido reconocidos para efectuar revisiones reales y confiables, pero en nuestro medio es aún limitado y desconocido por lo que se tienen escasa información de su valor, así como la falta de claves con fauna regional que permitan la determinación correcta y real de cada especie.

Las especies del género *Diabrotica* existentes en la zona de estudio ¿Presentarán la misma morfología o serán diferentes? ¿Cuáles son las diferencias morfológicas y morfométricas?

Las especies del género *Diabrotica* ¿Mostrarán la misma organización cromosómica o será distinto? ¿Cuáles son las diferencias Cromosómicas?

JUSTIFICACIÓN

Las especies del género *Diabrotica* (Coleóptera, Chrysomelidae) son considerados de importancia económica, por los daños que causan en las hojas, raíz y frutos los cultivos locales de maíz, papa, quinua, etc, además de ser vectores potenciales porque transmiten mecánicamente muchas enfermedades bacterianas y virus a las plantas cultivadas.

Numerosos estudios indican la existencia de estas especies como las de (Carrasco, 1967) que describen morfológicamente cada especie y sus daños, sin embargo, no se encontró estudios que describan en forma estricta aspectos morfológicos, evaluando caracteres de alto valor taxonómico, como la genitalia y mucho menos que considere información citogenética.

OBJETIVO GENERAL:

Determinar la morfología y el cariotipo del género *Diabrotica* (Coleóptera, Chrysomelidae), en las localidades de K'ayra y Saylla de la Provincia de Cusco.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Determinar las especies del género *Diabrotica* Chevrolat (Chrysomelidae) de las localidades de K'ayra y Saylla de la Provincia de Cusco mediante descripciones de morfología y genitalia.
2. Describir la morfología externa e interna (genitalia) y morfometría de las especies del género *Diabrotica*.
3. Elaborar el cariotipo de las especies estudiadas del género *Diabrotica* Chevrolat (Chrysomelidae).

HIPOTESIS

Las especies del género *Diabrotica* colectadas en K'ayra y Saylla - Cusco, muestran diferencias morfológicas, morfométricas y cariotípicas.

CAPITULO I

I. MARCO TEORICO

1.1 Antecedentes

Internacionales

Kocak & Ocutaner (2018) en su trabajo denominado “Some Cytogenetic Methods for the Investigation of Insect Chromosomes and Their Implications for Research in Systematic Entomology” indican que el uso de estudios cariotípicos en insectos es de considerable importancia, sin embargo, el cariotipo cromosómico se ha visto obstaculizado principalmente por: 1) el tamaño diminuto de muchos insectos, 2) la recuperación de tejidos adecuados, 3) el pequeño número de células adecuadas para los análisis 4) la pequeñez de los cromosomas en algunos grupos, 5) la dificultad para obtener un número satisfactorio de metafases bien diseminadas o dispersas, y 6) la determinación del mejor momento del año para llevar a cabo preparaciones de cromosomas utilizando material recién recolectado porque la historia de vida de muchos insectos aún no se conoce bien. Se han hecho muchos intentos para reducir estas dificultades mediante el desarrollo de nuevos métodos cariológicos. Estos procedimientos pueden producir preparaciones cromosómicas aplicables a una amplia variedad de insectos.

Schneider et al. (2002) en un artículo denominado “Cytogenetic Analys of 3 Populations of *Diabrotica speciosa* (Chrysomelidae, Galerucinae): Constitutive Heterochromatin and Nucleolus Organizer Regions” reportan el número cromosómico y cariotipo de *Diabrotica speciosa*, de tres poblaciones del Brasil, la misma que presentó un número cromosómico de $2n= 21, XX/X0$ con cromosomas de tipo Metacéntricos,

constituyendo la segunda especie conocida con cariotipo para Sudamérica y que difiere del resto de especies cogenéricas.

Petitpierre (1997) en su trabajo titulado “The value of cytogenetics for the taxonomy and evolution of Leaf Beetles (Coleóptera, Chrysomelidae) destaca que el valor de la citogenética para la taxonomía y la evolución de los Crisomélidos se discuten en detalle las ventajas e inconvenientes de la citogenética para la taxonomía y estudio de la evolución de los crisomélidos. Así mismo indica que la cariología puede suministrar medios para distinguir especies gemelas crípticas como se demuestra en *Chrysolina aurichalcea* y *Cassida viridis*.

Krysan & Smith (1987) desarrollaron un estudio sistemático en las especies del grupo “Virgifera” del género *Diabrotica* y mostraron que el saco interno de la genitalia del macho es útil para discriminar cada especie en forma inconfundible, presentando ilustraciones y una clave basada en estas características.

Krysan et al. (1984) después de un estudio riguroso de los ejemplares tipo y de coleccionar las especies de Cusco, modifica lo que para Bechyne, 1958 fue considerado como una subespecie de *Diabrotica decempunctata*, creando en una clave *D. decempunctata sicuanica*, la misma que dada las características de su genitalia del macho se elevó a la categoría de especie válida como *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958, este autor describe muy brevemente sus características externas y pone más relieve en los detalles del “Saco Interno” de la genitalia, ilustrando en comparación con la especie *Diabrotica semiviridis*, así se demuestra el valor de estos escleritos para separar en forma más confiable esta especie.

Vidal (1984) reporta la primera especie neotropical de *Diabrotica* para la Argentina, en la especie *D. marginata* en Harold de Misiones, en la que describe un número cromosómico de $2n=19, XX/X0$, similar a las especies norteamericanas y centroamericanas.

Smith (1969) estudiando especies de *Diabrotica* de Canadá, Estados Unidos y México, determina el número cromosómico y cariotipo de 32 especies, como $2n= 19$ cromosomas, donde todos los elementos del complemento cromosómico son de tipo metacéntrico y submetacéntricos, en forma invariable y el mecanismo de determinación sexual fue siempre de tipo XX/X0, entre las especies estudiadas están muchas plagas de importancia económica como *Diabrotica virgifera* de importancia para el maíz y cucurbitáceas.

Nacionales

Carrasco (1976) presenta una monografía de las plagas de la papa y técnicas de evaluación, en la que cita a los Chrysomelidae, con los géneros *Diabrotica* y *Epitrix*, considerando a *Diabrotica decempunctata sicuanica* Bechyné, junto con otras especies como *D. speciosa*, *D. speciosa vigens*, *D. viridula optiva*, *D. viridula viridula*, etc. Este mismo autor incluye una breve descripción morfológica de cada especie haciendo referencia a las maculas en los élitros y coloración del cuerpo, también incluye otros hospederos y localidades en el Departamento de Cusco, de esta manera *D. decempunctata sicuanica*, es citada en oca, olluco y tarwi para la localidad de K'ayra, Salineras y Recoleta, en el caso de *D. speciosa vigens* sobre maíz en las localidades de Quillabamba, Limatambo, Calca y Ollantaytambo

Carrasco (1967) basado en los estudios de (Bechyne, 1958), registra como plagas de los cultivos agrícolas en Cusco, 6 especies del género *Diabrotica*, conocidos por los agricultores como “loritos verdes”, reportando a *Diabrotica 10-punctata sicuanica* Bechyné, *Diabrotica speciosa vigens* Erichson, *Diabrotica viridula optiva* Erichson, *Diabrotica viridula viridula* Bech, *Diabrotica decempunctata* Latreille y *Acalymna demisa* Erichson,

describiendo brevemente algunos caracteres como es el número de maculas en los élitros y su distribución en la sierra alta, montaña y selva baja.

1.2 Familia Chrysomelidae Latreille 1802.

Chrysomelidae es una de las familias de insectos herbívoros más diversa y abundante del planeta (Ordonez et al., 2014). Esta gran diversidad se ha asociado con la evolución de las angiospermas en el Terciario, debido a la disponibilidad de alimento que los linajes ancestrales de Chrysomelidae tuvieron en aquel tiempo, de forma que pudieron darse asociaciones entre hospederos e insectos que permitieran cierta relación entre sus filogenias, tal es el caso de géneros como: *Phyllobrotica* Chevrolat o *Blepharida* Chevrolat. Los crisomélidos tienen una forma corporal muy variable, existen especies esféricas (Chrysomelinae), subcilíndricas (Clytrinae y Cryptocephalinae) y con élitros extendidos a manera de escudo (Cassidinae). Algunos adultos miden menos de 1 mm (Alticinae) y otros alcanzan 27 mm (Sangrinae e Hispinae). Se caracterizan por presentar algunos de los siguientes caracteres:

- Cabeza sin rostro y con suturas gulares separadas; antenas filiformes, moniliformes, serriformes, pectiniformes o claviformes, formadas por 9 u 11 artejos
- Élitros generalmente completos pero truncados, exponiendo 1 o 2 tergitos en algunas especies
- Fórmula tarsal 5-5-5, pseudotetrámeros
- Cavidad procoxal externamente abierta a cerrada e internamente cerrada, transversa o globular; mesocoxas contiguas a separadas por más del ancho coxal, con la parte lateral de la cavidad mesocoxal abierta o cerrada.
- Metaesterno con una sutura transversal.

- Trocanter cubierto o al menos parcialmente expuesto
- Abdomen con 5 esternitos completos (Ordóñez et al. 2014).

Chrysomelidae se distingue de las otras familias de Chrysomeloidea por la presencia de apodemas anteriores ampliamente fusionados de la genitalia del macho, que forman una estructura en forma de tapén o gorra en la base del lóbulo medio. Ausencia de estructura mesonotal estridulatoria. Inserciones de las antenas no en prominencias y sin estar rodeadas por los ojos. Presencia de espuelas, por lo general pequeñas, en las tibias, además de esos caracteres en común, la familia posee una gran variedad de formas y características particulares. Esta variación puede caracterizarse de mejor manera basándose en la morfología de las sub familias que componen a Chrysomelidae. La biología y dinámica de las poblaciones de crisomélidos peruanos es pobremente conocida, su estudio se ha centrado en pocas especies, principalmente plagas de cultivos agrícolas como la mariquita de la papa (*Diabrotica speciosa*), o la pulga saltona *Epitrix subcrinita*. Especies de estos géneros son univoltinas o multivoltinas, el número de generaciones al año depende de las condiciones ambientales y la disponibilidad de alimento. La mayoría de crisomélidos son ovíparos, aunque existen algunas especies vivíparas u ovovivíparas, principalmente en zonas montañosas, en la región ártica y en ambientes tropicales, como es el caso de especies del género *Platyphora* Gistel. En especies minadoras de Alticinae, Eumolpinae e Hispinae la ovoposición se lleva a cabo en diferentes partes de la hoja o en cavidades hechas por la hembra. En especies edafícolas, la profundidad de la ovoposición depende de la humedad del suelo; parámetro que determina la diapausa en sus diversos estados de desarrollo. El número de huevos varía entre géneros, por ejemplo *D. virgiferazeae* Krysan y Smith, oviposita 600 huevos en promedio; en contraste, las hembras del género *Colaspis* Fabricius depositan aproximadamente 75 huevos en las raíces de su huésped (Ordóñez et al. 2014).

Muchos crisomélidos usan sus excretas para cubrir y proteger sus huevos, en especial las subfamilias Clytrinae, Cryptocephalinae, Chlamisinae y Lamprosomatinae. Las Cassidinae elaboran una compleja ooteca que resguarda sus huevos. El tipo de larvas de Chrysomelidae varía de campodeiforme a eruciforme. Varias presentan mecanismos químicos o físicos en defensa contra sus depredadores, como espinas, escudos abdominales o glándulas protrusibles (Ordóñez et al. 2014).

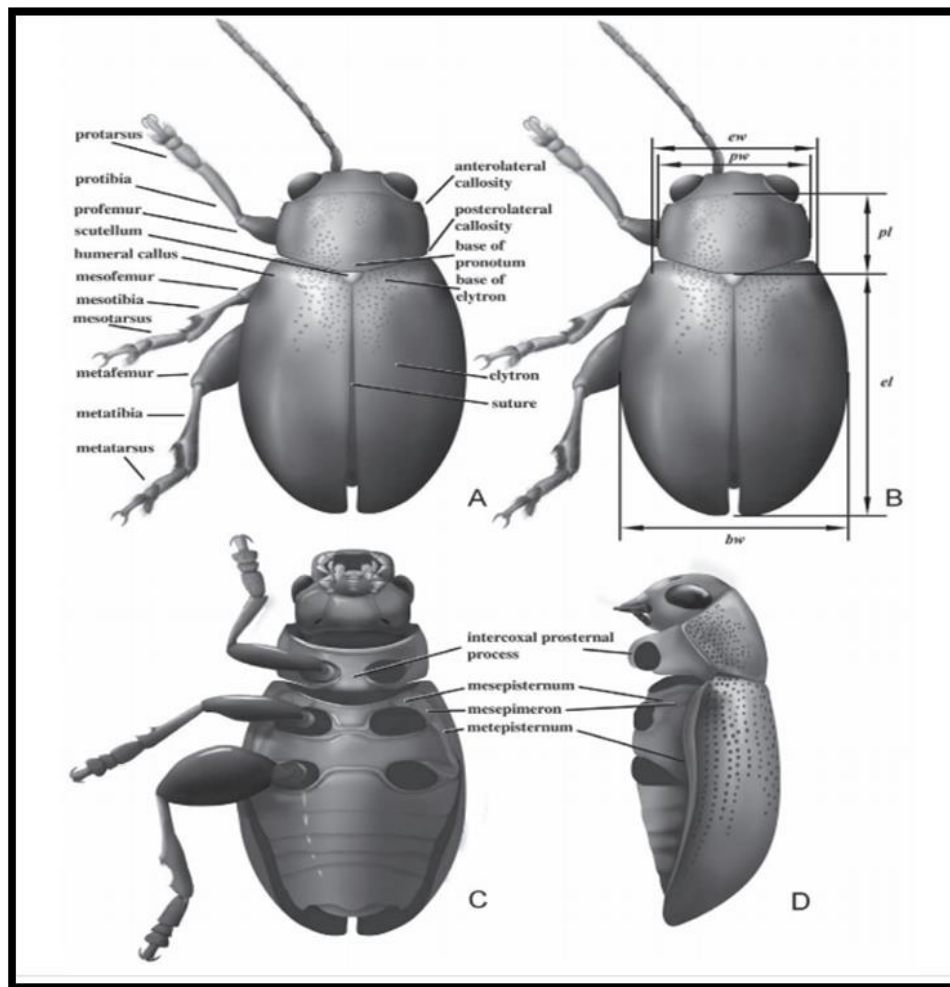


Figura 1 *Morfología Externa de un Representante de la Familia Chrysomelidae, (Insecta Galerucinae), Mostrando Detalles Generales del Cuerpo.*

Nota. A: Partes dorsales, B: Medidas morfométricas, C y D: Partes en vista ventral y lateral del cuerpo. Tomada de Konstantinov et al. (2011).

En larvas gregarias se observan comportamientos sofisticados, para ahuyentar a sus enemigos. El cuidado maternal es un comportamiento que se presenta en algunas especies de Cassidinae y Chrysomelinae. Las Chrysomelidae típicas se alimentan y ovipositan sobre las hojas de una gran variedad de plantas. Algunas especies son monófagas o polífagas, pero la mayoría son oligófagas y junto con Curculionoidea, han sido usadas para investigar la evolución de la especificidad en insectos fitófagos. Los crisomélidos adultos consumen hojas, flores, polen y brotes nuevos de las plantas; las larvas se alimentan de raíces y tallos subterráneos. Clytrinae y algunas Cryptocephalinae se alimentan de huevos y excretas de hormigas. Los crisomélidos son habitantes terrestres, pero existen especies acuáticas y semiacuáticas (Ordóñez et al. 2014)

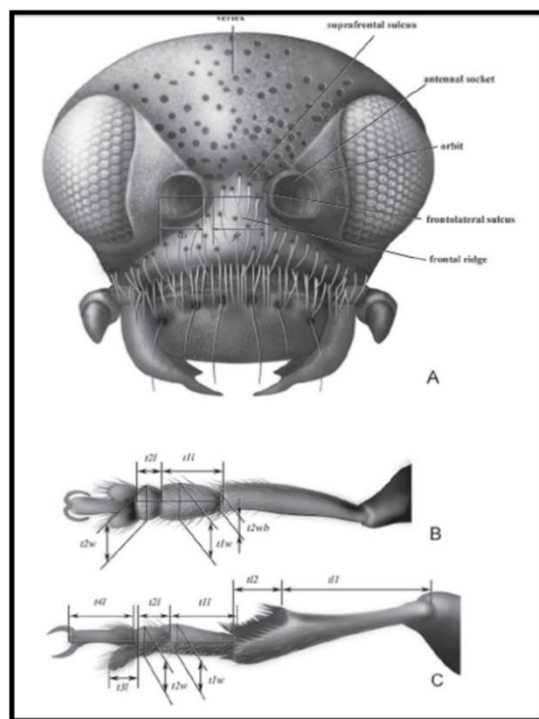


Figura 2. *Morfología de un Representante de la Familia Chrysomelidae, Mostrando en Detalle las Partes*

Nota. A: Cabeza en vista frontal, B y C: Detalles de los últimos segmentos de la pata, incluyendo el arolio y la uña. Tomada de Konstantinov et al. (2011)



Figura 3. *Ciclo de Vida de los Chrysomelidae*

Nota. A: Huevo, B, C, D, E: Larva, F: Pre Pupa, G: Pupa, H: Pre Imago, I: Imago mostrando detalles de la metamorfosis completa. Tomada de Jolivet et al. (1988).

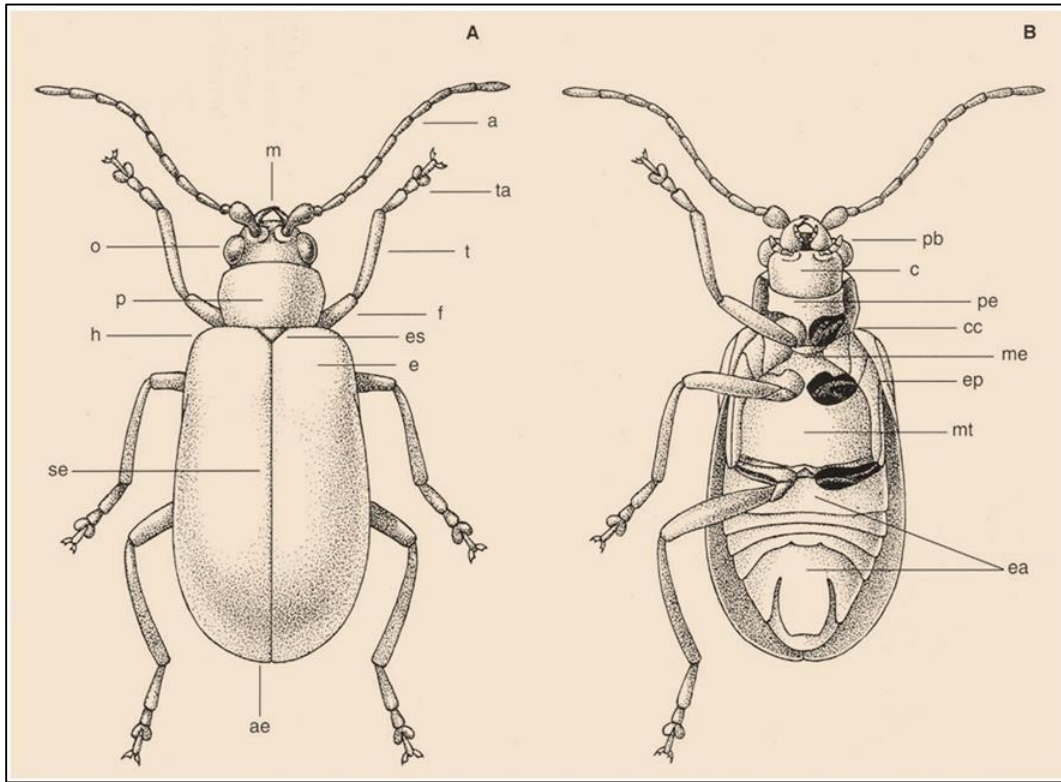


Figura 4. *Morfología General de un Crhysomelidae*

Nota. A: Vista dorsal, B: Vista ventral, a: Antena, m: Mandíbula, ae: Apice elitral, me: Meso esternón, c: Cabeza, mt: Meta esternón, cc: Cavidad coxal, o: Ojo, e: Elitro, p: Pronoto, ea: Esternitos abdominales, pb: Partes bucales, ep: Epipleura, pe: Proesternón, es: Escutelo, se: Sutura elitral, f: Femur, t: Tibia, h: Humero, ta: Tarsos. Tomada de Petitpierre (2000)

1.3 Sub Familia Galerucinae Latreille 1802

Se proponen varias hipótesis filogenéticas confusas, basadas en caracteres morfológicos y genéticos, para la relación entre el grupo de Galerucinae y Alticine. Sin embargo, ninguna de las propuestas consideradas está libre de críticas. La historia evolutiva de estos taxones está lejos de ser trivial. Aunque hay estudios que apoyan el concepto de dos subfamilias recíprocamente monofiléticas, los estudios con muestreo más amplio indican que

la hipótesis más prevalente es Alticinae polifilética, compuesta de una serie de cepas incluidas en varios niveles en Galerucinae. Se han descrito más de 15.800 especies, de los cuales pertenecen a Galerucinae 5,800 especies, distribuido en 480 géneros y cinco tribus: Oidini, Galerucini, Metacyclini, Sermlylini y Luperini. Las galerucinas generalmente tienen cuerpos alargados u ovalados, antenas largas, muy separadas, procoxas contiguas, fémures posteriores de aspecto alargado (en oposición a los fémures dilatados atribuidos a alticinas), tarsómeros III bilobulado (Konstantinov et al. 2011).

Casi todas las galerucinas se alimentan de dicotiledóneas, pero hay varios informes de adultos que consumen polen de plantas de varias familias, incluidas Poaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae y Convolvulaceae (Krysan & Miller, 1986).

El escaso conocimiento de Galerucinae está generalmente limitado a aquellos taxones en los que las larvas son gregarias y hospedan las partes aéreas de las plantas, además de aquellas especies que son plagas agrícolas. Luperini es cosmopolita y es la más grande de las tribus de Galerucinae y comprende más de 3.900 especies, divididas en tres sub-tribus: Aulacophorina, Diabroticina y Luperina. El hábito subterráneo de las larvas es característico de esta tribu. Además de las larvas alargadas, blanquecinas, generalmente erizadas, Luperini contiene machos con algunos caracteres bien definidos, como el lóbulo medio sin ganchos basales (en oposición a la presencia de ganchos basales) (Konstantinov, 1998).

Cuatro secciones conforman la sub-tribu Diabroticine: Diabroticites, Cerotomites, Phyllecthrites y Trachyscelidites. Esta subtribu tiene 42 géneros, de los cuales 34 son sudamericanos, y se estudia ampliamente para incluir varias especies de importancia económica para el hombre .Es característico de las Diabroticinas la presencia de emarginación en el margen apical del último ventrículo de los machos, además de la

presencia de espolones tibiales en todas las hembras, y solo en las piernas meso y metatorácicas en los machos (Clark et al. 2001).

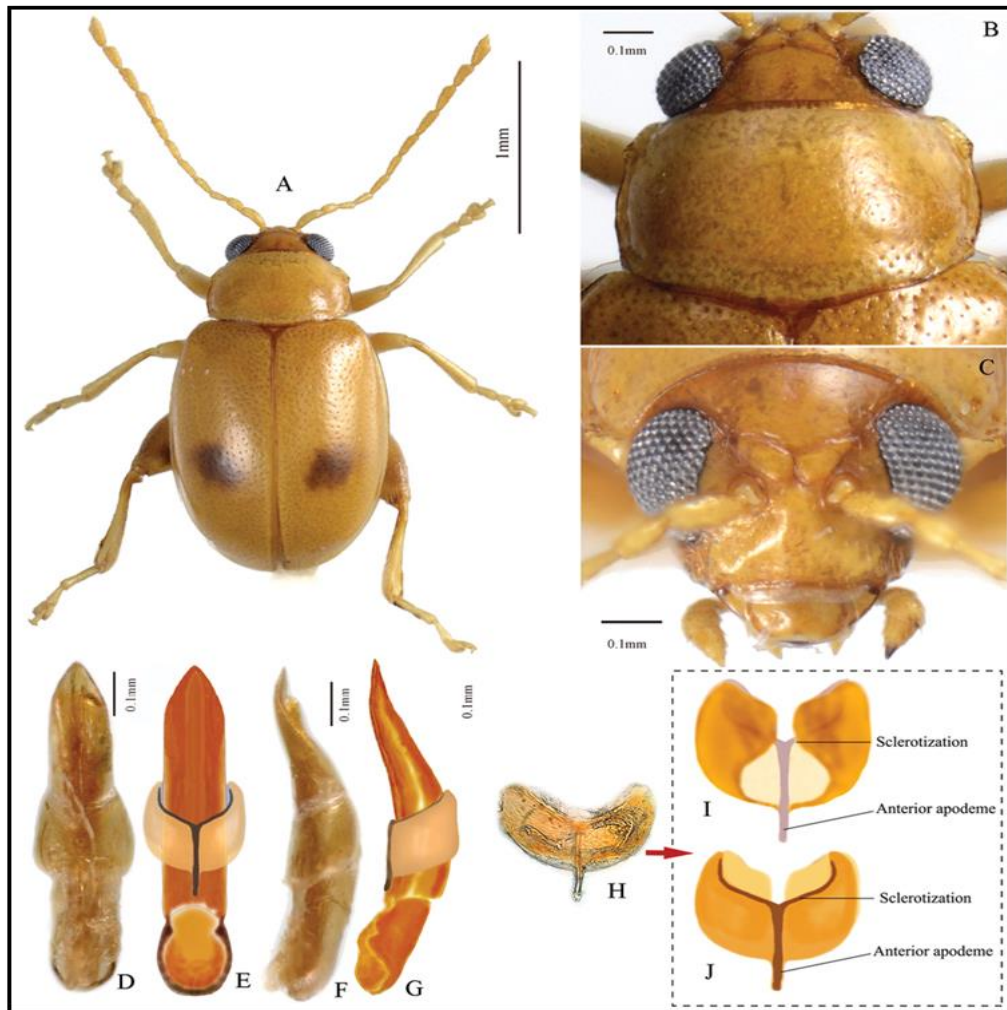


Figura 5. Detalles Morfológicos y Genitalia del Macho en un Representante de *Galerucinae* (*Chrysomelidae*)

Nota. A: Cuerpo dorsal, B: Cabeza y Pronoto, C: Cabeza en vista frontal, D y G: Edeagus del macho H y J: Placa genital. Tomada de Konstantinov et al. (2011).

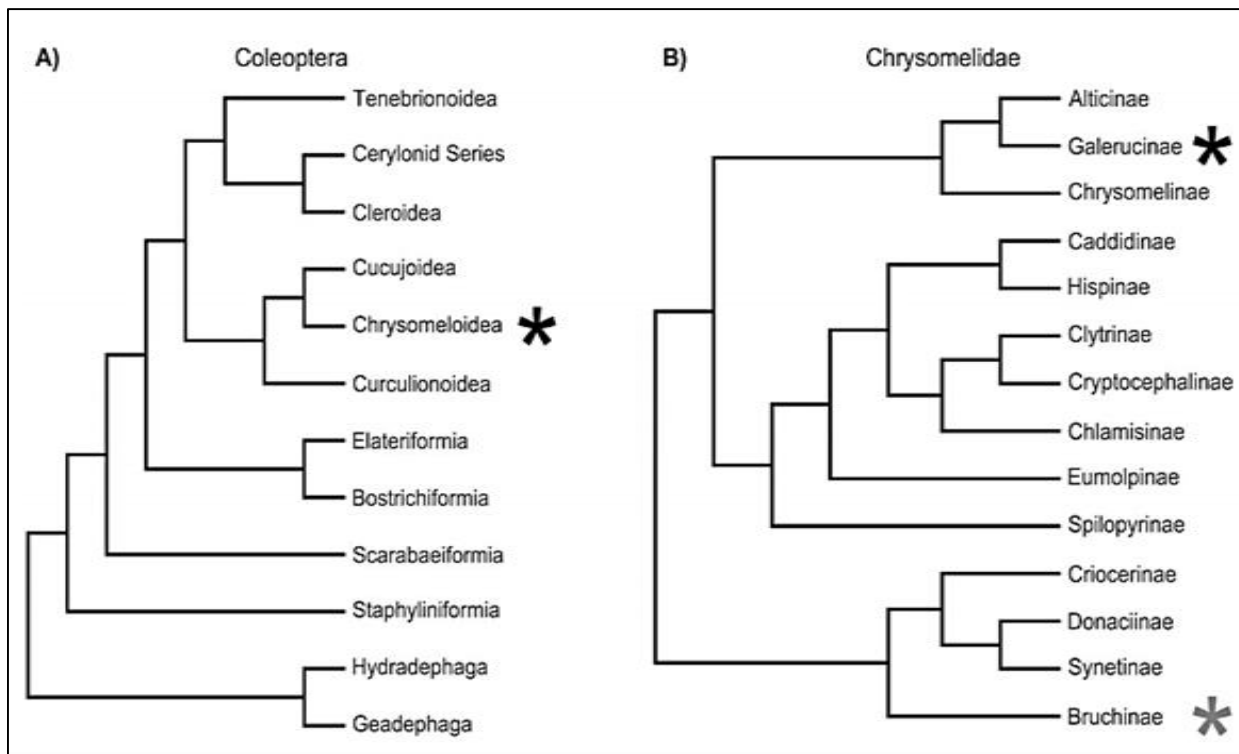


Figura 6.. Relaciones Filogenéticas de los Coleópteros Vinculados a la Familia Chrysomelidae y Relaciones Filogenéticas entre Sub Familias, Basado en Datos Morfológicos y Moleculares.

Nota. A: Superfamilia Chrysomeloidea dentro del orden Coleóptera, B: Subfamilia Galerucinae dentro de la familia Chrysomelidae.

Tomada de Eben & Espinosa de los Monteros (2013)

1.4 Sección *Diabroticita* Chapbred, 1875

La sección *Diabroticites* se compone esencialmente de especies incluidas en el género *Diabrotica*. La sección fue propuesta por primera vez por Chapuis en 1875, en base a la presencia de epipleuras elitrales amplias, tibias mucronadas y garras bífidas. La historia del grupo es peculiar, ya que más del 85% de sus taxones se describieron en un período anterior a 1895, por lo tanto, en un período pre-evolutivo. No fue sino hasta 1947, con Barber, que los otros géneros de *diabroticitas* se crearon para abarcar grupos morfológicos previamente incluidos en *Diabrotica*. Además, las especies descritas en este período a menudo se basan en un solo espécimen y descripciones breves, que no permiten su identificación real. (Sappington et al. 2006). Nunca ha habido una revisión general de los *diabroticitas*, pero debido a su importancia económica se estima que el daño a la agricultura depredadora supera mil millones de dólares anuales solo en los Estados Unidos, este grupo incluye algunos taxones bien estudiados. Sin embargo, los entomólogos del siglo XX han evitado en gran medida el estudio de la sistemática de este grupo en su conjunto porque les resulta problemático ya en el período establecido entre 1982 y el momento actual, no se realizó ninguna investigación que buscara la delimitación amplia de la sección. Otros trabajos taxonómicos de este período son generalmente intentos de revisiones genéricas regionales, además de describir nuevos taxones y proponer sinónimos. Es posible caracterizar los taxones de *Diabroticites* como aquellos cuyos individuos tienen garras tarsales bífidas y machos con tibias mesotorácicas simples y no proyectadas, a diferencia de las tibias apicalmente emarginadas características de los miembros de la sección *Phyllecthris*. Es posible reconocer las *diabroticitas* a partir de sus antenas muy aproximadas, situadas por encima del nivel de los márgenes oculares internos, generalmente la superficie dorsal glabra, el terguito VI de los

machos está fuertemente quitinizado y externalizado. Los más de 150 años de historia taxonómica de la sección de Diabroticites fueron respaldados principalmente por descripciones morfológicas superficiales, con un uso intenso de patrones de coloración y menciones de rasgos sexuales. De los 17 géneros incluidos en la sección, 12 se describieron originalmente en función de los caracteres relacionados con la presencia de dimorfismo sexual secundario, que puede estar presente en la cabeza, las antenas, las patas de los machos. Sin embargo, existe evidencia de que tales especies, que han sido escasamente descritos por los autores originales, no representan necesariamente (Prado, 2013)

1.5 Género *Diabrotica* Chevrolat 1837

El nombre genérico *Diabrotica* fue utilizado por primera vez por Chevrolat en 1837, en el catálogo de Dejean, en forma de una lista de especies, en ese momento con 55 nombres. Solo en 1947 Barber asignó la especie tipo *Crioceris fucata* a *Diabrotica*. Antes de esta publicación, el género tenía 739 especies, gracias principalmente a la contribución de Baly y Jacoby del material de sus extensas colecciones entomológicas, principalmente representativas de América Central y del Sur, se estima que al menos un tercio de esas especies se han descrito sobre la base de especímenes únicos. En 1886, Baly asignó la especie *Diabrotica* en algunos grupos y subgrupos, caracterizados por la longitud relativa de los antenómeros II a IV y la coloración general, tales grupos serían seguidos más tarde por Gahan, Jacoby y autores posteriores, convirtiéndose en la base para algunos de los nuevos géneros que tendrían como especies previamente incluidas en *Diabrotica*. Entre las diabroticinas económicamente importantes registradas para este género, conocidas popularmente como gatitos, se encuentran las siguientes especies: *Diabrotica signifera* en cucurbitáceas, maíz, soja, frijoles, maní y papas, en América del Norte y del Sur, *D. rufolimbata*, curbitaceae y

maíz en Brasil, *D. viridula* en maíz en Brasil, *D. virgifera*, *D. barberi* y *D. undecimpunctata* en maíz en los EE. UU. y *D. balteata* en cucurbitáceas en los EE. UU. (Szalanski et al. 2000).



Figura 7. Distribución Geográfica de *Diabrotica speciosa* en Sudamérica

Nota. Tomada de Krysan & Miller (1986)

1.5.1 Diagnósis del Género *Diabrotica*

Antenas delgadas; antenómero III corto, ligeramente más corto que II, o antenómeros II y III cortos subiguales; cabeza sin ocelos, ojos grandes, gena corta y ocasionalmente presente; pronoto con o sin impresiones centrales; élitros no modificados, puntuación sin organización visible, patrón de color variado, sin iridiscencia; basitarsómeros anteriores en machos con discos adhesivos de tamaño variable; lóbulo medio con colgajo apical dorsal

articulado que cubre el ostium. El género actualmente tiene 354 especies, distribuidas en tres grupos de la siguiente manera: 307 en el grupo *fucata*, 26 en *virgifera*, 11 en *signifera* y 10 especies sin grupo definido (Smith & Lawrence, 1967)

Distribución geográfica del género se ha registrado en toda América, con especies del grupo *fucata* distribuidas principalmente en América Central y del Sur, especies del grupo *virgifera* distribuidas principalmente en América del Norte y especies del grupo *signifera* restringidas a América del Sur (Krysan & Smith, 1987)

1.5.1.1 Morfología

- **Cabeza**

Como en muchas subfamilias de Chrysomelidae, las diabroticinas tienen una cabeza relativamente pequeña cuyo ancho en vista dorsal tiene un tamaño máximo igual al ancho máximo del pronoto. Una excepción notable es *Isotes onira* Bechyné 1961, un taxón en el que el macho tiene una cápsula cefálica agrandada más grande que el pronoto en ancho y largo, por lo general, la cabeza se inserta profundamente en el protórax, de modo que la porción visible del vértice suele ser pequeña. La forma general de la cabeza sigue el patrón globular observado en las otras galerucinas. La región facial está formada dorsalmente por el vértice, lateralmente, por las genas y, frontalmente, por la región fronto-clipeal. La región occipital, que es ligeramente variable y pequeña, incluye el agujero occipital, la gula y el submenton. El vértice puede tener un tegumento liso u ornamentado con diferentes números y tamaños de puntos y cerdas. En la porción inferior del vértice, por encima de las cavidades antenales, se encuentran las antenas elevadas del integumento, generalmente de forma ovoide. La sutura coronal no está desarrollada, generalmente limitada a un pequeño punto justo por encima del callo antenal, una región conocida como fóvea supra-antenal. La frente,

delimitada lateralmente por las suturas frontogénicas (casi discretas), generalmente está elevada, en forma de T invertida y se llama cresta frontal. Las cavidades antenales son de forma redonda y generalmente se ubican en la porción frontal mediana. Los ojos compuestos están bien desarrollados, fuertemente convexos, redondeados, insertados lateralmente en la cabeza, el tamaño es variable. Alrededor de cada ojo es posible observar la línea orbital, que normalmente está bien delimitada. La gena es a menudo de tamaño pequeño. Las antenas son articuladas en 11, generalmente largas (equivalentes a al menos la mitad de la longitud del cuerpo), a menudo más largas en los machos y como máximo de longitud a la longitud del cuerpo. El artejo I es subcónico, con la porción distal más ancha que la proximal. Los otros antenómeros suelen ser filiformes o, cuando tienen diferentes formas, tienen diferentes modificaciones resultantes de dimorfismo sexual. La superficie de los antenómeros generalmente está cubierta de vellosidad densa, además de la presencia de cerdas sensoriales apicales en cada artejo. Los caracteres relacionados con la antena se han utilizado varias veces en la historia taxonómica de las diabroticinas para definir géneros y grupos de especies. Muchas especies, relacionados con el dimorfismo sexual, se definieron libremente, lo que resultó en un establecimiento frágil de límites genéricos en esta sección. Los caracteres antenales utilizados se han codificado para descomponer las diversas modificaciones observadas en cada artejo entre los sexos (longitud relativa, proporciones, forma, presencia de puntuación y excavación, por ejemplo). El clípeo es pequeño, limitado a una banda estrecha, transversal y esclerotizada. El labro es grande, plano, subrectangular, con un margen distal ligeramente redondeado y una demarcación media. La región media del labro tiene una fila transversal formada por un número variable de puntos de ajuste grandes, cada uno con una cerda larga. Las piezas bucales son perpendiculares al eje del cuerpo, lo que hace que las diabroticinas sean insectos hipognáticos. Las mandíbulas son simétricas,

robustas, subpiramidales, generalmente con cinco dientes acuminados en la región distal. La primera bien desarrollada con presencia de membrana septal. Mandíbula con estípite; gálea y lacinia bien desarrolladas; palpos maxilares con cuatro segmentos. Labium con ligamento membranoso y palpo labial con tres artejos. No hay variación significativa en la morfología bucal observada en la sección Diabroticites. El uso de algunos caracteres de la boca parece ser útil para niveles taxonómicos más amplios como las subfamilias y familias (Prado, 2013).

- **Tórax**

El pronoto, subrectangular, puede tener márgenes laterales sinuosos. En cada ángulo hay una larga cerda sensorial. El disco puede tener impresiones de la superficie lateral normalmente coincidentes. La densidad y el tamaño de los puntos son variables. Las porciones laterales del pronoto que se pliegan ventralmente son los hipómeros, en los cuales puede haber un callo de tamaño y forma variable, con puntuación. Los escleritos mesotorácicos ventrales siguen un patrón de composición ligeramente variable. Las cavidades del fémur pro y mesotorácicas son generalmente redondeadas y abiertas en el margen interno. Las cavidades metatorácicas son transversales, cerradas. Gran parte de la taxonomía de los diabroticites se desarrolló, principalmente en el período preevolutivo, en base a los caracteres estándar de coloración y escultura de los élitros (Prado, 2013).

La sutura humeral puede o no estar bien desarrollada, a veces acompañada de líneas paralelas llamadas placas humerales (Krysan & Smith, 1987). Aunque generalmente hay cerdas erguidas escasas en la superficie del tercio apical de los élitros las partes que recuerdan son glabras (con la excepción, en algunos taxones donde los élitros tienen cerdas erectas sobre toda la superficie elitral). A veces hay modificaciones apicales en los machos de algunos taxones. En la cara interna del élitro, tanto en el margen interno como en la mitad

basal, puede haber microespéculas descritas como áreas de adhesión a las alas. Las alas son poco variables en sección, con poca venación esclerotizada. El estudio de las alas parece tener una importancia sistemática solo en un nivel más amplio, como la de familia (Szalanski et al. 2000).

Las patas son alargadas con tarsos y pseudotetrameros. Hay poca variación en la forma general, excepto en algunos casos de dimorfismo sexual. Los fémures son alargados, más robustos que las tibias. Las tibias son alargadas, generalmente más largas que los fémures, y tienen un espolón tibial en el margen apical en la cara interna que se articula con el tarso (espolón tibial ausente en las piernas protoraxicas masculinas). El basitarsómero (tarsómero I) es generalmente cilíndrico, más largo que los demás, y puede tener una región con cerdas especializadas en los machos, conocida como disco adhesivo. Los siguientes dos tarsómeros (II y III) son cortos, el III bilobulado, con cerdas muy densas y largas (como en el patrón de crisomélido normal). El tarsómero IV se reduce de modo que parece ser solo una porción basal del último tarsómero. El tarsómero V es alargado, curvo y glabro. Las garras del tarso son generalmente bífidas (Krysan & Smith, 1987).

- **Abdomen y Genitalia**

El abdomen de cinco ventritos (esternitos visibles) puede mostrar dimorfismo sexual. El número de terguitos visibles varía entre sexos, cinco en hembras y seis en machos. El último terguito del macho puede doblarse hacia la porción ventral del abdomen, formando, junto con el ventrito V, un tubo en el que se ajusta y descansa el lóbulo medio cuando está evertido. Históricamente, los genitales han sido poco explorados en la taxonomía de los diabroticidas, generalmente limitados al uso de características genitales masculinas para el reconocimiento de niveles específicos. El edeago de diabroticita, formado por el lóbulo

medio y el tegmen concuerda con el patrón galerucinoso, el lóbulo medio es una estructura alargada, aproximadamente cilíndrica, alrededor de la cual se forma normalmente el pequeño tegmen membranoso, en forma de "Y" (Zia, 1936).

Una segunda estructura membranosa es el spiculum gastrale y puede rodear al edeago de forma apical. La longitud del edeago generalmente no excede la longitud abdominal más larga. Lateralmente, el lóbulo medio generalmente tiene la porción basal curva. El ostium puede estar protegido por un colgajo apical articulado de forma variable. El saco interno puede tener escleritos en número y forma variables, incluso menos exploradas que los genitales masculinos (Konstantinov et al. 2011).

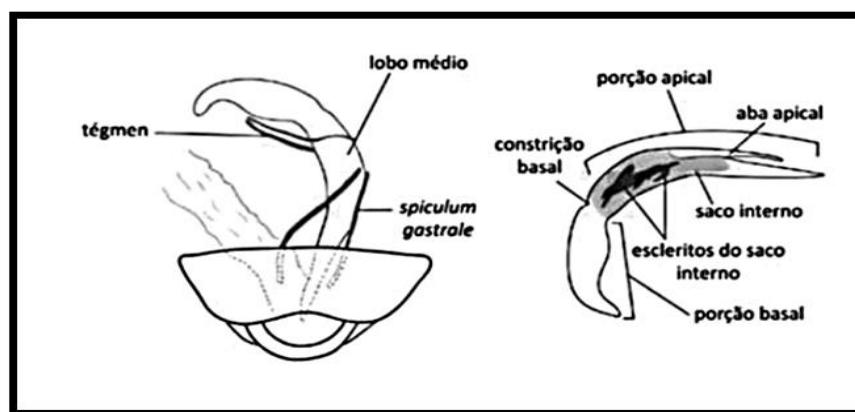


Figura 8. *Genitalia del Macho del Género Diabrotica Chevrolat 1837.*

Nota. Tomada de Wilcox (1965)

Las estructuras que componen los genitales femeninos de las diabroticinas nunca se han utilizado en la taxonomía integral del grupo. Una razón para esto puede ser la dificultad para establecer la homología de las estructuras que conforman los genitales femeninos de la subfamilia Galerucinae en su conjunto. La comparación con las otras subfamilias de

crisomélidos indica que hay algunas peculiaridades de las galerucinas que aún no se comprenden (Konstantinov, 1998).

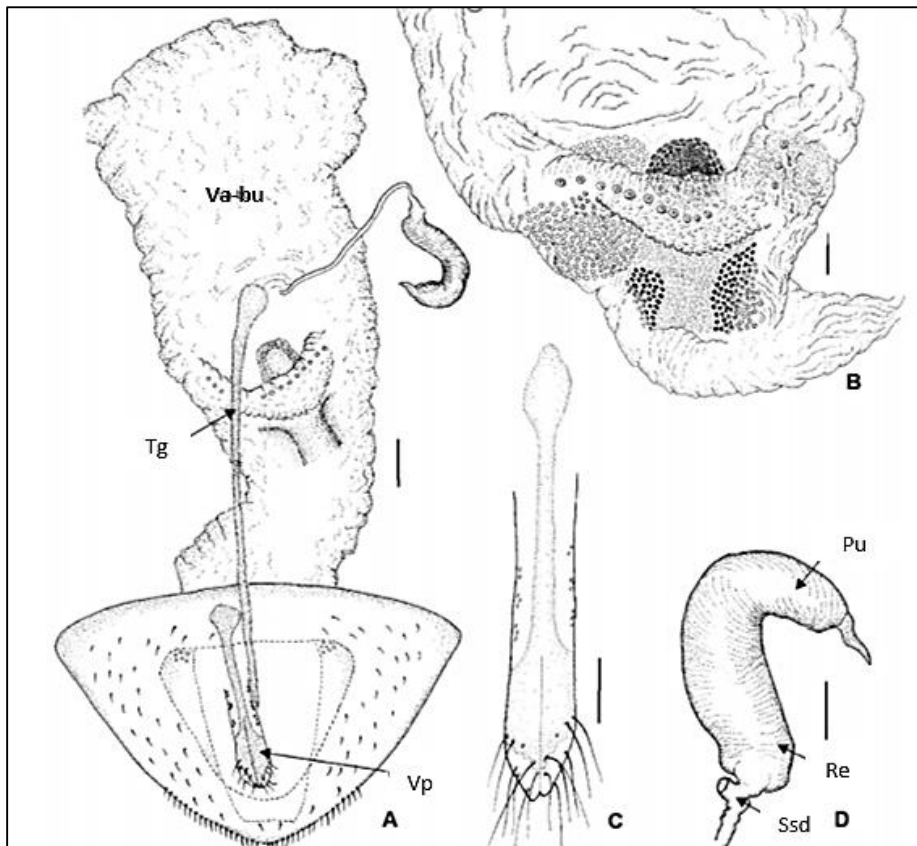


Figura 9. Genitalia de la Hembra del Género *Diabrotica* Chevrolat 1837.

Nota. A: Genitalia de la hembra, B: Detalles de la vagina, C: Palpo vaginal, D: Epermateca, Pu: Bomba, Re: Receptaculo, Ssd: Conducto espermatecal esclerotizado, Tg: Tignum, Va-bu: Bursa copulatrix vaginal, Vp: Palpo vaginal. Escalas: 0.1 mm. Tomada de Cabrera & Cabrera (2004).

La descripción de los genitales femeninos de las diabroticidas, si las hay, y a menudo se limita a la caracterización de la espermateca. La vulva de diabroticina está formada en el último terguito y el último ventrito, que generalmente tienen una forma similar. En muchas especies, el último terguito no está cubierto por los élitros, pero es dorsalmente llamativo y a veces se le llama pigidio en la superficie interna del último ventrículo, es posible observar

el esternito VIII membranosa, que exhibe una proyección esclerotizada alargada llamada tignum. También en esta porción de la cámara genital, internalizada, se encuentra el palpo vaginal, típico de las Galerucinas, estas son estructuras esclerotizadas, emparejadas, alargadas con cerdas en su extremo distal. No existe una hipótesis de consenso sobre el origen de los palpos vaginales, aunque superficialmente se parecen a los de otras subfamilias. La bursa copulatrix puede presentar diversos grados de esclerotización. La espermateca sigue el patrón curvado galerucinoso (en "C", "S" o "coma") (Wilcox, 1965).

1.6 Especie

En el marco del análisis morfológico de un grupo de organismos es fundamental la selección de un concepto de especie el cual nos permita la formulación de un mecanismo a utilizar y la eventual delimitación de las especies. El concepto de especie puede ser interpretado de tres diferentes maneras: *rango de especies*, asignado al nivel básico de la clasificación Linneana; *taxón de especies*, organismos agrupados sobre la base de determinados caracteres taxonómicos y *especie biológica*, entes de la naturaleza con capacidad de evolucionar. Hasta el momento se han definido más de 20 formas distintas el concepto de especie, enfocándose en diferentes aspectos. El concepto ampliamente aceptado por los sistemáticos es el Concepto biológico de especie, este define especie como un grupo de poblaciones naturales, interfértiles y aisladas genéticamente de otros grupos similares. El problema de este concepto radica en la dificultad para demostrar el aislamiento reproductivo entre diferentes especies; además, es inaplicable para especies agámicas y paleoespecies. También resulta inaplicable para la mayoría de los estudios sistemáticos, ya que muchas especies son conocidas únicamente de colecciones y en el mejor de los casos, son raramente capturadas, por lo que resultaría casi imposible estudiar la interfertilidad entre ellas. Desde la perspectiva filogenética también se han propuesto diversas definiciones de especies. Las

diferencias entre estos conceptos radican en la significancia de las autapomorfías y el uso de agrupamientos cladístico (mono-, para- y polifiléticos). El concepto de especie aquí utilizado, es el concepto *filogenético de especie* propuesto por Wheeler y Platnick (2000): Las especies son conjuntos de pequeñas agregaciones de poblaciones diagnosticables por una única combinación de estados de caracteres (Lanteri & Cigliano, 2006).

Posición Sistemática del Género *Diabrotica*

Dominio: Eukarya

Reino: Animalia

Subreino: Bilateria

Superfilo: Ecdysozoa

Filo: Arthropoda

Subfilo: Hexapoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Infraclase: Neóptera

Superorden: Holometabola

Orden: Coleóptera

Suborden: Polyphaga

Infraorden: Cucujiformia

Superfamilia: Chrysomeloidea

Familia: Chrysomelidae

Subfamilia: Galerucinae

Género: *Diabrotica*

Especie: *Diabrotica speciosa* Germar 1824

Especie: *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958

Nota. Tomada de Krysan & Miller (1986)

Tabla 1. *Especies de Diabrotica speciosa y Diabrotica sicuanica.*

Especies	Nombre común	Localidad Tipo	Sinonimias	Distribución
<i>Diabrotica speciosa</i>	Escarabajo de las cucurbitáceas, Escarabajo del crisantemo, Vaquita de San Antonio, Lorito verde	Brasilia, Brasil	<i>Diabrotica hexaspilota</i> , <i>Diabrotica simoni</i> , <i>Diabrotica prasina</i> , y <i>Diabrotica simulans</i>	Centroamérica y Sudamérica, desde México, hasta Argentina, Brasil, Perú, Colombia, Ecuador.
<i>Diabrotica sicuanica</i>	Lorito verde	Sicuani, Cusco, Perú	<i>Diabrotica desempunctata sicuanica</i>	Sudamérica, Perú, Cusco, Sicuani, Pisac, Cuyo grande, Ccorao, Urcos (Quispicanchis), Provincia del Cusco, Provincia de Anta, Maras y Chincheros

Nota. Tomada de Carrasco (1967) y Krysan et al. (1984)

Tabla 2. *Plantas Hospederas de Especies de Diabrotica.*

<i>Diabrotica speciosa</i> Germar 1824	<i>Diabrotica sicuanica</i> Bechyné 1958
<i>Lactuca serriola</i> L.	<i>Solanum tuberosum</i> L
<i>Solanum tuberosum</i> L	<i>Zea mais</i> L
<i>Solanum esculentum</i> Mill	<i>Chenopodium quinoa</i>
<i>Phaseolus lunatus</i> L	<i>Amarantus hibridus</i>
<i>Helianthus annuus</i> L.	<i>Pisum sativum</i>
Cucurbitaceae (Wilcox, 1972)	<i>Vicia faba</i>
<i>Zea mais</i> L	<i>Oxalis tuberosa</i>
<i>Amarantus hibridus</i>	<i>Ollucus tuberosus</i>
<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Lupinus mutabilis</i>

Nota. Tomada de Carrasco (1967)

Tabla 3. *Dificultades en la Determinación de las Especies.*

Especies	Características
<i>Diabrotica speciosa speciosa</i>	Cabeza amarilla o marrón
<i>Diabrotica speciosa amabilis</i>	Cabeza negra
<i>Diabrotica speciosa speciosa</i>	Máculas medianas y apicales, grandes y transversales
<i>Diabrotica speciosa vogens</i>	Máculas reducidas a pequeñas manchas amarillas
<i>Diabrotica speciosa speciosa</i>	Élitros lisos
<i>Diabrotica hilli</i>	Élitros sulcados
<i>Diabrotica linsleyi</i>	Élitros sulcados
<i>Diabrotica viridula</i>	Élitros sulcados

Nota. Tomada de Krysan & Smith (1987).

1.7 Enfoque Fenético

Las Relaciones fenéticas o de similitud se basan en el parecido morfológico o genético entre las especies a considerar sin tomar en cuenta el proceso genealógico por el cual aparecieron esas propiedades. Estas relaciones se expresan como proporción de las similitudes y diferencias existentes entre los organismos. La taxonomía numérica comprende dos aspectos: uno filosófico, basado en la teoría clasificatoria denominada "feneticismo" y el otro el de las técnicas numéricas, que son el camino operativo para aplicar dicha teoría (Crisci & Lopez, 1983).

De acuerdo con Crisci & Lopez , la teoría del feneticismo tiene en cuenta:

- Las clasificaciones deben llevarse a cabo utilizando un gran número de caracteres, tomados de todas las partes del cuerpo del organismo y en cualquier momento de su ciclo vital.
- Todos los caracteres tienen el mismo peso o significación al comenzar la clasificación. Rechaza la significación o peso *a priori* y reivindica la significación *a posteriori*, es decir, reconocer el o los caracteres que mejor discriminan o diagnostican los grupos formados, una vez construida una clasificación.
- La clasificación no tiene en cuenta las relaciones genealógicas o filogenéticas.
- La clasificación se basa en similitudes fenéticas. Se entiende por fenético cualquier tipo de carácter utilizable en la clasificación, incluyendo los morfológicos, fisiológicos, ecológicos, anatómicos, citológicos, geográficos, etc.
- No es necesario conocer la historia evolutiva del grupo de organismos en estudio.

Se denomina técnicas numéricas a la rama de la taxonomía numérica que mediante operaciones matemáticas calcula la afinidad entre unidades taxonómicas en base al estado de sus caracteres, el uso de la taxonomía numérica en el establecimiento de las relaciones

taxonómicas en diversos grupos de animales o plantas es ampliamente conocido (Sokal & Sneath, 1963). Para la aplicación de la taxonomía numérica se siguen los siguientes pasos:

1.7.1 Acumulación de Datos, según Crisci & Lopez (1983)

Elección de las OTU: Las unidades operacionales taxonómicas elegidas son las especies del género *designada* y estudiadas, a saber: OTU 1: Especie 1, OTU 2: Especie 2, OTU 3: Especie 3 y así sucesivamente. Los datos correspondientes a cada especie serán tomados del material estudiado.

Elección de los Caracteres: Para cada OTU se registran N caracteres, multiestado de los cuales pueden corresponder a datos morfológicos, fisiológicos, ecológicos, anatómicos, citológicos, geográficos, etc. Los diferentes estados que presentan los caracteres cualitativos son codificados, la cual consiste en otorgarle a cada uno de ellos un valor numérico ordinal. Los caracteres de doble estado se codifican con los números 1 (presencia) y 0 (ausencia) e igual codificación se emplean para los caracteres doble estado excluyentes y para los multiestado se codifican como 0-1-2,3, etc, de acuerdo a la secuencia de variación observada.

1.7.2 Construcción de la Matriz Básica de Datos (MBD):

Una vez obtenida la información sobre los estados de los N caracteres de las especies bajo estudio, se construye una matriz denominada Matriz Básica de Datos donde los datos están ordenados en filas que representan las OTU y las columnas representan los caracteres. Para los datos no obtenibles, por ejemplo, valores perdidos, variable aún no obtenida o atributo ausente en la OTU, se emplea el símbolo 999 (no comparable); éstos son descartados durante el procesamiento de los datos. La matriz básica de datos se puede estudiar desde dos puntos de vista:

- El de la asociación de las OTU, llamada técnica Q
- El de la asociación de caracteres, llamada técnica R (Crisci & Lopez, 1983)

1.7.3 Procesamiento de los Datos

La Matriz Básica de Datos representada equivale al Número de OTUs por N caracteres y es analizada por las técnicas numéricas tipo Q y R [Análisis de Agrupamientos (cluster analysis)] y la técnica ACP [Métodos de Ordenación (ordination)] siguiendo las técnicas de análisis multivariado propuestas por (Rohlf, 1998) en el programa de computación Numerical Taxonomy System and Multivariate Statistical Programs PAST, vers. 3.29 y STATA vers. 15. El procesamiento de los datos se realiza mediante las técnicas de análisis de matrices de similitud que permiten el reconocimiento de las relaciones entre la totalidad de las OTU. Antes de ser sometida al análisis mediante técnicas numéricas la MBD debe ser estandarizada por caracteres. La estandarización consiste en expresar los datos de la matriz original en unidades de desviación estándar, con el objeto de evitar el desigual peso de los caracteres, debido al uso de diferentes escalas de medida (Crisci & Lopez, 1983).

Análisis de Agrupamientos según Crisci & Lopez (1983).

Técnica Tipo Q: clasificación de OTU (asociación de especies). Incluye las siguientes etapas:

- **Obtención del Coeficiente de Similitud de "Distancia Taxonómica"**

El coeficiente de distancia más comúnmente usado es el llamado "Mean Character Difference" (MCD) usado como medida taxonómica y se expresa como la sumatoria del valor absoluto de la diferencia entre cada estado de los caracteres de las OTU, dividido por el número de caracteres. El "Mean Character Difference" está expresado en la fórmula:

$$MCD = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij} - x_{ik}$$

Donde:

$i = 1$

X_{ij} es el valor del carácter i en la OTU j

X_{ik} es el valor del carácter i en la OTU k

n = número de caracteres

Los valores que se obtienen varían entre 0 e ∞ (cero infinito), siendo 0 (cero) el valor de máxima similitud.

- **Construcción de la Matriz de Similitud.**

En esta matriz las OTU ocupan las filas y las columnas, siguiendo el mismo orden en ambas; de esta manera se compara cada OTU consigo misma y con las restantes. La diagonal principal de la matriz representa a cada OTU comparada consigo misma, correspondiendo este valor al de la máxima similitud (cero en este caso) (Crisci & Lopez, 1983).

Agrupamiento de las N OTU en un Fenograma de distancia entre individuos, mediante la aplicación del método de ligamiento promedio.

El fenograma es un diagrama en forma de árbol que muestra la relación en grado de similitud (fenética) entre dos OTU o grupos de OTU. Los valores de similitud se expresan en una escala que acompaña al gráfico. El diagrama está formado por líneas horizontales donde se ubican las OTU. Estas líneas horizontales se unen mediante líneas verticales que expresan en relación con la escala el valor de similitud entre las OTU o conjuntos de OTU. Un grupo de OTU está formado por todas las paralelas a la escala que nacen de una misma línea vertical y las ramificaciones que contiene.

Cálculo del "Coeficiente de Correlación Cofenético " (CCC) Es una medida de la distorsión interna de la técnica, que consiste en construir una nueva matriz de similitud a partir de los valores del fenograma. Los valores de este coeficiente comúnmente varían entre 0,6 y 0,9 siendo los valores superiores a 0,8 indicadores de escasa distorsión.

Técnica Tipo R: clasificación de caracteres o variables (asociación de caracteres) Incluye los mismos pasos que la técnica Q, pero en este caso los caracteres son considerados como OTU; el gráfico resultante es un fenograma de distancia entre caracteres. Esta técnica se aplica con el propósito de establecer cuales caracteres se hallan agrupados y cuáles no. Esto significa que los primeros están altamente correlacionados y que los no agrupados son relativamente independientes entre sí (Crisci & Lopez, 1983).

1.7.4 Métodos de Ordenación

Análisis de Componentes Principales (ACP). Ordenación de las OTU a diferencia del Análisis de Agrupamientos, estos métodos no trazan límites en el espacio que separen a los grupos. Las relaciones entre las OTU o entre los caracteres están reflejadas en la posición en que se disponen en ese espacio. Se realiza a partir de la matriz de correlación entre OTU o entre caracteres y sus resultados están expresados en modelos geométricos bi o tridimensionales partiendo de una matriz de similitud entre las OTU (técnica Q), se establece la relación entre las especies (OTU) por su proximidad en el espacio: cuanto más próximas se encuentran, más relacionadas están entre sí, es un gráfico tridimensional de las OTU. Los puntos llevan etiqueta y están unidos al origen de coordenadas por los vectores de línea cortada. Partiendo de una matriz de similitud entre caracteres (técnica R), la representación gráfica final se refiere a la relación entre caracteres, los puntos están etiquetados con los números de los caracteres o variables que representan (Crisci & Lopez, 1983).

1.8 Análisis Discriminante (AD)

El Análisis Discriminante es una técnica estadística multivariante cuya finalidad es analizar si existen diferencias significativas entre dos o más especies, por medio de variables morfométricas evaluadas en la sistemática en desarrollo, respecto a un conjunto de variables, medidas sobre los mismos en el caso de que existan, explicar en qué sentido se dan y facilitar procedimientos de clasificación sistemática de nuevas observaciones de origen desconocido en uno de los grupos analizados. El análisis discriminante nos permite separar especies muy próximas o muy diferenciadas (especies alomorfas), y reconocer especies crípticas o gemelas (Rohlf, 2015).

Por medio de la simetría o alometría de sus variables morfométricas, las mismas que se proyectan en un campo cartesiano, como un punto a cada especie, si estas se solapan denota su similitud morfométrica. El Análisis Discriminante se puede considerar como un análisis de regresión, donde la variable dependiente es categórica y tiene como categorías la etiqueta de cada uno de los grupos, mientras que las variables independientes son continuas y determinan a qué grupos pertenecen los objetos (Rohlf, 2015).

1.9 Citogenética y su Importancia

La citogenética comprende todo estudio relacionado al cromosoma aislado o en conjunto, ya sea en su máximo estado de condensación o distendido, con todo lo que respecta a su morfología, organización, función y replicación, así como su variación y evolución. Además de ello, los estudios citogenéticos guardan estrecha relación con los mecanismos de aislamiento reproductivo y los modos de especiación en los insectos y su sistemática, por lo cual sus aportes son de gran relevancia. En cuanto a la estructura del cromosoma, se distinguen dos puntos importantes. El primero de ellos es la identificación de constricción

primaria o centrómero, que es un marcador muy utilizado para determinar la morfología cromosómica. El centrómero está constituido por heterocromatina constitutiva que contiene secuencias cortas repetitivas altamente condensadas, lo que dificulta la penetración del colorante generando la apariencia de ausencia de tinción. Un cromosoma monocéntrico (con un solo centrómero) posee brazo corto “p”, brazo largo “q”, ambos constituidos por zonas eucromáticas, heterocromáticas y con telómeros (Shingh, 2002).

Un segundo descriptor importante es la presencia de la constricción secundaria, la cual puede estar presente en algunos cromosomas del complemento de una determinada especie, los cuales reciben el nombre de cromosomas SAT o “sachromosome”. El número de cromosomas SAT varía de una especie a otra. En la constricción secundaria se ubica la región organizadora del nucléolo, la cual contiene cientos de copias de genes codificadores de RNAr. No solo la presencia de este marcador es importante, sino también la posición del satélite a lo largo del cromosoma (Shingh, 2002). El cromosoma SAT puede ser denominado como microsátelite, macrosatelite o satélite lineal Battaglia (1995).

Cada especie posee un cariotipo que consiste en el ordenamiento de los cromosomas somáticos exhibiendo sus características fenotípicas, estas características pueden ser estructurales y, cuantitativas y aportan gran información para investigaciones básicas (taxonomía y evolución) y aplicadas (citotaxonomía) Shingh (2002).

A partir de un cariotipo, se elabora un idiograma, que consiste en la representación gráfica de los cromosomas en base a su longitud relativa, mostrando los grupos de homólogos y marcadores citogenéticos (Mirzaghaderi & Marzangi, 2015).

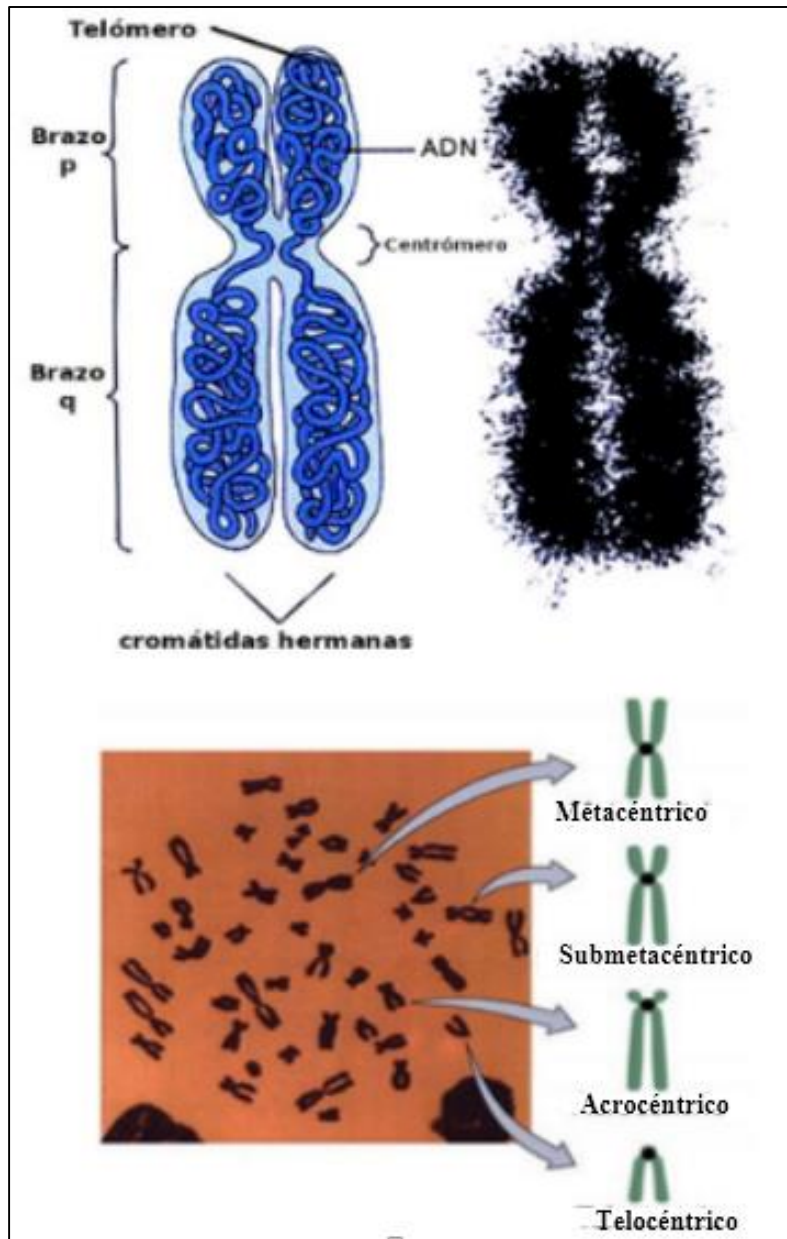


Figura 10. Estructura, Partes y Clasificación de un Cromosoma

Nota. Tomada de Saavedra (2020).

Dado que los cromosomas están moldeados por un sistema dinámico, producto del proceso evolutivo, el cariotipo permite observar variaciones fácilmente detectables en cuanto a forma, número y tamaño de los cromosomas. Estas tres variables pueden ser

afectadas también por arreglos estructurales como la fusión céntrica alterando el número de cromosomas y la simetría del cariotipo.

La información cuantitativa del cariotipo se obtiene a partir de la identificación del principal marcador citogenético que viene a ser el centrómero (Poggio & Naranjo, 2004).

Levan et al. (1964) reportaron que mediante la identificación de la posición del centrómero puede dividirse al cromosoma en dos brazos “S” (corto) y “L” (largo); los cuales, al ser medidos, brindan valores que permiten calcular índices.

1.10 Clasificación de los Cromosomas

La morfología del cromosoma se encuentra determinada por la ubicación del centrómero, el cual se puede ubicar en cualquier parte a lo largo del cromosoma. Dependiendo de esta posición los cromosomas se pueden clasificar en cuatro categorías principales: metacéntrico presenta el centrómero en el centro del cromosoma, submetacéntrico presenta el centrómero desplazado hacia uno de los lados y se pueden observar en el cromosoma un brazo largo (q) y uno corto (p). Los cromosomas con brazos muy cortos son denominados acrocéntricos y aquellos en los que es visible solo un brazo con el centrómero en el extremo terminal se denominan telocéntricos (Nirchio & Oliveira, 2006)

Longitud Absoluta según Levan et al. (1964)

Este parámetro se define como la sumatoria de la longitud del brazo corto (p) y el brazo largo (q), de cada cromosoma, el que se puede expresar en micras el mismo que se denota como:

$$LA = p + q$$

Donde:

LA = Longitud Absoluta

p = Brazo Corto

q = Brazo Largo

n = Número haploide de cromosomas

LT= Longitud Total del cromosoma

LG= Longitud Total del Genoma

LR= Longitud Relativa

Longitud Relativa según Levan et al. (1964)

Corresponde a la longitud total de cada cromosoma sobre la longitud total del genoma.

$$LR = \frac{LT}{LG}$$

Índice Centromérico

Es la relación porcentual de la longitud del brazo corto (p) de cada cromosoma y su longitud absoluta, se denota como:

$$IC = \frac{p}{p + q} \times 100$$

Índice de Brazo

Es considerado como la relación entre la longitud del brazo largo (q), por el brazo corto (p) de un centrosoma, denotado por la letra “r”.

$$r = \frac{q}{p}$$

A fin de reducir la subjetividad a la hora de clasificar los cromosomas por la posición del centrómero, se ha extendido el uso de la nomenclatura propuesta por Levan et al. (1964) que consiste en calcular el índice braquial (r), obtenido dividiendo el tamaño del brazo largo entre el tamaño del brazo corto ($r=1/s$). Dependiendo del valor del índice centromérico los cromosomas se clasifican en metacéntrico (r de 1,00 a 1,70), submetacéntrico (r de 1,71 a

3,00), acrocéntrico (r de 3,01 a 7,00) y telocéntrico (r mayor que 7,01). Finalmente, una clasificación por tamaño, considerándose grande cuando la longitud total (%) es mayor a 7, mediano entre 4 - 7 y pequeño menor a 4 Levan et al. (1964).

Término	Posición centromérica	Índice braquial	Índice centromérico X 100
M	Punto medio	1	50
m	Región media	1 - 1.7	50 - 39.5
sm	Región submedia	1.7 - 3	39.5 - 25
st	Región subterminal	3 - 7	25 - 12.5
t	Región terminal	7 - ∞	12.5 - 0
T	Punto terminal	∞	0

Figura 11. Escala para Clasificar los cromosomas y Tipos de Cromosomas de acuerdo a la posición del Centrómero.

Nota. Tomada de Saez & Cardoso (1978)

Criterios para realizar Cariotipo: Según Spotorno (1985) Las placas metafásicas se deben seleccionar teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Metafases mitóticas aisladas para evitar confundir dos células vecinas.
- Metafases en lo posible con cromosomas bien separados para lograr una fácil individualización.

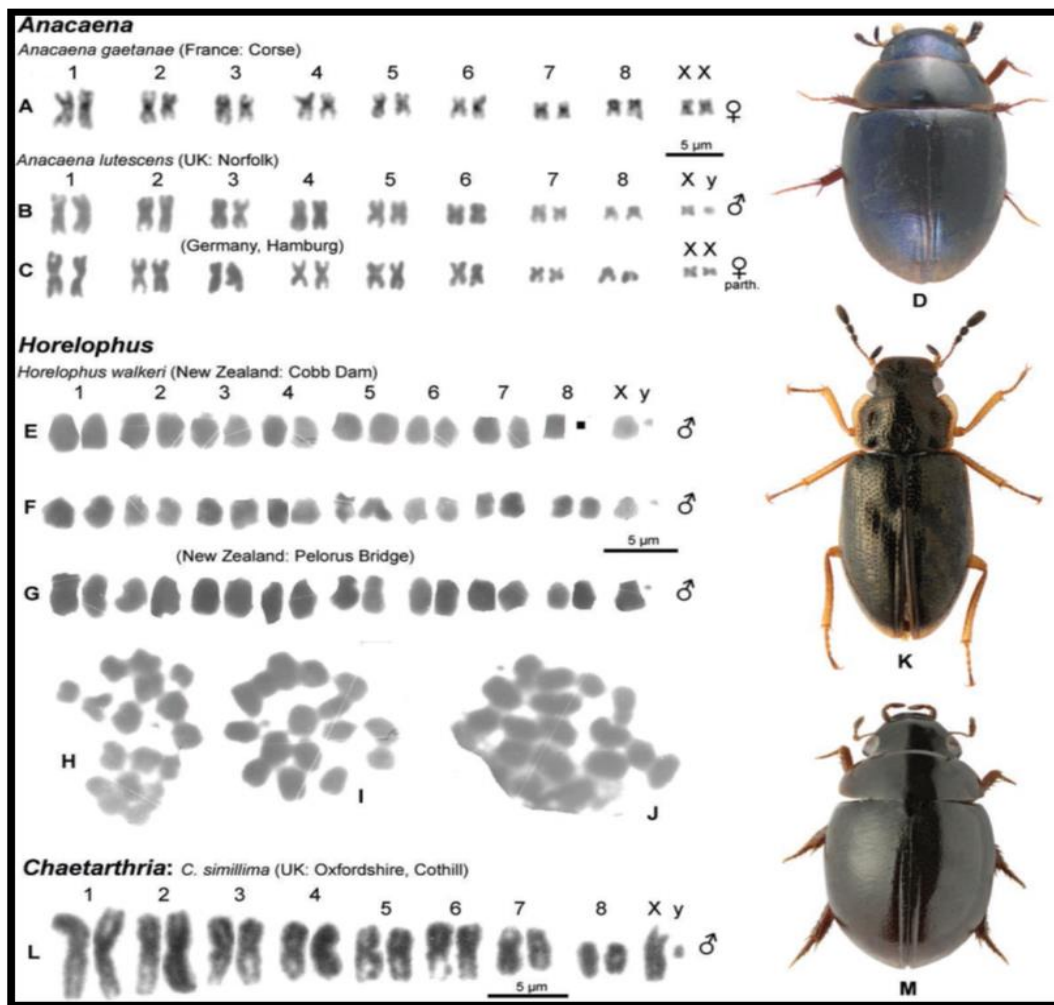
- Metafases bien coloreadas para obtener buenas microfotografías con buen contraste y escrutinio morfológico.
- Conteo del número de cromosomas diploides en el mayor número posible de células que permitan su visualización y estudio.
- Reconocer la morfología de cada par cromosómico a través de las fotos ampliadas, antes de ser recortadas.

1.11 Estudios Cromosómicos en Chrysomelidae

La familia Chrysomelidae incluye muchas especies, que tienen una gran heterogeneidad de números de cromosomas y tipos de determinación sexual. Los tipos más frecuentes de determinación del sexo son Xyp y XO en esta familia. La determinación del sexo del tipo Xyp / XX se encuentra en la mayoría de las especies de coleópteros y el tipo XO / XX se ha observado con mayor frecuencia en Polyphaga, principalmente en las familias Lycidae, Lampyridae, Cantharidae, Tenebrionidae y Passalidae (Smith & Virkki, 1978)

La subfamilia Galerucinae incluye aproximadamente 95 especies analizadas citogenéticamente y se caracteriza por tener un número de cromosomas diploides que varía entre $2n = 59$ en *Rhapidopalpa femoralis* y $2n = 13$ en *Gynandrobrotica nigrofasciata*. En esa subfamilia, la determinación del sexo de los tipos Xyp, XO, Xy, XXy, neo XY y Xyr ocurre de manera similar a la descrita para otras subfamilias de Chrysomelidae. Una revisión de la información citogenética de 34 especies del género *Diabrotica* descrita en la literatura muestra que este género posee un número de cromosoma uniforme $2n = 19$, XX / XO, en el macho $18+ X$ y hembra $18+ XX$, y consiste en cromosomas metacéntricos y submetacéntricos; esta homogeneidad cariotípica es poco común dentro de los géneros de Chrysomelidae Petitpierre et al.(1988)

De los cariotipos encontrados entre las especies de *Diabrotica* está relacionada con el número de cromosomas supernumerarios (cromosoma B y frecuencia de quiasma). Ennis en 1972, que muestra $2n = 20 + X$, en el macho y como 2 pares autosómicos acrocéntricos en el complemento. Según White 1973, los cromosomas supernumerarios se encuentran en varios grupos de animales y plantas, y se encuentran en algunos individuos de la población Camacho et al.(2000)



. **Figura 12.**Consenso Entre Cariotipos y Sistemática de Insectos Coleópteros.

Nota. Tomada de Angus et al. (2020).

Tabla 4. *Relación de Especies del Género Diabrotica con Estudios Cariotípicos.*

Especies	Numero diploide	Meioformula
<i>Diabrotica variabilis</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica adelpha</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica balteata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica bioculata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica capitata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica circulata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica cortezi</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica cristata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica dissimilis</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica flaviventris</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica gramínea</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica lemniscata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica limitata 15-punctata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica longicornis</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica longicornis barberi</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica longicornis nigricornis (undesc.)</i>	2n=20M	9+XO
<i>Diabrotica margita</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica nummularis</i>	2n=19M	9+XO

Nota. Tomada de Petitpierre et al. (1988)

Especies	Numero diploide	Meioformula
<i>Diabrotica ochreara</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica octoplagiata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica porracea</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica rufolimabata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica scutella</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica sexmaculata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica speciosa</i>	2n=21M	10+XO
<i>Diabrotica tibialis</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica trifasciata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica undecimpunctata duodecimnotata</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica undecimpunctata howardi</i>	2n=19M	9+XO
<i>Diabrotica undecimpunctata howardi</i>	2n=19M	9+XO

Nota. Meioformula: Fórmula de lo bivalentes en la meiosis, más el cromosoma sexual; 2n = Número diploide de cromosomas, XO= Cromosoma sexual del macho. Tomada de Petitpierre et al. (1988).

En los coleóptera, los cromosomas supernumerarios se encuentran en aproximadamente 50 especies y subespecies, en el género *Diabrotica*, 11 especies tienen cromosomas supernumerarios que varían en número de 1 a 5 por individuos, muchos cromosomas supernumerarios son heterocromáticos constitutivos, en otras palabras, genéticamente inertes, sin embargo, en algunas especies, estos cromosomas poseen actividad transcripcional Camacho et al.(2000).

CAPÍTULO II

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de Estudio

El presente estudio se desarrolló en las localidades de K´ayra y Saylla de la Provincia de Cusco, departamento de Cusco, ubicado en la región sur oriental del país con las siguientes coordenadas:

K´ayra (distrito de San Jerónimo, campo experimental de la UNSAAC) Latitud Sur:-13.55694, Longitud Oeste:-71.87489, Altitud: 3186 m.

Saylla (distrito de Saylla) Latitud Sur: -13.56486, Longitud Oeste: -71.8386, Altitud: 3138m.

La provincia de Cusco presenta dos estaciones bien marcadas, una estación seca – fría de Abril- Setiembre y la otra húmeda – lluviosa de Setiembre-Marzo (Eco Tour Cusco, 2021).

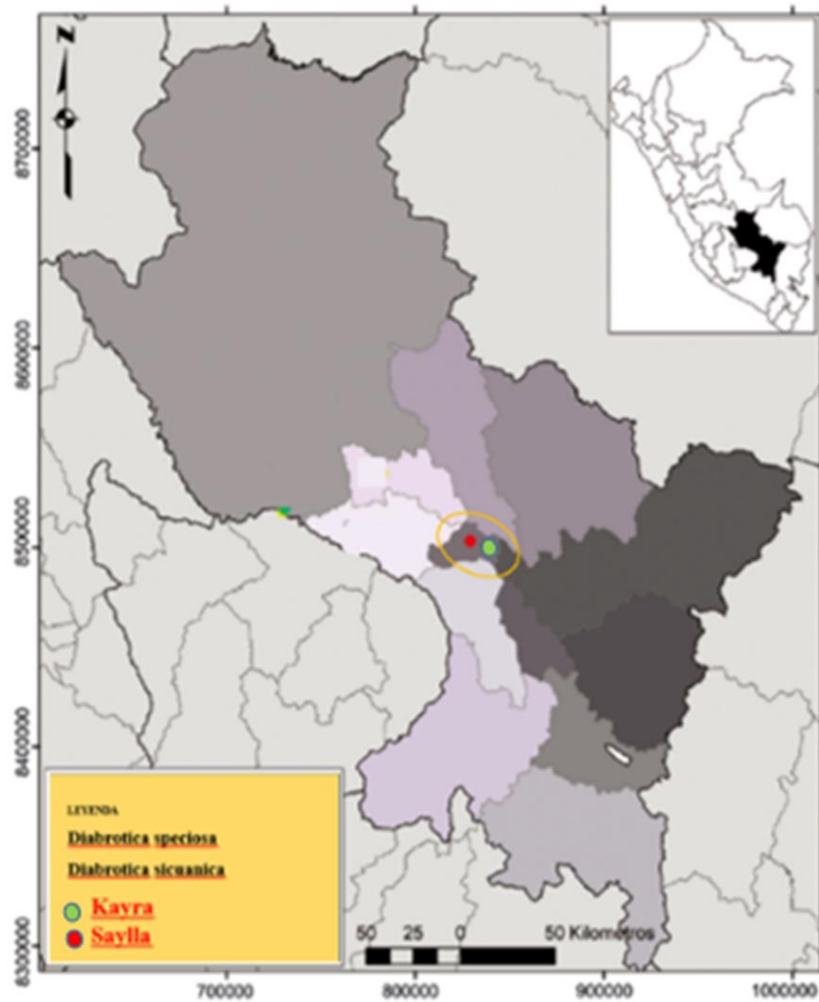


Figura 13. Mapa del Área de Estudio Mostrando las Zonas de K'ayra y Saylla, de la Provincia de Cusco

2.1.1. Lugar de ejecución de la Investigación.

Las determinaciones de las muestras de *Diabrotica* se realizaron en el laboratorio de Entomología de la Escuela Profesional de Agronomía de la UNSAAC y la determinación cariotípica en el laboratorio de Biología Celular ambiente C – 270 de la Escuela Profesional de Biología de la UNSAAC.

2.2 Materiales

Biológico

- Adultos machos y hembras del género *Diabrotica*.

De laboratorio

Equipos

- Microscopio biológico Zeis AXIO-Lab. A1 con aditamentos para microfotografía
- Microscopio estereoscópico Labomed modelo CZM6
- Refrigeradora Elextrolux

Material de Vidrio

- Porta objetos
- Cubre objetos
- Vaso de precipitación Pírex 50 ml
- Pipetas Pasteur
- Frascos para reactivos.
- Caja de tinción Koplring

Reactivos

- Colorante Orceina acética 2%.
- Colorante Giemsa, (Solución madre)
- Metanol absoluto (QP)
- Ácido Acético 50%
- Fijador Carnoy (Metanol, Ácido acético, 3: 1).
- Solución Hipotónica de Cloruro de Potasio (0.075M)

- Solución de Citrato de Sodio 1% para disección.
- Cianuro de Potasio
- Glicerina
- Aceite de inmersión.
- Esmalte de uñas
- Liquido de Faure

Materiales de Entomología

- Mechero de Alcohol.
- Equipo de disección (Pinzas de relojero y estiletes de acero).
- Tijeras
- Papel milimetrado
- Cartulinas
- Baguetas
- Alfileres entomológicos número 1
- Cajas entomológicas
- Etiquetas
- Balanza analítica AND- GR 200

De campo

- Libreta de apuntes.
- Cámara fotográfica digital Sony 5X, 16,2 mega pixeles.
- GPS Etrex Garmin

Instrumentos de colecta

- Red entomológica de 25 cm de diámetro.
- Pinzas metálicas.
- Envases de plástico de ¼ de litro, con acondicionamiento en la tapa para aireación, utilizado para el transporte de ejemplares vivos.

Paquetes estadísticos

- PAST versión 3.29
- STATA VERSION 15
- LEVAN versión 1

Materiales de escritorio

- Computador compatible, con Software instalados.

2.3 Metodología

2.3.1 Tipo de investigación.

Es de tipo descriptivo de corte transversal y observacional, empleando muestras del género *Diabrotica* para determinarlas mediante su genitalia, análisis morfométrico y determinación del número cromosómico del género *Diabrotica*, realizado en las localidades de K´ayra y Saylla de la ciudad del Cusco.

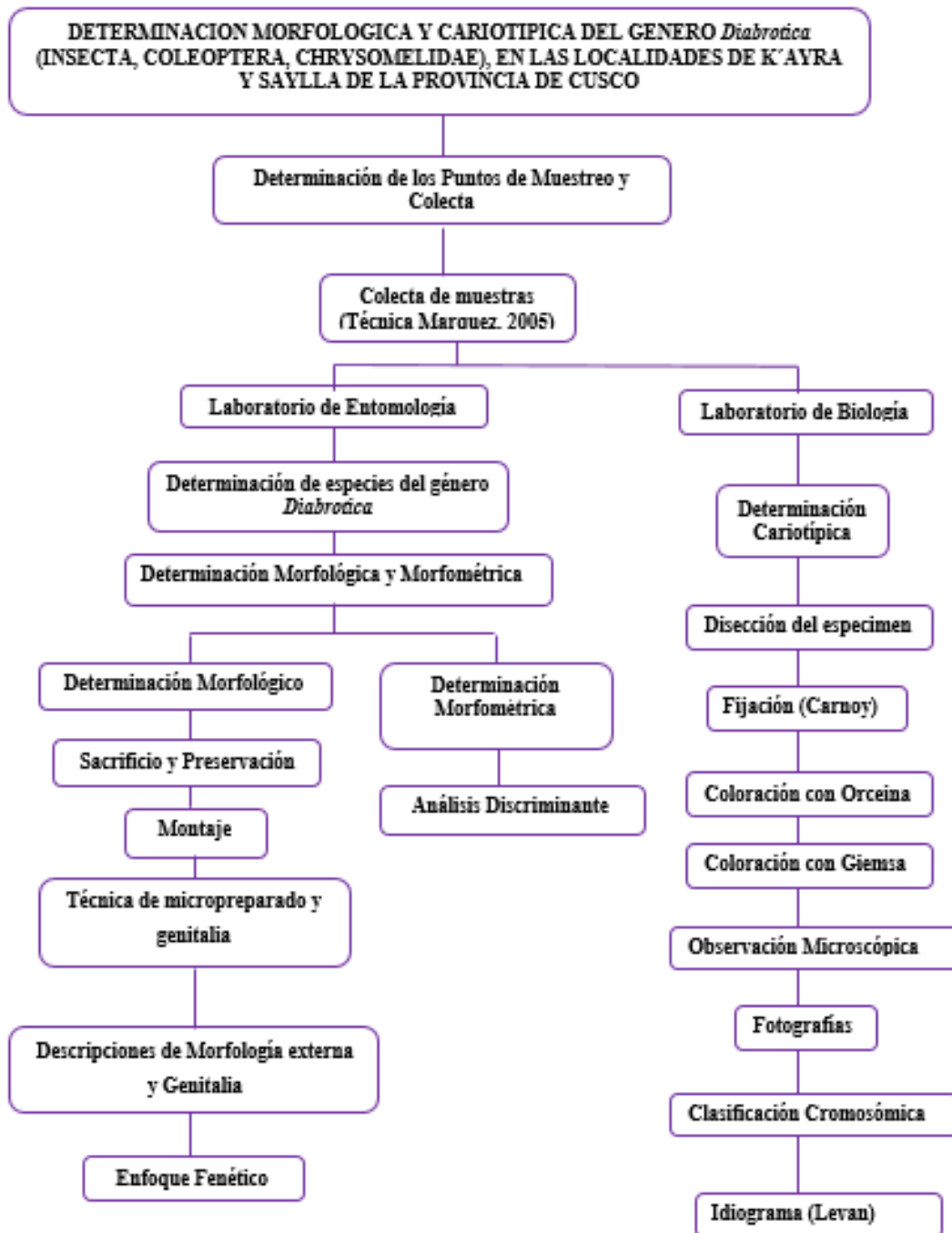


Figura 14. Flujograma de la Investigación

2.4 Puntos de Muestreo

Los puntos de muestreo se eligieron de acuerdo a los siguientes criterios:

- Alta variabilidad de las especies hospederas cultivadas como son solanáceas (papa), gramíneas (maíz), fabáceas (haba y retama) y Chenopodiaceae (quinua)
- Menor uso de pesticidas para el control de plagas
- Accesibilidad

2.5 Colecta

Los ejemplares a estudiar fueron colectados de su entorno natural durante los meses de Febrero a Mayo del 2019.

Los puntos de colecta fueron los siguientes:

- K'ayra
- Saylla

2.5.1 Técnicas de Captura Directa según Márquez (2005) modificada.

Este procedimiento se realizó en las primeras horas del día entre las 08:00 a 10:00 am. de la siguiente manera:

- Se capturaron los ejemplares directamente con la mano y a veces empleando una botella descartable como trampa (esta forma de capturar se utilizó por la agilidad de vuelo).
- Los especímenes capturados vivos fueron colocados y trasvasados a un frasco de colecta con aireación.

- Posteriormente fueron transportados al laboratorio de entomología donde se realizó la separación de especímenes en dos grupos; uno para el estudio entomológico y otro para el estudio citogenético.

2.6 Determinación del Género *Diabrotica*

Los ejemplares fueron determinados según las claves de Derunkov et al. (2015).

2.6.1 Determinación de Especies de *Diabrotica*

Las especies del género *Diabrotica* Chevrolat (Chrysomelidae), se determinaron con ayuda de:

- Descripciones Morfológicas de Krysan & Miller (1986), para *Diabrotica.speciosa*
- Las Descripciones de Morfología reportadas por Bechyne (1958) y descripciones de la genitalia del macho reportadas por Krysan et al. (1984) para el caso de *Diabrotica sicuanica*.

Tabla 5 *Colecta de las Muestras de Diabrotica speciosa*

Lugar	Cultivo	Machos	Hembras	Fecha
K´ayra	<i>Chenopodium quinoa</i> y	45	62	29-Mar-19
	<i>Zea mays</i>			
	<i>Vicia faba</i>	18	22	28-Feb-19
Saylla	<i>Vicia faba</i>	15	22	03- Abril -19
	<i>Spartium junceum</i>	8	11	24 -Mayo-19
Total		86	117	

Nota: K´ayra (Latitud:-13.55694; Longitud:-71.87489); Saylla (Latitud: -13.5648635, Longitud:-71.8386448)

Tabla 6 *Colecta de las muestras de Diabrotica sicuanica*

Lugar	Cultivo	Machos	Hembras	Fecha
	<i>Chenopodium quinoa</i>	32	76	29-Marzo -19
K'ayra	<i>Vicia faba</i>	12	20	28-Febrero-19
	<i>Zea mays</i>	25	42	29- Marzo-19
Saylla	<i>Spartium junceum</i>	3	4	24-Mayo -19
	<i>Solanum tuberosum</i>	8	11	03-Abril-19
Total		80	153	

Nota: K'ayra (Latitud:-13.55694; Longitud:-71.87489); Saylla (Latitud: -13.5648635, Longitud:-71.8386448)

2.7 Morfología y Morfometría de *Diabrotica*

2.7.1 Determinación Morfológica

Según la técnica de Márquez (2005), se realizaron los siguientes pasos

- **Sacrificio y Preservación:** Las especies colectadas fueron sacrificadas con KCN y preservadas en alcohol al 70%.



Figura 15. *Sacrificio de los Insectos (izquierda) y Separación de las Especies (derecha).*

- **Montaje Directo:** Se realizó el montaje de los ejemplares con alfiler entomológico N° 1 en un costado de la parte media del protórax quedando el alfiler de manera vertical y saliendo ventralmente entre el segundo y tercer par de patas, luego se puso en las gradillas y se etiquetó un poco abajo del ejemplar colocando posteriormente en la caja entomológica (Figura 45)

- **Técnica de Micropreparado y Genitalia** según Gurney et al. (1963).

Para el estudio morfológico de las especies del género *Diabrotica*, fue necesario preparar “micropreparados”, de patas, alas, aparato bucal y las genitalias de machos y hembras de la siguiente manera.

- a) Se hizo un corte hacia el cuarto y quinto segmento abdominal del insecto.
- b) Se colocó en un vaso de precipitado de 50ml, con 10 ml de la solución de hidróxido de Potasio al 10%, para su ebullición al mechero, tomando precauciones para que no rebalse el contenido.

- c) Luego se lavó en agua destilada hasta eliminar residuos de la solución de hidróxido de potasio.
- d) Con ayuda de un microscopio estereoscópico y pinzas de relojero, se disectó y limpio cuidadosamente la genitalia del macho y la hembra, eliminando la musculatura y grasa.
- e) Se lavó la genitalia en una solución de ácido acético al 5%
- f) Se coloreó en una gota de fucsina
- g) Se deshidrató en etanol.
- h) El montaje se realizó entre el portaobjetos y cubreobjetos, con una gota de líquido de Faure.
- i) Se selló el cubreobjetos con esmalte de uña transparente.
- j) Se colocó la etiqueta a la lámina con indicaciones y número.
- k) Se conservó el material en una caja de micropreparados.

2.7.1.1 Enfoque Fenético Según Crisci & Lopez (1983)

- **Acumulación de Datos**

Elección de las OTU Las unidades operacionales taxonómicas elegidas son las especies del género *Diabrotica*; OTU 1: *Diabrotica. speciosa* y OTU 2 *Diabrotica. sicuanica*.

Elección de los caracteres Para cada OTU se registraron 8 caracteres multiestado los cuales corresponden a la morfología externa, coloración y características del saco interno en la genitalia del macho y fueron codificados con los números 1 (presencia) y 0 (ausencia) al igual que para los caracteres doble estado excluyentes y para los multiestado se codificó como 0-1-2.

Construcción de la matriz básica de datos (MBD). Esta matriz básica de datos se construyó con los 8 caracteres de cada especie, donde los datos están ordenados en filas que representan las OTU y las columnas que representan los caracteres

Procesamiento de los Datos según Rohlf (1998). Se utilizó las siguientes paquetes estadísticos: PAST versión. 3.29 y STATA versión 15.

La Matriz Básica de Datos representada en este estudio fue de 3 OTU por 8 caracteres y fue analizada por la técnica numérica tipo Q y la técnica ACP. El procesamiento de los datos se realizó mediante las técnicas de análisis de matrices de similitud que permiten el reconocimiento de las relaciones entre la totalidad de las OTU

2.7.2 Determinación Morfométrica

Según las recomendaciones de Cabrera (2001), se deben tomar en cuenta las siguientes variables morfométricas: Longitud del Protórax, Largo Elitral, Longitud Total, Ancho del Protórax, Ancho Humeral y Ancho Máximo.

2.7.2.1 Análisis Discriminante (AD).

Se analizó la existencia de diferencias significativas entre las dos especies de *Diabrotica*, a través de sus características morfométricas, para ello se utilizó el paquete estadístico Stata versión 15.

2.8 Determinación Cariotípica

Según el Método de Castillo et al. (2011) y Molero (2009) modificado para esta investigación.

Con Orceína Acética al 2%

- Luego de la colecta, los especímenes fueron colocados a 0°C por 24 horas
- Se procedió a cortar entre el tórax y abdomen, separando el abdomen.

- Se colocó el abdomen sobre una lámina escavada para su disección. agregando unas gotas de solución hipotónica de KCl.
- Se colocó la lámina con la muestra al microscopio estereoscopio.
- Se procedió a aislar y limpiar el estómago y ciegos intestinales, y se dejó 10 a 20 minutos en la solución hipotónica.
- Se retiraron los estómagos y ciegos intestinales con ayuda de un bisturí y pinza de relojero
- Luego se fragmentaron los tejidos sobre una gota de solución hipotónica, evitando deshidratación.
- Se colocó en una lámina con unas gotas de Carnoy y se dejó que actué por 3 a 5 minutos.
- Se colocó una gota de **orceína acética** al 2%
- Se cubrió con cubreobjetos y sobre un papel secante se realizó squach.
- Se observó al microscopio de inmersión y se fotografió.

Con colorante de Giemsa

- Para colorear con Giemsa, luego de fragmentar el tejido con estilete y pinza se dispersó sobre el portaobjeto
- Se sumergió la lámina en una caja Koplring con solución Giemsa al 5% (2 gotas de solución madre, 8 gotas de solución tampón) por 10 a 30 minutos
- Se lavó con agua.
- Se secó en estufa o mechero.
- Se rotuló la lámina y se observó en inmersión

2.8.1 Clasificación Cromosómica según Levan et al. (1964)

La determinación cariotípica se efectuó a partir de placas metafásicas fotografiadas digitalmente, las mismas que fueron impresas en papel fotográfico liso de alta resolución, de las cuales se recortaron.

- Se tomaron medidas de cada cromosoma usando papel milimetrado anotándose en una hoja de cálculo en una tabla de la plataforma Excel.
- Los cromosomas se ordenaron en base al tamaño relativo y la morfología siguiendo criterios internacionales de citogenética, y se pegaron en una cartulina en forma descendente, del más grande al pequeño, se verificó simultáneamente el número fundamental (NF), como el número de brazos principales para todos los autosomas, excluyendo los cromosomas sexuales. Los cromosomas sexuales presentan características únicas respecto a los autosómicos.
- Con las medidas de cada brazo de cada cromosoma se calculó los valores del Índice centromérico ($IC = \text{brazo corto} \times 100 / \text{longitud total del cromosoma}$) y la relación de brazos o Índice de brazos ($r = \text{brazo largo} / \text{brazo corto}$) y a partir de esta última medida se calculó $1/r$, así mismo se expresó la longitud relativa de todos los cromosomas en proporciones porcentuales.
- De acuerdo a los índices calculados se definió la morfología de cada cromosoma, utilizando la escala de Levan et al. (1964), que clasifica 4 tipos de cromosomas: Metacéntrico (M), Submetacéntrico (SM), Acrocéntrico (A) y Telocéntrico (T), en función a la posición del centrómero.
- Con estos datos se obtuvo el idiograma a escala y el cariograma, usando LEVAN y, para dibujar cada cromosoma a escala real.

CAPÍTULO III

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESULTADOS

Se examinaron 436 individuos del género *Diabrotica* y se determinaron las siguientes especies.

Tabla 7 *Especies de Diabrotica Determinadas en las Localidades de K'ayra y Saylla*

Especies	Localidad	Machos	Hembras
<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>K'ayra</i>	63	84
	<i>Saylla</i>	23	33
<i>Diabrotica sicuanica</i>	<i>K'ayra</i>	69	138
	<i>Saylla</i>	11	15
Total		166	270

3.1.1 Determinación Morfológica de *Diabrotica*

3.1.1.1 Descripción morfológica de *Diabrotica speciosa* Germar (1824)

Insectos pequeños, la longitud del cuerpo de los machos mide un promedio de 4.84 milímetros de longitud y de la hembra 5.12 milímetros, el ancho en general varía entre 2.5-3.2 mm, coloración general del cuerpo verde oscuro brillante, cabeza marrón amarillenta, en vista dorsal con la frente algo comprimida; vertex ligeramente convexo, sutura coronal notoria, focetas antenales poco profundas antenas alargadas, filiformes conformada por 11 artejos antenales, antenitas de longitudes variadas, antenitos II y III, más cortos que el I, coloración monocroma de las antenas, marrón claro, todos los antenitos presentan una fina pubescencia de diminutas setas blanquecinas.

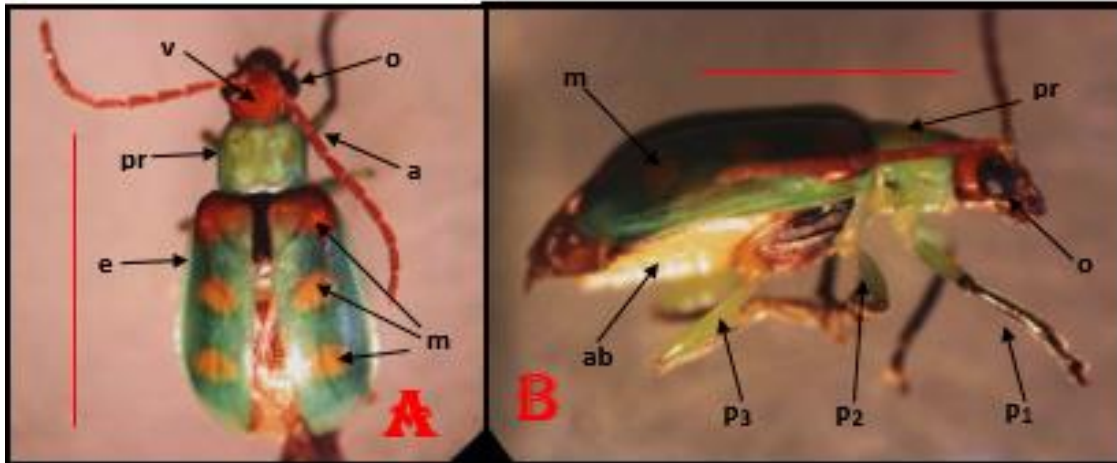


Figura 16. *Morfología Externa de Diabrotica speciosa, German 1824 (Coleóptera, Chrysomelidae).*

Nota. A: Vista dorsal, B: Vista lateral; o: ojo, a: antena, m: máculas, e: élitro, pr: protórax, v: vertex, ab: abdomen, p1: primer par de patas, p2: segundo par de patas, p3: tercer par de patas. Escala en milímetros A: 4.2, B: 3.7 Aumento A: 30X, B: 50X

Ojos convexos de desarrollo dorsolaterales, de color negro brillante, de bordes sub elípticos, labro sub rectangular con los bordes laterales ligeramente divergentes, y el vertex apical ligeramente escotado con 3 setas largas a cada lado.

Labio con palpo labial trisegmentado el II segmento más robusto y alargado; con lígula corta, base amplia con bordes laterales divergentes.

Mandíbulas prominentes robustas, fuertemente esclerosadas, con 5 dientes (3 apicales grandes de punta aguda sub cónicos y divergentes y 2 pequeños) cóndilos prominentes fuertemente convexo.

Maxilas con el cardo subcónico alargado notoriamente dilatado en la base, estipes claramente divididos, lacinia amplia de extremo apical ligeramente dilatado en su extremo superior con numerosas setas alargadas y erectas, gálea bisegmentada con el artejo apical subcónico de margen apical ancho con numerosas setas largas y erectas. Palpo maxilar alargado tetra segmentado palpómero apical subcónico.

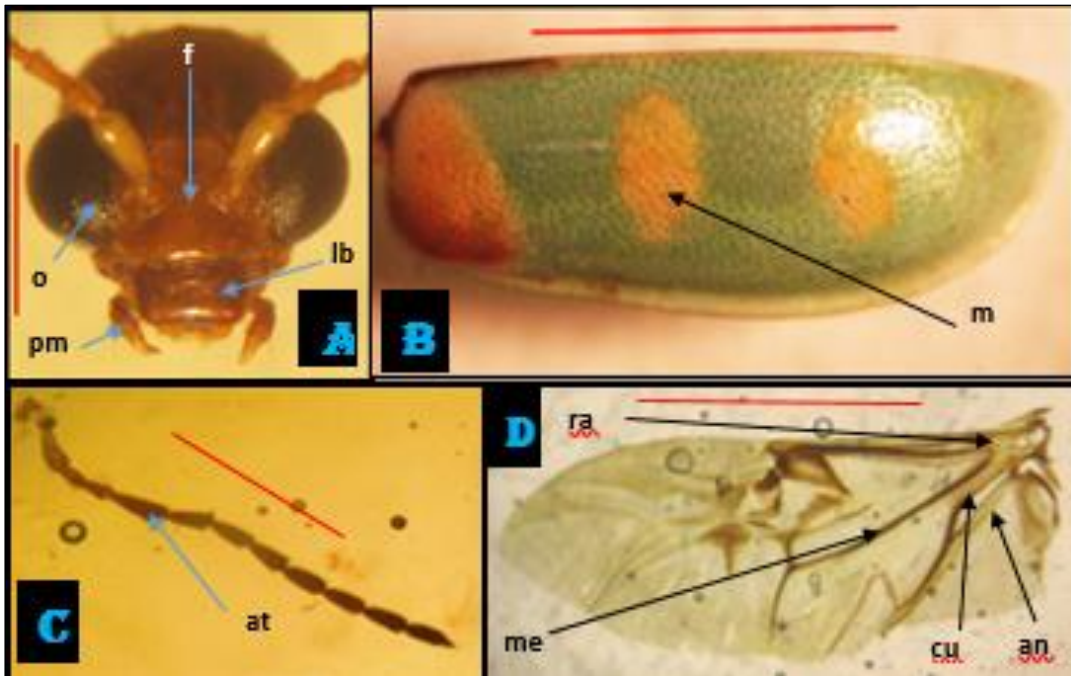


Figura 17. *Partes Principales de Diabrotica speciosa German 1824.*

Nota. A) Cabeza, B) Élitro, C) Antena, D) Ala; o: ojo, at: antenómeros, m: máculas, pm: palpo maxilar, lb: labro, f: frente, ra: vena radial, me: vena medial, cu: vena cubital, an: vena anal. Escala en milímetros A: 0.6, B: 2.4, C:3.0, D:2.8 Aumentos A y B: 50X, C y D: 30X

Pronoto subrectangular de color verde oscuro con márgenes laterales paralelos, márgenes cefálico y caudal rectos de superficie lisa y brillantes sin ornamentaciones aparentes, escutelo sub triangular. Élitros de color general verde oscuro con los húmeros lisos, márgenes elitrales ligeramente divergentes y escotados, presenta 3 pares de máculas amarillas notorias que contrastan con el verde oscuro.

Las máculas basales más amplias se combinan con una estrecha región marginal de color rojiza al borde del margen basal en forma característica superficie del élitro finamente esculpido por pequeñas punturas elitrales.

Alas típicas con la vena RA bifurcada en su extremo basal se proyecta hasta conectarse con la celda radial cubierta de una macula oscura, vena medial posterior MP 1-2

interceptada con radial posterior MP – MP2, por encima se coloca dos máculas esfumadas, AA bifurcada se inserta a la Cu A (Cubital Anal) 3-4.

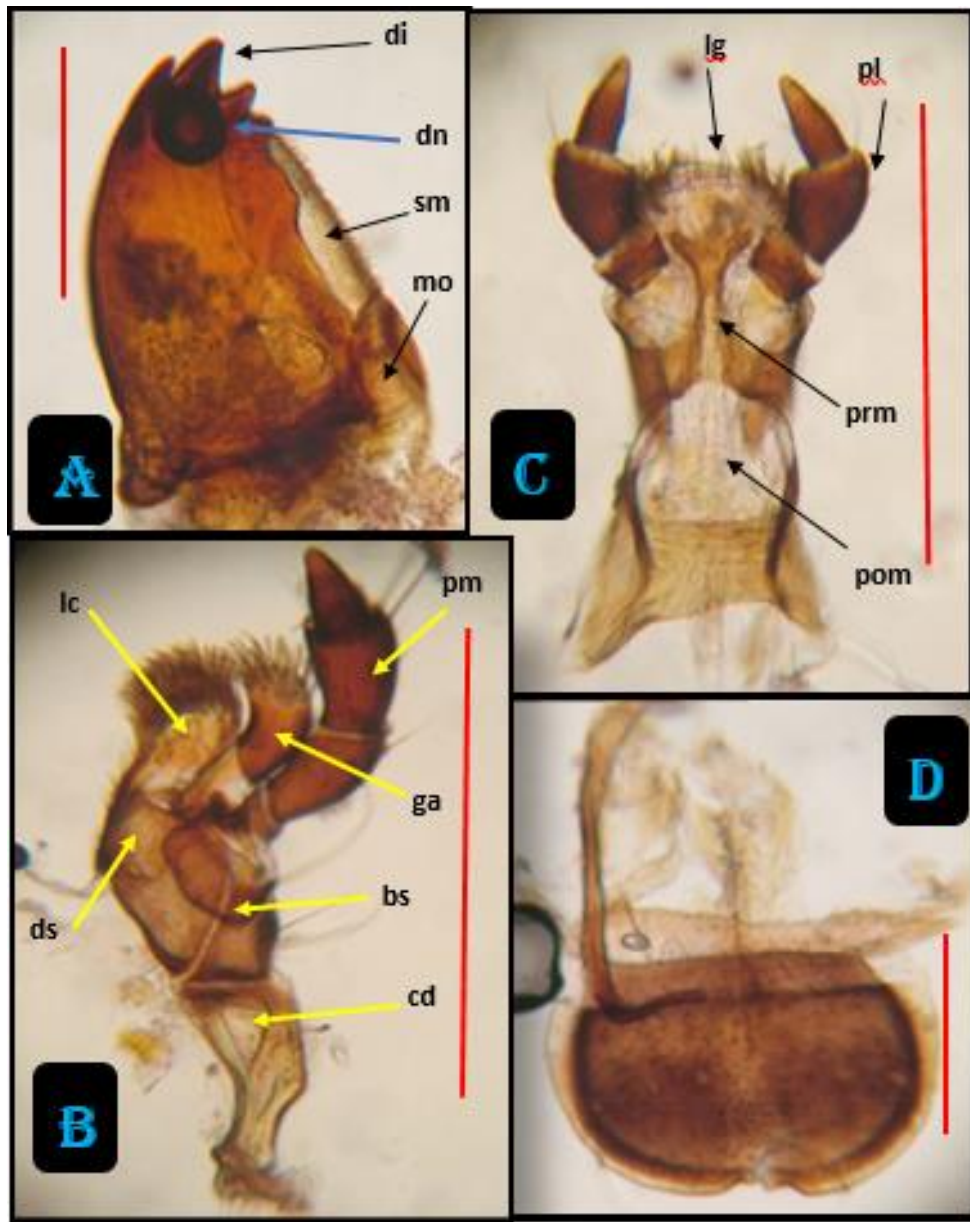


Figura 18. Piezas Maxilares de *Diabrotica speciosa* German 1824. (Coleoptera, Chrysomelidae).

Nota. A: Mandíbula, B: Maxila, C: Labium, D: Labro, di: diente, dn: dentículo, sm: membrana setosa, mo: mola, lc: lacinea, pm: palpo maxilar, ga: galea, ds: dististipes, bs: basistipes, cd: cardo, prm: prementon, pl: palpo labial, lg: lígula, pom: postmenton. Escalas en milímetros A: 0.3, B: 0.4, C:0.4. D: 0.3 Aumentos A, B, C y D: 100X

Patatas delgadas fémures alargados de color verde amarillento, tibias y tarsómeros de color marrón oscuro, recubierto de finas microsetas en su superficie.

Abdomen de color amarillo (ventralmente), con 5 terguitos notorios, genitalia del macho: edeagus en vista lateral recurvado con el ápice del lóbulo mediano pseudo articulado, márgenes laterales simétricos dilatados en un extremo agudo, porción basal prominente, membranosa algo traslucida y la apical más esclerosada; internamente presenta dos apéndices muy esclerosado en forma de dientes alargados.

La longitud del edeagus puede sobrepasar de milímetro de longitud, en vista lateral el lóbulo mediano, terminado en un ápice amplio, ostium alargado, lóbulos triangulares amplios, saco interno con 3 escleritos, 2 en forma de espinas agudas, uno espatulado alargado con una proyección media amplia, de bordes dentados.

Genitalia de la hembra con espermateca esclerosada en forma de "C", receptáculo alargado formando con el extremo un ángulo recto de 90°, el extremo termina en una punta aguda con un fino apéndice alargado, se comunica con la bursa copulatrix por medio de un fino conducto relativamente cortos (ducto espermatecal), palpo vaginal alargado de extremo apical divergente espatulado y esclerosado con numerosas setas alargadas, extremos basal más amplio formando un apodema de márgenes divergentes, tignum alargado y delgado de ápices espatulados mide más de 1mm de longitud.

La bursa copulatrix, en esta especie se muestra subglobosa, membranosa con típicas estriaciones concéntricas que comunican con el conducto espermatecal, en su superficie rugosa finos dentículos esclerosados se dispersan aleatoriamente.

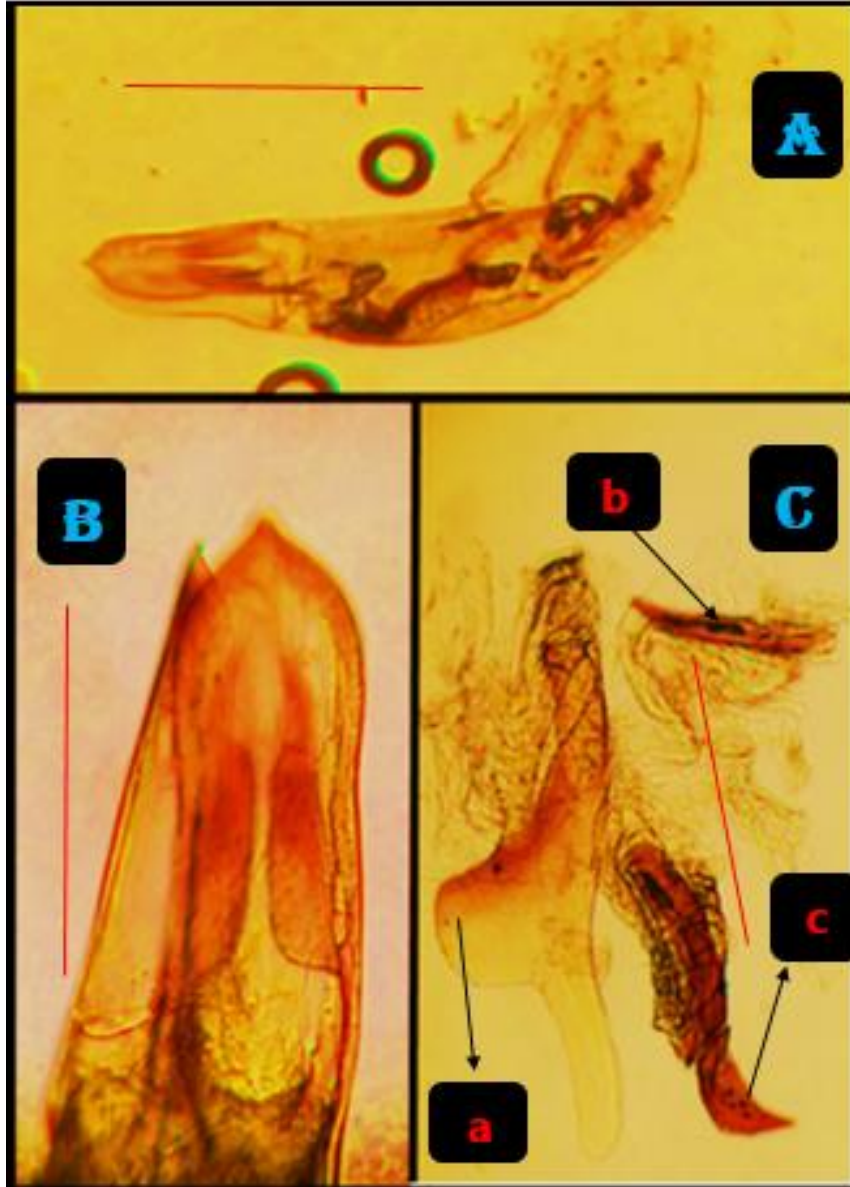


Figura 19. *Genitalia del Macho de Diabrotica speciosa . German 1824. (Coleóptera, Chrysomelidae).*

Nota. A: Edeagus, B: Lóbulo medio, C: Saco interno con 3 escleritos, a: Esclerito laminar de borde dentado, b y c: Escleritos espinosos. Escala en milímetros A: 0.2, B:0.1, C: 0.07 Aumentos A: 200X, B: 400X y C: 500X

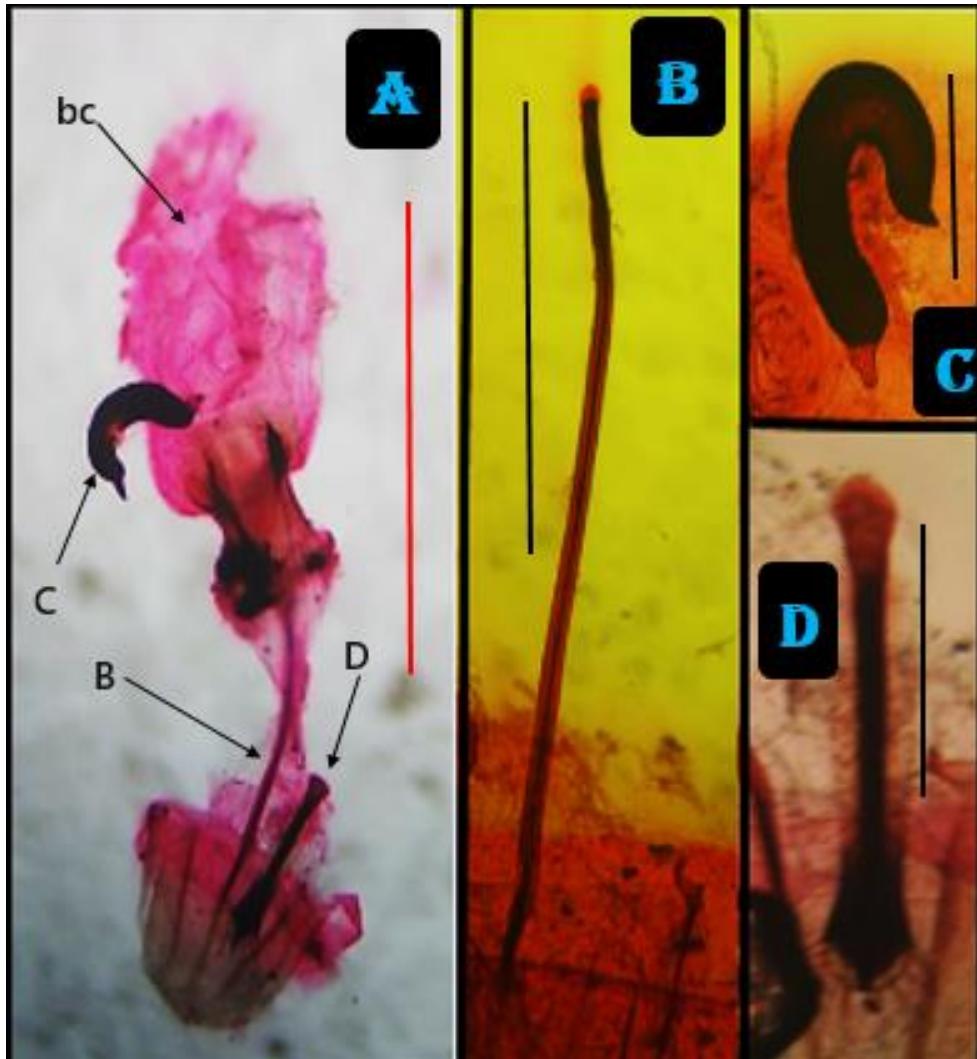


Figura 20. Genitalia de la Hembra de *Diabrotica speciosa*. German 1824. (Coleóptera, Chrysomelidae).

Nota. A: Genitalia de la hembra, B: Tignum, C: Espermateca, D: Palpo vaginal, bc: bursa copulatrix. Escala en milímetros A: 0.3, B: 0.2, C 0.03, D: 0.2 Aumentos A: 50X, B,C y D: 200X

3.1.1.2 Descripción morfológica de *Diabrotica sicuanica* Bechyne, 1958

Longitud total 5.8 a 7.4 mm, ancho máximo 2.7 a 3.1 mm, cabeza pequeña en relación al protórax de color negro brillante, vertex liso escasamente punteado, callos antenales subcirculares, genas estrechas, labrum con finas setas blancas, erectas; los ojos compuestos de posición dorsolateral, convexos, sin ocelos. Antenas insertadas muy cerca de los ojos, extendiéndose hasta el tercio superior de los élitros, no llega a la mitad de estos, las antenas conformadas por 11 artejos o antenómeros, los antenómeros 2 y 3 más cortos que el primero, finalmente los antenómeros 4 al 11 de longitud proporcional, coloración de las antenas negro brillantes recubiertas por una fina pubescencia de microsetas blancas.

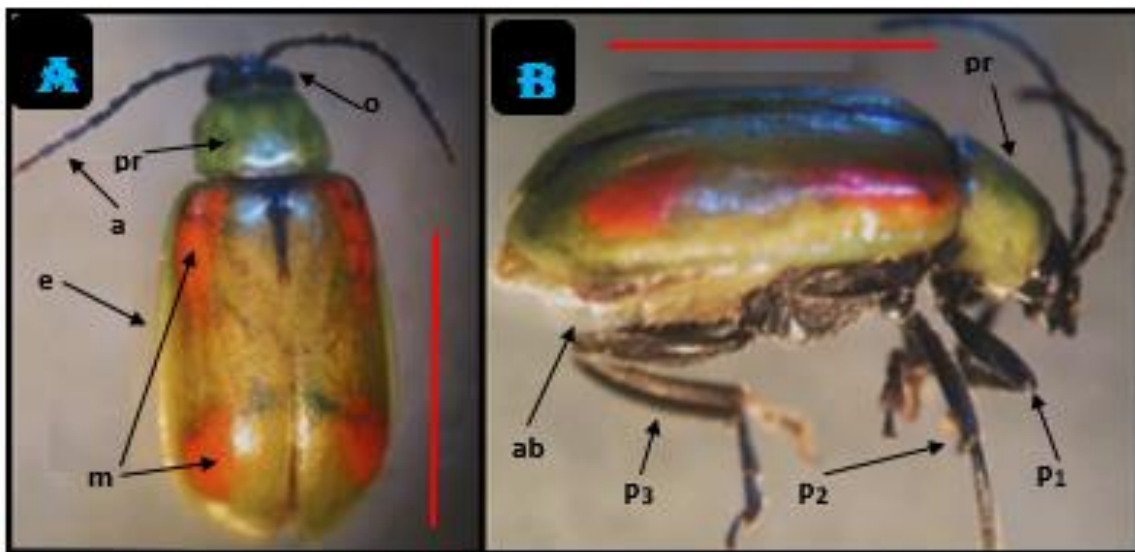


Figura 21. *Morfología Externa de Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958 (*Coleóptera*, *Chrysomelidae*)

Nota. A: Vista dorsal, B: Vista lateral; o: ojo, a: antena, m: maculas, e: élitro, pr: protórax, ab: abdomen, p1: primer par de patas, p2: segundo par de patas, p3: tercer par de patas. Escala en milímetros A: 3.4, B: 3.4 Aumentos A: 50X, B: 100X

Clípeo liso sin microsetas, labrum subrectangular con numerosas setas erectas, mandíbulas fuertemente esclerosadas, simétricas, piramidales, conformadas por 5 dientes

apicalmente solo son visibles los dientes 3 a 5, en la cara exterior de la mandíbula, el cuarto diente más agudo y prominente, mola más larga que ancha. Maxilas esclerosadas alargadas con el cardo estrecho, largo, basistipes con cerdas alargadas, gálea y lacinia espatulados con pilosidad apical desarrollada.

Palpos maxilares desarrollados, alargados, tetrasegmentado, palpómero II subcónico, palpómero III, pequeño, dilatado. Labium con palpos divergentes, trisegmentado, lígula pubescente, prementon y postmenton contiguos.

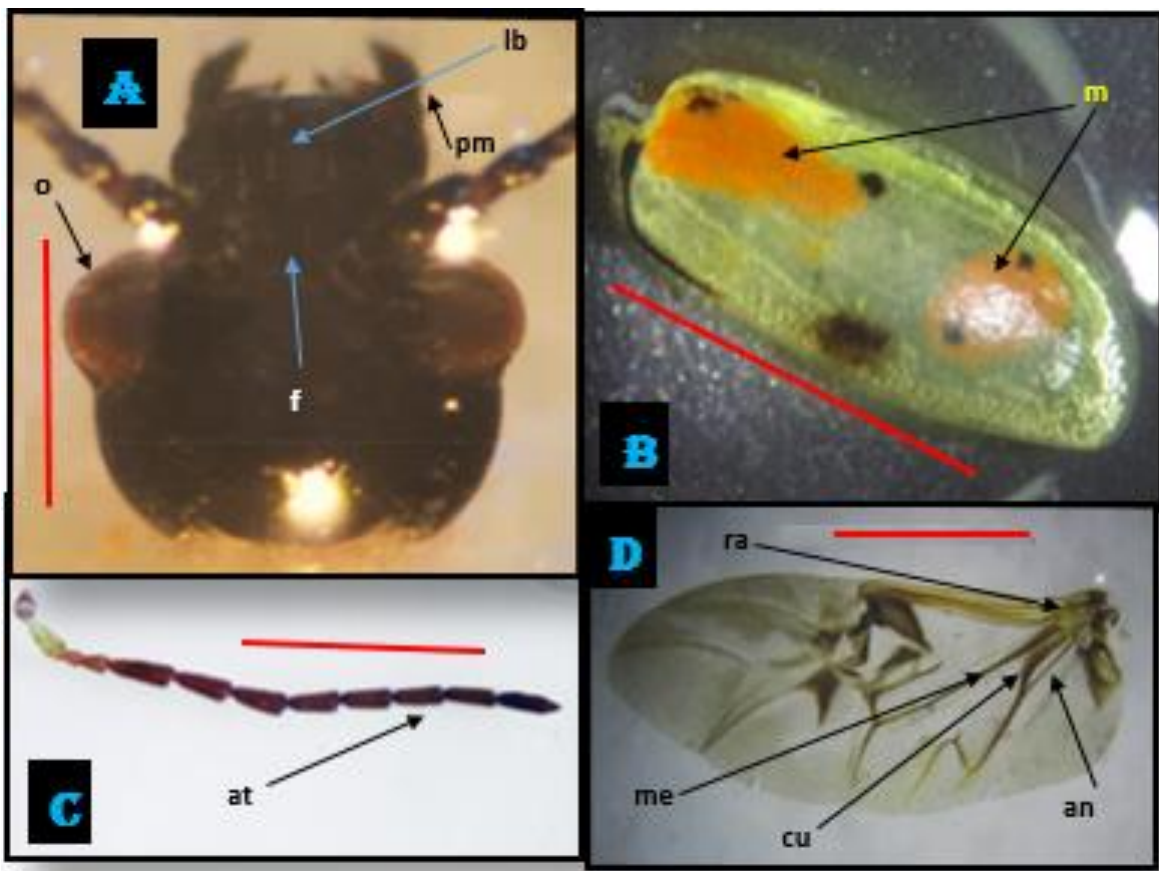


Figura 22.Partes Principales *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958.

Nota. A: Cabeza, B: Élitro, C: Antena, D: Ala, o: ojo, at: anténomeros, m: máculas, pm: palpo maxilar, lb: labro, f: frente, ra: vena radial, me: vena medial, cu, vena cubital, an: vena anal. Escala en milímetros A: 0.4, B:3.8, C: 4.0, D:3.5 Aumentos A: 100X, B: 50X, C: 50X y D: 50X

Tórax con el pronoto ligeramente convexo, verde brillante subrectangular de superficie lisa con máculas esfumadas, más ancho que largo, con márgenes laterales casi rectos, márgenes post laterales, ligeramente expandidos hacia sus bordes. Escutelum subtriangular negro, los élitros de superficie finamente punteada, sin tubérculos humerales notorios, el disco de color verde limón, algunos ejemplares con finas estrías longitudinales, muy variable en su patrón de coloración, se resalta la presencia de dos espectros de color anaranjado contrastando con el verde del disco, el primer espectro se distribuye en el borde humeral y basal y el segundo más difuso que el primero en la región media, así mismo se puede encontrar puntos negros característicos en los espectros naranja y fuera de ellos en número variable de 0 a 5 por élitro y no son constantes ya que algunos ejemplares carecen completamente de puntos negros, o solo presentar 1, 2 o 3 puntos indistintamente o los 5 característicos por élitro o carecer de estos puntos.

Patas anteriores, medias y posteriores, completamente negras, recubiertas con una fina pubescencia blanca de microsetas, cada pata termina en dos uñas de color rojo poco notorio, el color oscuro negro se comparte con las zonas pleurales, mientras que el abdomen ventralmente es de color amarillento claro.

La genitalia del macho se caracteriza por presentar el edeagus muy esclerosado en vista lateral con el lóbulo mediano recurvado y dilatado gradualmente en el ápice el cual se ve bifurcado en dos láminas que se dilatan agudamente, ostium acanalado por los lóbulos triangulares, el saco interno evaginado presenta cuatro escleritos característicos, 3 espiniformes y uno en forma de placa dentada, el foramen basal prominente recurvado.

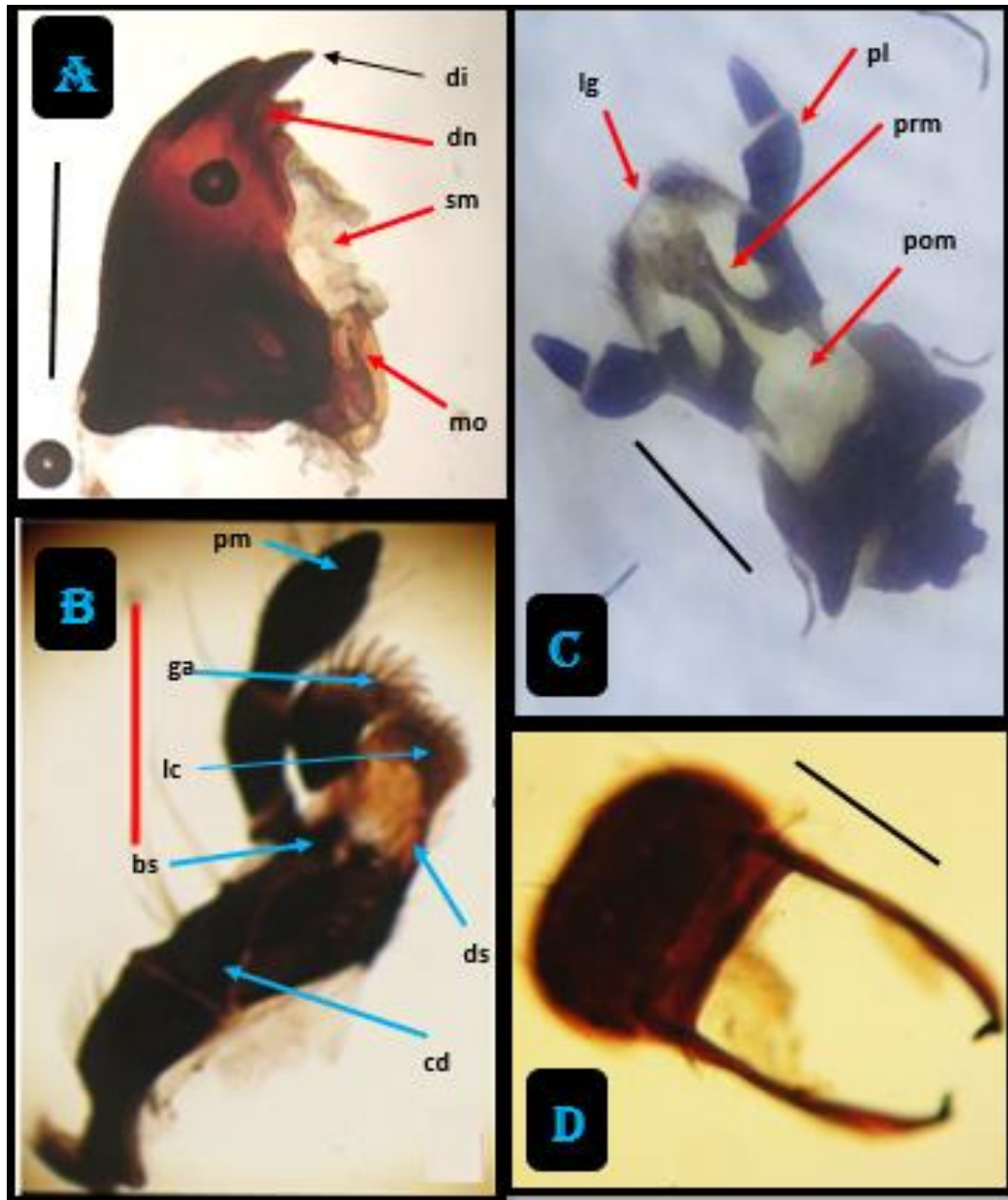


Figura 23. Piezas Maxilares de *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae)

Nota. A: Mandíbula, B: Maxila, C: Labium, D: Labro, di: diente, dn: dentículo, sm: membrana setosa, mo: mola, lc: lacinea, pm: palpo maxilar, ga: galea, ds: dististipes, bs: basistipes, cd: cardo, prm: prementon, pl: palpo labial, lg: lígula, pom: postmenton, Escala en milímetros A: 0.2, B: 0.2, C: 0.2, D: 0.2 Aumentos A, B, C, y D: 200X

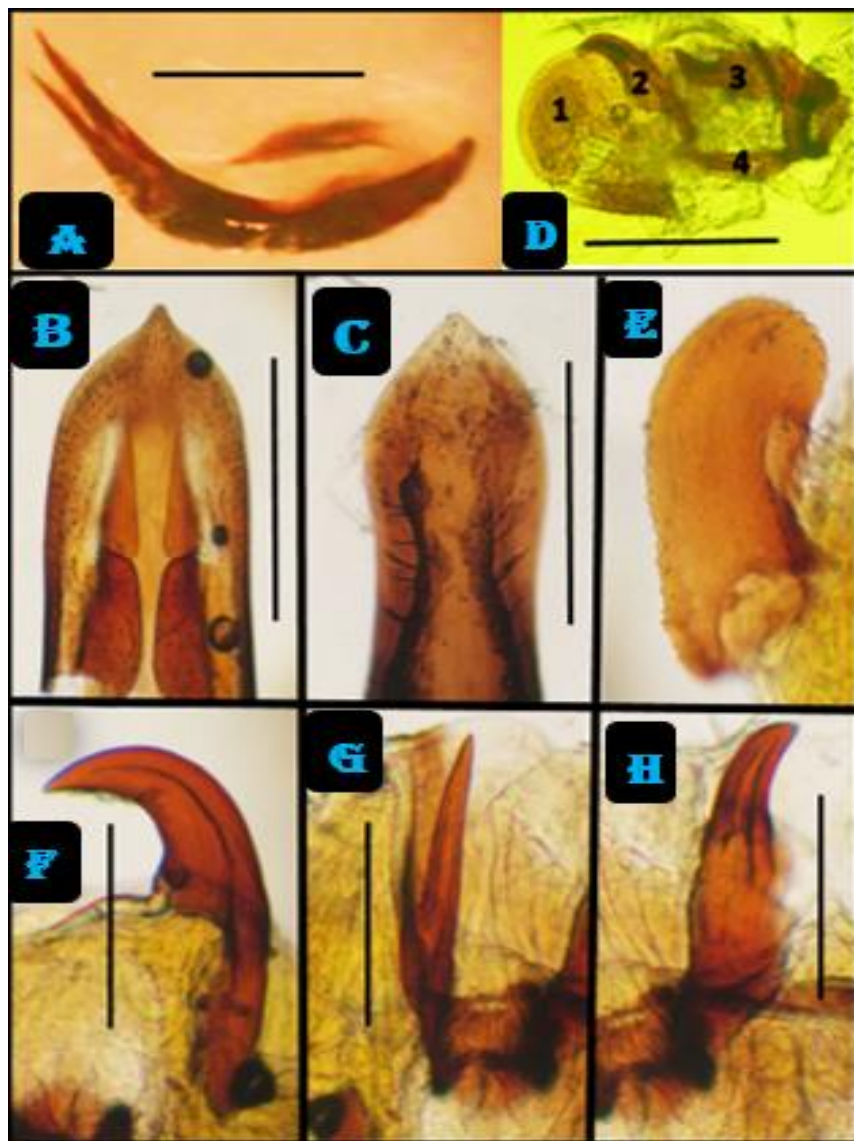


Figura 24. *Genitalia del Macho de Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae)

Nota. A: Edeagus, B y C: Lóbulo medio, D: Saco interno, E: Esclerito laminar dentado, F, G, H: Escleritos espinosos. Escala en milímetros A: 0.2, B y C: 0.1, E, F, G, H: 0.05. Aumentos A: 100X, B:400X, C:400X, D:400X, E:500X, F:500X, G:500X y H:500X

Genitalia en la hembra conformado por un tignum finamente alargado terminado en un apodema notoriamente espatulado, palpo vaginal esclerosado, con ápice terminal con

numerosas setas erectas, región vaginal esclerosada conectada a la bursa copulatrix membranosa, alargada y prominente, a ella se une la espermateca esclerosada de receptáculo cilíndrico, conectado a la bomba que termina en un pequeño apéndice, conducto espermático corto, une la espermateca a la bursa copulatrix en su parte media.

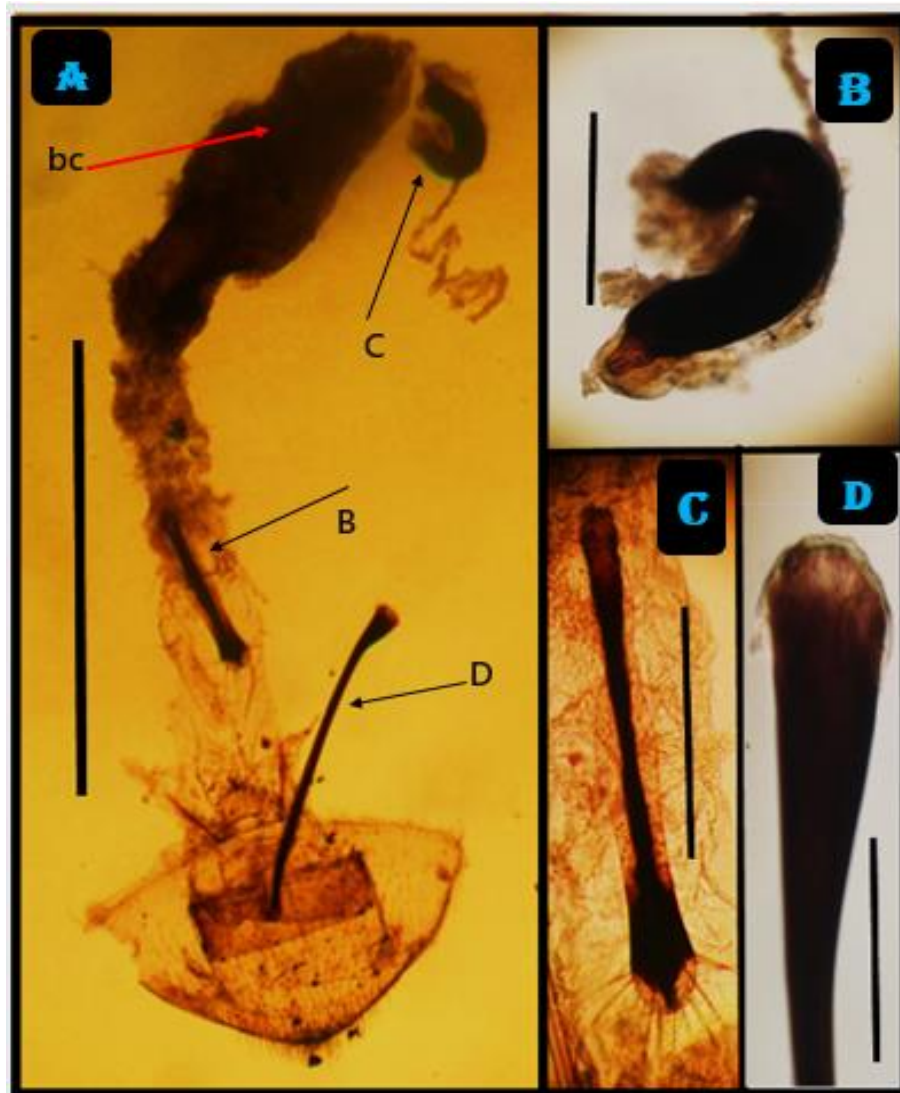


Figura 25. Genitalia de la Hembra de *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae)

Nota. A: Aparato reproductor de la hembra, B: Espermateca, C: Palpus vaginal, D: Extremo del Tixnum espatulado y amplio, bc: Bursa copulatrix. Escala en milímetros A: 0.05, B: 0.03, C: 0.1, D: 0.03 Aumentos A:200X, B:400X, C:400X y D:400X

3.1.1.3 Análisis Fenético.

Para el análisis fenético de las dos especies de “loritos”, *D. speciosa* y *D. sicuanica* del presente estudio, fue indispensable incluir una especie más, con fines de contraste, ya que no se puede operar con solo dos unidades taxonómicas (OTUs), por tal motivo se incluyó los datos morfológicos de una especie neotropical que es *Diabrotica rufolimbata* Baly 1879, de la Argentina por ser la especie más conspicua y conocida, cuya descripción nos proporciona el trabajo de (Cabrera, 2001).

Tabla 8. *Caracteres Utilizados en el Análisis Fenético*

Número	Descriptor	Estado de Caracteres	Codificación
1	Tamaño de ojos	Grandes	(2)
		Pequeños	(1)
2	Color de ojos	Marrón	(1)
		Negros	(2)
3	Coloración de la cabeza	Marrón Amarillas	(1)
		Castaña Amarillas	(2)
		Negra	(3)
4	Color de antenas	Verde	(1)
		Marrón	(2)
		Negro	(3)
5	Color élitros	Con máculas amarillas	(1)
		Con máculas anaranjadas	(2)
		Con banda roja	(3)
6	Coloración de patas	Monocroma	(1)
		Bicroma	(2)
7	Saco interno	Con 3 escleritos	(1)
		Con 4 escleritos	(2)
		Con 5 escleritos	(3)
8	Bursa copulatrix	Sub Globosa	(1)
		Alargada	(2)

En la tabla 8 observamos los caracteres utilizados, los cuales corresponden a datos morfológicos y estos son codificados otorgándoles a cada uno un valor numérico

Tabla 9. *Matriz Básica de Datos OTUS/ CARACTERES*

<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>Diabrotica sicuanica</i>	<i>Diabrotica rufolimbata</i>
2	1	1
1	2	1
1	3	2
2	3	1
1	2	1
2	1	2
1	2	3
2	1	1

En la tabla 9 se observa una matriz básica de datos (MBD) de 3 x 8, es decir 3 OTUs y 8 caracteres cualitativos multiestado, tomados de la morfología externa y de la genitalia de cada especie, particularmente del saco interno de los genitales del macho.

Tabla 10. *Matriz de Similitud, Distancias Taxonómicas OTUS X OTUS*

OTUS X OTUS	<i>D. speciosa</i>	<i>D. sicuanica</i>	<i>D. rufolimbata</i>
<i>D. speciosa</i>	0		
<i>D. sicuanica</i>	3.6056	0	
<i>D. rufolimbata</i>	3.6056	3.1623	0

En la tabla 10 se muestra las diferencias cuantitativas entre las tres especies, expresados en distancias euclidianas, estos datos que fueron sometidos a un coeficiente de similitud.

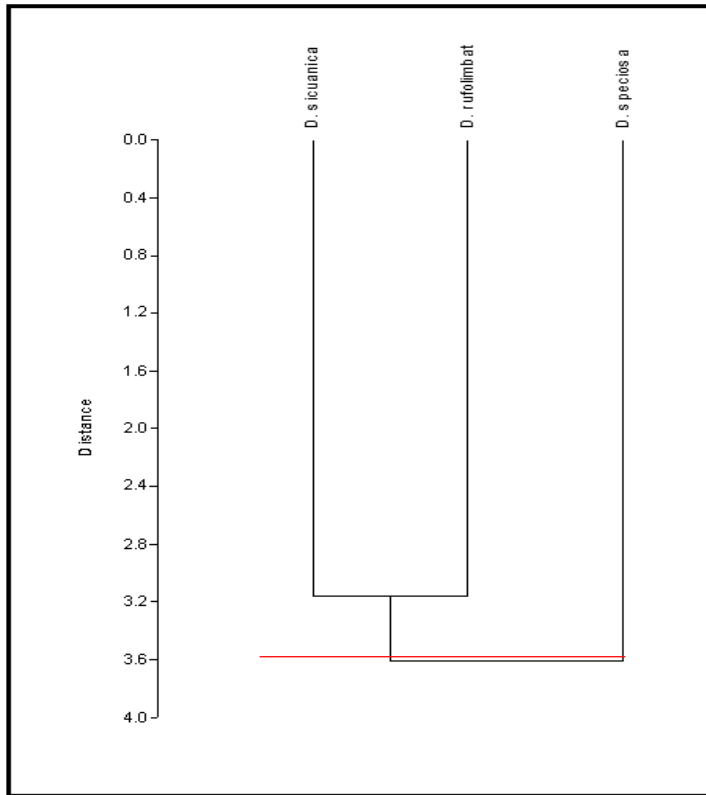


Figura 26. Fenograma de Similitud Morfológica en las Especies del Género *Diabrotica* de la Provincia de Cusco

En la figura 26 observamos las distancias euclidianas en la que se incluyen en una matriz de similitud, distancia taxonómica, la misma que es mostrada y permite generar un fenograma que nos indica claramente que las 3 especies son totalmente distintas y ninguna están interrelacionadas, las 3 especies tienen diferencias muy notorias y son excluyentes por sus características morfológicas y por la organización de sus genitales que denotan una clara identidad y aislamiento reproductivo.

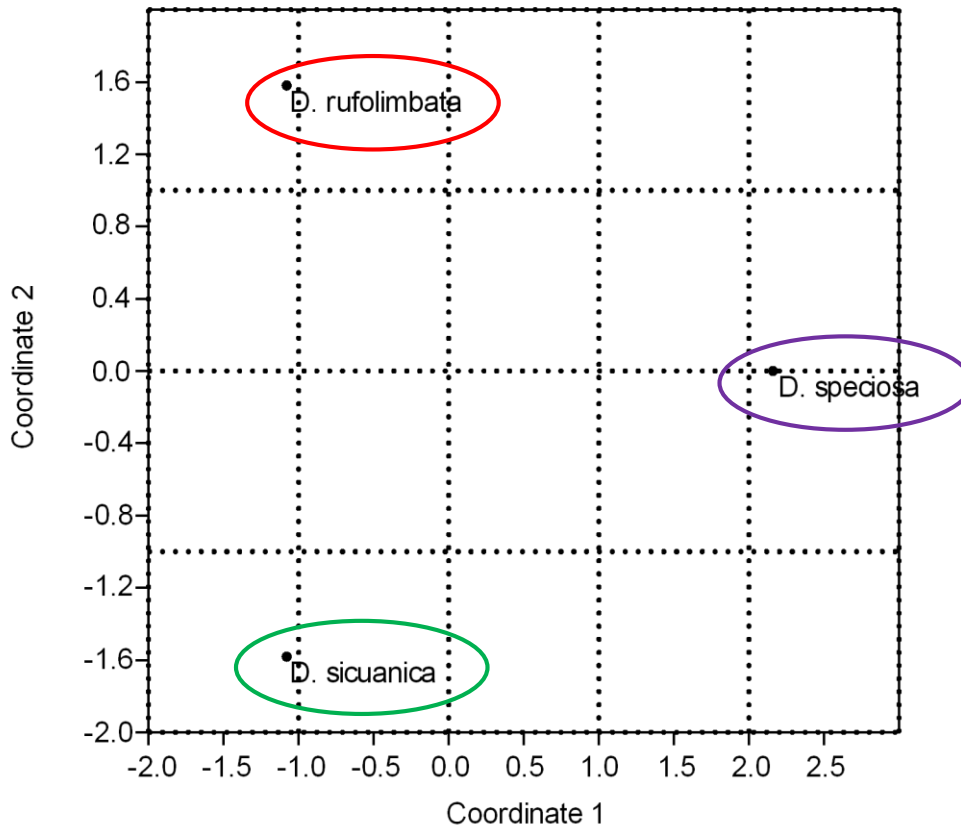


Figura 27. *Análisis de Componentes Principales (ACP)*

La figura 27 resulta de someter la matriz de similitud a un análisis de componentes principales (ACP), y proyectar cada OTU en un espacio multidimensional en donde se aprecia una proyección de 3 puntos en posiciones divergentes lo cual es concordante con el fenograma obtenido.

Las dos especies del género *Diabrotica* que están presentes en las localidades de estudio son completamente alomórficas, es decir plenamente diferentes por su aspecto y comportamiento, pese a que su distribución se solapa geográficamente y se muestran como especies simpátricas.

3.1.2 Determinación Morfométrica

Se tomaron las medidas de adultos hembras y machos de las dos especies anteriormente determinados, las cuales se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 11. *Morfometría de Diabrotica speciosa Germar 1824, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 machos*

Número	Parámetro	\bar{X}	DS
1	Largo Protórax	1.04	± 0.05
2	Largo Elitral	3.60	± 0.12
3	Largo total	4.64	± 0.11
4	Ancho Protórax	1.08	± 0.04
5	Ancho Humeral	1.02	± 0.04
6	Ancho Máximo	1.16	± 0.05

Nota. \bar{X} = promedio (en milímetros), DS = Desviación Estándar.

Tabla 12. *Morfometría de Diabrotica speciosa Germar 1824, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 hembras*

Número	Parámetro	\bar{X}	DS
1	Largo Protórax	1.08	± 0.06
2	Largo Elitral	3.88	± 0.31
3	Largo total	4.97	± 0.30
4	Ancho Protórax	1.30	± 0.07
5	Ancho Humeral	1.11	± 0.02
6	Ancho Máximo	1.24	± 0.05

Nota. \bar{X} = promedio (en milímetros), DS = Desviación Estándar.

Tabla 13. *Morfometría de Diabrotica sicuanica, Bechyné, 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 machos*

Número	Parámetro	\bar{X}	DS
1	Largo Protórax	1.18	±0.28
2	Largo Elitral	4.58	±0.31
3	Largo total	5.76	±0.25
4	Ancho Protórax	1.66	±0.66
5	Ancho Humeral	1.16	±0.13
6	Ancho Máximo	1.58	±0.16

Nota. \bar{X} = promedio (en milímetros), DS = Desviación Estándar.

Tabla 14. *Morfometría de Diabrotica sicuanica, Bechyné 1958, (Coleóptera, Chrysomelidae, Galeuricinae), n= 5 hembras*

Número	Parámetro	\bar{X}	DS
1	Largo Protórax	1.08	±0.08
2	Largo Elitral	4.82	±0.19
3	Largo total	5.90	±0.16
4	Ancho Protórax	1.86	±0.24
5	Ancho Humeral	1.16	±0.05
6	Ancho Máximo	1.40	±0.12

Nota. \bar{X} = promedio (en milímetros), DS = Desviación Estándar.

3.1. 2.1. Análisis Discriminante (AD)

Basándonos en las recomendaciones de Cabrera (2001), quien desarrolla la sistemática del grupo neotropical Fucata, existentes en Argentina, consideramos exactamente el mismo criterio y recomendación para poder describir las dos especies: *Diabrotica speciosa* y *Diabrotica sicuanica*, considerando 6 variables morfométricas básicas que denotan la diferenciación externa de cada especie, así tenemos el siguiente cuadro basado en estas medidas que presentamos a continuación.

Tabla 15. Matriz de variables Discriminantes para *Diabrotica speciosa* y *Diabrotica sicuanica*

Variab les	LP	LE	LT	AP	AH	AM
<i>D. speciosa</i>	1.04	3.60	4.64	1.08	1.02	1.16
<i>D. sicuanica</i>	1.08	4.82	5.90	1.86	1.16	1.40

Nota. LP= Longitud Protórax; LE= Largo Elitral; LT= Longitud Total; AP= Ancho Protórax; AH= Ancho Humeral; AM= Ancho máximo. Medida en milímetros.

En la tabla 15 se observa la matriz de variables discriminantes de 2X6 en la que se tomaron en cuenta los datos recomendados por Cabrera (2001), estos datos provienen de las tablas anteriores (tabla 9 a tabla 12), datos que fueron promediados para cada caso.

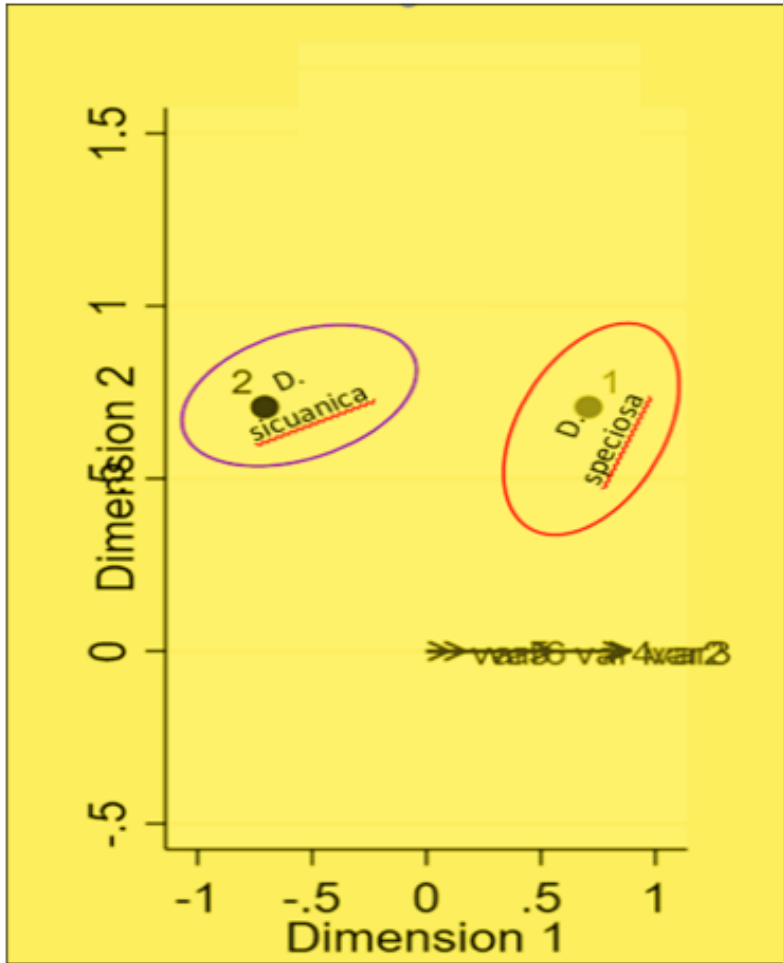


Figura 28. Análisis Discriminante de *D. sicuanica* y *D. speciosa*

Nota. *D. speciosa* y *D. sicuanica*, basado en variables morfométricas (software Stata 15)

En la figura 28, el Análisis Discriminante de esta matriz nos permite valorar la diferenciación de estas 2 especies que son morfométricamente separadas en los puntos de la gráfica resultante, la misma que los separa con mucha divergencia y sin solapamiento alguno.

3.1.3 Determinación Cariotípica

3.1.3.1 Cariotipo de *Diabrotica speciosa* Germar 1824 ($2n=21, 22, X0/XX, NF=40$).

El examen de las 61 láminas en metafase mitóticas de epitelio gástrico y ciegos intestinales muestra la existencia de 21 cromosomas en los machos y 22 en las hembras, con un número fundamental autosomal (NF), de 40 brazos principales (Anexo Tabla 16).

El sistema para la determinación del sexo, corresponde al tipo $X0/XX$, es decir que el macho es portador de un solo cromosoma sexual “X”, en cambio la hembra presenta dos cromosomas “X”. De acuerdo al análisis cariométrico, cuyas medidas relativas se presentan en la tabla 14, se ha desarrollado el respectivo cariograma e idiograma del complemento cromosómico de esta especie (figura 30 y 31), estos se basan en el tamaño relativo de cada cromosoma y la relación de brazos de los mismos.

De acuerdo a estos resultados *Diabrotica speciosa*, presenta un cariotipo constituido en forma homogénea por cromosomas de tipo metacéntricos, como se apreciará en las microfotografías y en el ordenamiento de cada par cromosómico.

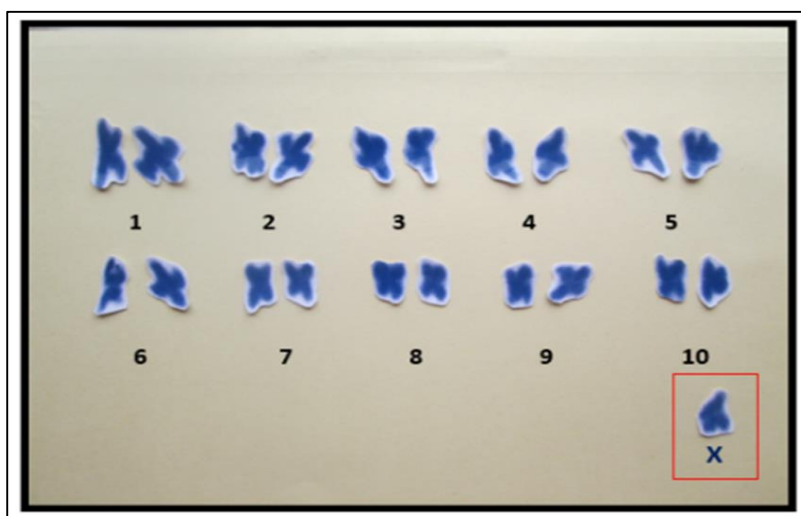


Figura 29. Cariotipo Somático de *Diabrotica speciosa* $2n= 21, X0 , NF= 40$.

Tabla 16. Valores Cariométricos de los Cromosomas de *Diabrotica speciosa* (Juego Haploide)

CROMOSOMA	IC	r	1/r	LR%
1	45.83	1.18	0.84	12.76
2	40.90	1.20	0.83	11.70
3	40.00	1.20	0.83	10.73
4	45.01	1.00	1.00	10.73
5	47.05	1.00	1.00	9.57
6	50.00	1.00	1.00	9.57
7	50.00	1.00	1.00	8.51
8	50.00	1.00	1.00	6.38
9	50.00	1.00	1.00	6.38
10	50.00	1.00	1.00	6.38
X	42.85	1.33	0.75	7.44

Nota. IC=Índice; r = Índice Braquial; L= Longitud Relativa en Porcentaje. Medida en milímetros.

$$LR = \frac{LT}{LG} \times 100 \quad IC = \frac{p}{p+q} \times 100 \quad r = \frac{q}{p}$$

El análisis cariométrico de cada cromosoma del complemento haploide de *Diabrotica speciosa*, permitió reconocer la morfología de cada par cromosómico incluyendo el cromosoma “X”, de esta inferencia se puede establecer que el cariotipo de esta especie está organizado por 10 pares de autosomas metacéntricos y un gonosoma “X”, también metacéntrico, en todos los elementos del cariotipo la posición del centrómero fue central en algunos casos con una simetría perfecta entre brazo y brazo y punto de unión centromérica.

De acuerdo a la longitud relativa se organizó al cariotipo en un solo grupo de cromosomas grandes y medianos ya que existe una uniformidad de tamaño muy notoria, no se encontró cromosomas muy pequeños en relación al más grande (Par 1).

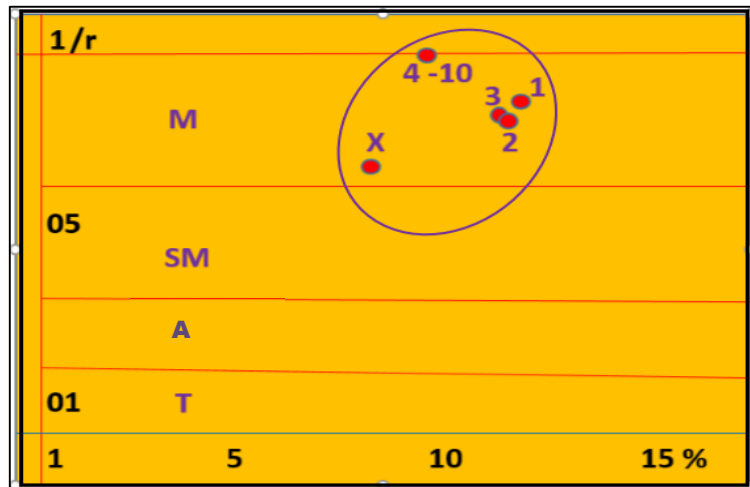


Figura 30. Plano Bidimensional de los Pares Cromosómicos para Determinar el Tipo de Cromosomas de *Diabrotica speciosa* Germar 1824

Nota. M: Metacéntrico; SM: Submetacéntrico; A: Acrocéntrico; T: Telocéntrico.

En la figura 30 se observa la proyección bivariada de: La proporción de brazos (r) y el Tamaño Relativo de los cromosomas en proporción porcentual (%), siguiendo el criterio de Levan et al. (1964) y Spotorno (1985), permite proyectar el complemento cromosómico en un cariograma que muestra un solo grupo natural formado por los autosomas y el “X” donde todos son de tipo metacéntrico.

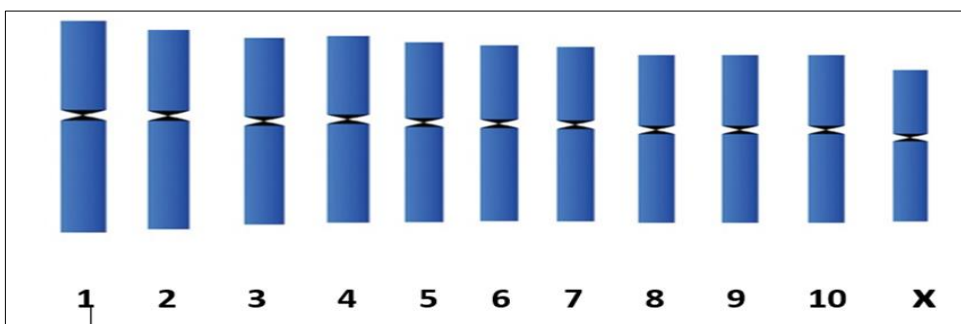


Figura 31. Idiograma de *Diabrotica speciosa* Germar 1824

3.1.3.2 Cariotipo de *Diabrotica sicuanica* Bechyné 1958 ($2n=19, 20, X0/XX$, NF= 36).

El examen de las 58 láminas en metafase mitóticas de epitelio gástrico y ciegos intestinales muestra la existencia de 19 cromosomas en los machos y 20 en las hembras, con un número fundamental autosomal (NF), de 36 brazos principales (Anexo Tabla 17)

El sistema para la determinación del sexo, corresponde al tipo $X0/XX$, es decir que el macho es portador de un solo cromosoma sexual "X", en cambio la hembra presenta dos cromosomas "X".

De acuerdo al análisis cariométrico, cuyas medidas relativas se presentan en la tabla 15, se ha desarrollado el respectivo cariograma e idiograma del complemento cromosómico de esta especie (figuras 33 y 34), estos se basan en el tamaño relativo de cada cromosoma y la relación de brazos de los mismos.

De acuerdo a estos resultados *D. sicuanica*, presenta un cariotipo constituido en forma homogénea por cromosomas de tipo metacéntricos y, submetacéntrico el X, como se apreciará en las microfotografías y en el ordenamiento de cada par cromosómico.

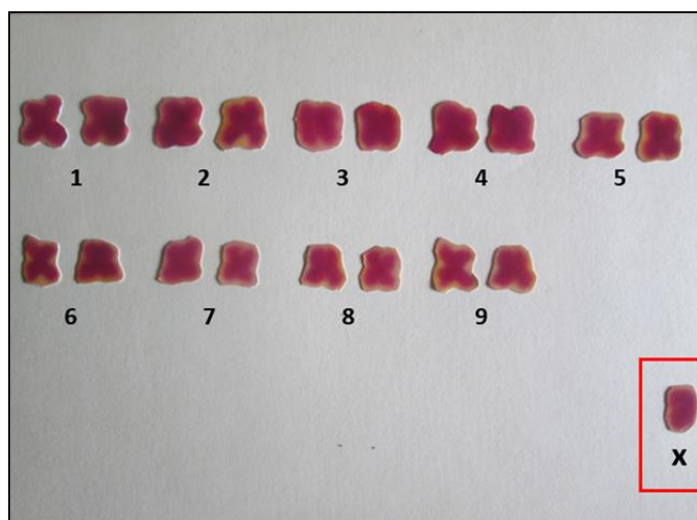


Figura 32. Cariotipo de *Diabrotica sicuanica*, $2n= 19 X0$, NF= 36.

El análisis cariométrico de cada cromosoma del complemento haploide de *Diabrotica sicuanica*, permitió reconocer la morfología de cada par cromosómico incluyendo el cromosoma “X”, de esta inferencia se puede establecer que el cariotipo de esta especie está organizado por 9 pares de autosomas metacéntricos y un gonosoma “X”, de tipo submetacéntrico, en todos los elementos del cariotipo la posición del centrómero fue central en algunos casos con una simetría perfecta entre brazo y brazo y punto de unión centromérica.

Tabla 17. Valores Cariométricos de los Cromosomas de *Diabrotica sicuanica*, (Juego Haploide)

CROMOSOMA	IC	r	1/r	LR%
1	50.00	1.00	1.00	12.50
2	50.00	1.00	1.00	11.11
3	50.00	1.00	1.00	11.11
4	50.00	1.00	1.00	10.41
5	50.00	1.00	1.00	9.72
6	50.00	1.00	1.00	9.72
7	50.00	1.00	1,00	8.33
8	50.00	1.00	1.00	8.33
9	50.00	1.00	1.00	8.33
10	26.66	2.75	0.36	10.41
X	42.85	1.33	0.75	7.44

Nota. IC=Índice Centromérico; r = Índice Braquial; L= Longitud Relativa en Porcentaje. Medida en milímetros

$$LR = \frac{LT}{LG} \times 100$$

$$IC = \frac{p}{p+q} \times 100$$

$$r = \frac{q}{p}$$

De acuerdo a la longitud relativa se organizó al cariotipo en un solo grupo de cromosomas grandes y medianos ya que existe una uniformidad de tamaño muy notoria, no se encontró cromosomas muy pequeños en relación al más grande (Par 1).

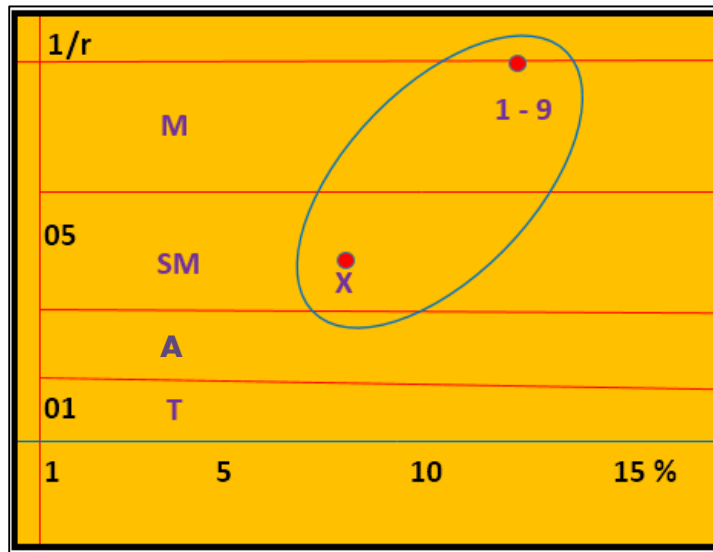


Figura 33. Plano Bidimensional de los Pares Cromosómicos para Determinar el Tipo de Cromosomas de *Diabrotica sicuanica*.

Nota. M: Metacéntrico; SM: Submetacéntrico; A: Acrocéntrico; T: Telocéntrico.

En la figura 33 se observa la proyección bivariada de: La proporción de brazos (r) y el Tamaño Relativo de los cromosomas en proporción porcentual (%), siguiendo el criterio de Levan et al. (1964) y Spotorno (1985), permite proyectar el complemento cromosómico en un cariograma que muestra un solo grupo natural formado por los autosomas y el “X” donde todos son de tipo metacéntrico y el cromosoma X es ligeramente submetacéntrico, finalmente se presenta el idiograma escala para completar el estudio.

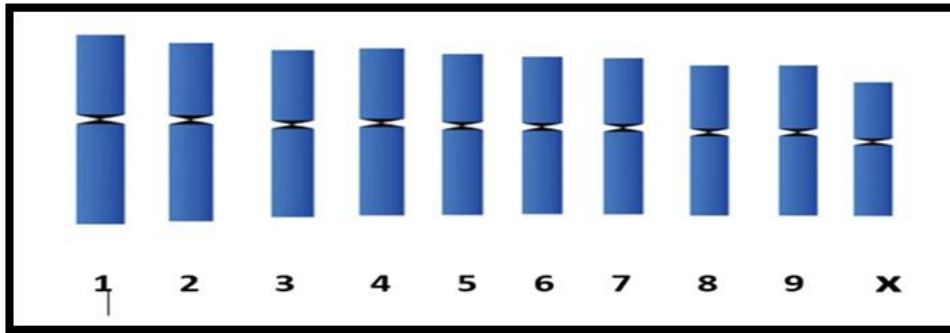


Figura 34.. Idiograma de *Diabrotica sicuanica*

3.2 DISCUSIÓN

Al tratarse del primer estudio que analiza la morfología externa de las dos especies del género *Diabrotica*, existentes en la zona de estudio, verificamos las identificaciones y citas ya existentes para la región de Cusco, los datos e identificaciones de Carrasco (1967), quien colectó y reportó por primera vez las especies de *Diabrotica* de la región, señalando que las identificaciones fueron determinadas por el especialista Dr. Bechyné y que señalan a *D. decempunctata sicuanica* y *D. speciosa* en cultivos de papa, maíz y otros hospederos, lo cual fue comprobado.

La actualización de *Diabrotica sicuanica* como especie válida y no como subespecie de *D. decempunctata*, basada en los estudios que valoran los detalles de escleritos existentes en el saco interno del órgano intromitente o edeagus y que permitió a Krysan et al.(1984), mostrar su categoría de especie, permitió corroborar su valor para separar especies muy variables y similares sin confundirlas.

Así, *Diabrotica. sicuanica* presenta en forma inconfundible 4 escleritos en su saco interno y en el caso de *Diabrotica. speciosa* 3 escleritos, que permiten su fácil separación sin dudas ya que los detalles externos como la coloración de sus élitros pueden ser muy variables en especial las maculas anaranjadas y los puntos negros de *Diabrotica sicuanica*, mientras que el color, aspecto y tamaño de *Diabrotica speciosa* es inconfundible, por ser más pequeña y porque sus maculas de los élitros son más constantes y diferentes de la especie *Diabrotica sicuanica*.

El análisis detallado de su morfología externa, en general permite reconocer a dos especies faneromórficas, bien diferenciadas y que no pueden ser confundidas por más que se comporten como especies simpátricas, conviviendo en el mismo territorio y hábitat y tal vez en los mismos hospederos, como es frecuente hallarlos en las zonas de estudio (K´ayra y

Saylla), dentro de la provincia de Cusco y el Valle del Cusco, atacando los cultivos de maíz, papa, quinua, olluco tarwi, etc

Un detallado estudio de sus morfologías externas acompañado de medidas morfométricas como es recomendado por Cabrera (2001), permite una fácil discriminación de las dos especies que son susceptibles de ser analizadas con estadística multivariada y análisis discriminante, como se presenta adicionalmente en este estudio.

Vidal (1984), reporta para *Diabrotica. marginata* un número cromosómico de $2n=19$, $XX/X0$, y Smith, (1969) determina el número cromosómico y cariotipo de 32 especies de *Diabrotica*, como $2n= 19$ cromosomas, todos los elementos del complemento cromosómico son de tipo metacéntrico y submetacéntricos, en forma invariable y el sistema para la determinación sexual es siempre de tipo $XX/X0$. En el presente trabajo también se encontró cromosomas de tipo metacéntrico y submetacéntrico.

Schneider et al. (2002) determina el número cromosómico y cariotipo para *Diabrotica speciosa* $2n= 21$, $XX/X0$ cromosomas de tipo metacéntrico lo cual fue corroborado en este trabajo.

El presente trabajo reporta el número cromosómico de *Diabrotica sicuanica* de $2n= 19$, cromosomas de tipo meta y submetacéntricos y determinación sexual de tipo $X0/XX$.

Tanto la información morfológica como los datos cromosómicos son muy valiosos en la sistemática del género *Diabrotica* y requiere de mayores estudios, ya que tan solo cerca de 40 especies son conocidas cromosómicamente y tan solo un estudio con técnicas de bandeamiento cromosómico que les da mayor resolución a los cromosomas.

CONCLUSIONES

1ro. Se determinó dos especies del género *Diabrotica*. Coleóptera, Chrysomelidae, colectados en los meses de Febrero a Mayo del 2019, en base a descripciones de morfología externa y genitalia, morfometría y cariotipo correspondiendo a:

- *Diabrotica speciosa* para las localidades de K'ayra y Saylla de la Provincia de Cusco, en los cultivos de haba, quinua, maíz y plantones de retama.
- *Diabrotica sicuanica* para las localidades de K'ayra y Saylla de la Provincia de Cusco, en los cultivos de haba, quinua, maíz, papa y plantones de retama.

2do. De acuerdo a la descripción morfológica y morfométrica de las dos especies, se encontró que el mejor carácter para la determinación de las especies, es la morfología del saco interno de la genitalia del macho, es así que:

- *Diabrotica speciosa* presenta 3 escleritos en su saco interno, uno laminar dentado y 2 espinosos.
- *Diabrotica sicuanica* presenta en su saco interno 4 escleritos uno laminar dentado y 3 espinosos.

Dichas comparaciones morfométricas revelaron que se trata de dos especies distintas.

3ro. El cariotipo elaborado para las dos especies de *Diabrotica* demostró:

- El número cromosómico de *Diabrotica speciosa* es $2n = 21$, XO en el macho y $2n = 22$, XX en la hembra, con un NF= 40, con 10 pares de autosómicos metacéntricos y un gonosoma "X" metacéntrico.

- El número cromosómico de *Diabrotica sicuanica* es $2n = 19, XO$ en el macho y $2n = 20, XX$ en la hembra, con un $NF = 36$, con 9 pares autosómicos metacéntricos y un gonosoma “X”, submetacéntrico,

La morfología de la genitalia y el estudio cariotípico fueron de alto valor taxonómico en la determinación de las especies de *Diabrotica* de la provincia de Cusco.

RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio en otras especies del género *Diabrotica*, ya que la mayoría son desconocidos desde el punto de vista cromosómico y no se conoce bien su morfología externa.
2. Desarrollar un estudio más profundo de la citogenética en estas especies usando técnicas de bandeo cromosómico.
3. Realizar una revisión taxonómica y colectas más cuidadosas en todo el departamento de Cusco, para registrar nuevas especies del género *Diabrotica*
4. Realizar estudios moleculares de ADN en las especies del género *Diabrotica*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Angus, R. B., Sadílek, D., Shaarawi, F., Dollimore, H., Liu, H.-C., Seidel, M., & Fikacek, M. (2020).** Karyotypes of Water Scavenger Beetles (Coleoptera: Hydrophilidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 192, 958-997. doi:<https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlaa105>
- Battaglia, E. (1955).** Chromosome Morphology and Terminology. *Caryologia*, 8(1), 179-187.
- Bechyne, J. (1958).** Notizen zu den Neotropischen Chrysomeloidea (Coleoptera:Phytophaga). *Entomologische Arbeiten aus dem Museum*, 9, 478-706.
- Cabrera, N. (2001).** Estudio Sistemático de las Especies de *Diabrotica* Grupo Fucata I. (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae. *Physis, Seccion C*, 58, 47-56.
- Cabrera, N., & Cabrera, G. (2004).** *Diabrotica calchaqui*, a New Species of Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae), from Argentina. *Entomological Society of America*, 97(5), 889-897. Obtenido de <https://academic.oup.com/aesa/article/97/5/889/63004> by guest on 10 August 2021
- Camacho, J., Sharbel, T., & Beukeboom, L. (2000).** B-Chromosome Evolution. *The Royal Society*, 163-178.
- Carrasco, F. (06 de Diciembre de 1967).** Algunas Plagas Registradas en Cusco. *Revista Peruana de Entomología*, 10(1), 62-66.
- Carrasco, F. (1976).** Plagas de la Papa y Técnicas de Evaluación. *Revista Peruana de Entomología*, 4-12.
- Castillo, E., Taffarel, A., & Marti, D. (2011).** Una Técnica Alternativa para el Cariotipado Mitótico en Saltamontes: Bando C y Fluorescente en *Adiantum ornatissimum* (Orthoptera:Acrididae). *Revista de Ciencia y Tecnología*, 30-32.

Chaboo, C. S., & Clark, S. (5 de Enero de 2015). Beetles(Coleoptera) of Peru: A Survey of the Families. Chrysomelidae: Galerucinae (Not Including Alticini). *Journal Of The Kansas Entomological Society*, 88(3), 361-367. Obtenido de <http://www.bioone.org/doi/full/10.2317/0022-8567-88.3.361>

Clark, T., Meinke, R., & Foster, J. (2001). Molecular phylogeny of *Diabrotica* beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) inferred from analysis of combined mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Insect Molecular Biology* , 10, 303 - 314.

Crisci, J., & Lopez, M. (1983). *Introduccion a la Teoria y Practica de la Taxonomia Numerica*. Washington, US.

Derunkov, A., Prado, L. R., Tishechkin, A. K., & Konstantinov, A. S. (2015). New species of *Diabrotica* Chevrolat (Coleoptera:Chrysomelidae: Galerucinae) and a key to *Diabrotica* and related genera: results of a synopsis of North and American *Diabrotica* species. *Journal of Insect Biodiversity*, 3(2), 1-55. doi:DOI: 10.12976/jib/2015.3.2

Eben, A., & Espinosa de los Monteros, A. (2013). Tempo and Mode of Evolutionary Radiation in Diabroticina Beetles (Genera *Acalymma*, *Cerotoma*, and *Diabrotica*). *ZooKeys*, 332, 207- 231. doi:doi: 10.3897/zookeys.332.5220

Eco Tour, C. (30 de Agosto de 2021). *Estaciones y Clima de Cusco*. Obtenido de [escotourcusco: https://ecotourcusco.com/es/estaciones-y-clima-de-cusco/](https://ecotourcusco.com/es/estaciones-y-clima-de-cusco/)

Gurney, A., Kramer, J., & Steyskal, G. (1963). Some Techniques for the Preparation, Study, and Storage in Microvials of Insect Genitalia. *Annals of the Entomological Society of America*, 57, 240 - 242.

Jolivet, P., Petitpierre , E., & Hsiao, T. H. (1988). *Biology of Chrysomelidae*. London: Kluwer Academic Publishers.

- Kocak, Y., & Ocutaner, A. (2018).** Some Cytogenetic Methods for the Investigation of Insect Chromosomes and Their Implications for Research in Systematic Entomology. *The Excitement of Biology*, 5(3), 117-128. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/322150281>
- Konstantinov, A. (1998).** *Revision of the Palearctic Species of Aphthona Chevrolat and Cladistic Classification of the Aphthonini (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae)*. Gainesville: Instituto Americano de Entomologia.
- Konstantinov, A., Baselga, A., Grebennikov, V., Prena, J., & Lingafelter, S. (2011).** *Revision of the Palearctic Chaetocnema species (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae: Alticini)*. Bulgaria: Pensoft Publishers Sofia - Moscow.
- Krysan, J. L. (1986).** *Introduction: Biology, Distribution, and Identification of Pest Diabrotica*. (N. Y. Springer, Ed.) New York: Springer - Verlag.
- Krysan, J., & Miller, T. (1986).** Methods for the Study of Pest *Diabrotica*. Springer - Verlag, 172. doi:10.1007/978-1-4612-4868-2-1
- Krysan, J., & Smith, R. (1987).** Systematics of the Virgifera Species Group of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae). *Entomography*, 5, 375-484.
- Krysan, J., Branson, T., Schroeder, R., & Steiner, W. (Mayo & Junio de 1984).** Elevation of *Diabrotica sicuanica* (Coleoptera: Chrysomelidae) to the Species Level With Notes on the Altitudinal Distribution of *Diabrotica* Species in the Cuzco Department of Peru. *Entomological News*, 95(3), 91-98.
- Lanteri, A., & Cigliano, M. (2006).** *Sistematica Biologica: Fundamentos Teoricos y Ejercitaciones*. Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata.
- Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. (1964).** *Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes* (Vol. 52). New York. U.S.A.: Hereditas.

Márquez, J. (2005). Técnicas de Colecta y Preservacion de Insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 385-408.

Mirzaghaderi, G., & Marzangi, K. (2015). IdeoKar: An Ideogram Constructing and Karyotype Analyzing Software. *Caryologia*, 68(1), 31-35. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1080/00087114.2014.998526>

Molero, S. (2009). *Cariotipo y Aspectos Citogeneticos de Dactylopius coccus Costa, 1835.*[Tesis de Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio Institucional, Lima, Peru.

Nirchio, M., & Oliveira, C. (2006). *Citogenetica de Peces.* Cumaná, Venezuela: Universidad de Oriente.

Ordonez, M. M., Lopez , S., & Rodriguez, G. (2014). Biodiversidad de Chrysomelidae (Coleoptera) en Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 271-278. doi:10.7550/rmb.31424

Petitpierre, E. (1997). The Value of Cytogenetics for the Taxonomy and Evolution of Leaf Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Miscelania Zoologica*, 20, 8-18.

Petitpierre, E. (2000). *Fauna Iberica: Coleoptera: Chrysomelidae I* (Vol. 13). (A. R. Sanches, Ed.) España: Museo Nacional de Ciencias Naturales.

Petitpierre, E., Segarra, C., Yadav, J., & Virkki, N. (1988). Chromosome Numbers and Meioformulae of Chysomelifdae. En P. Jolivet, E. Petitpierre, & T. Hsiao , *Biology of Chrysomelidae* (págs. 161-186). Dordrecht The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. doi: 10.1007/978-94-009-3105-3_10

Poggio, L., & Naranjo, C. (2004). Citogenetica. En V. Echenique, C. Rubinstein, & L. Mroginski, *Biotechnologia y Mejoramiento Vegetal* (págs. 69-79). Buenos Aires: INTA.

Prado, L. R. (2013). Review on the Use of Sexually dimorphic Characters in the Taxonomy of Diabroticites (Galerucinae, Luperini, Diabroticina). (J. S. Blay, Ed.) *ZooKeys*, 332, 33-54. doi:doi: 10.3897/zookeys.332.4931

Riley, Clark, S., Flower, W., & Gilbert, A. (2002). Family 124. Chrysomelidae (Latreille 1802). En R. Arnett, M. Thomas, P. Skelley, & J. Frank, *American Beetles. Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea* (Vol. 2, págs. 617-691). Florida: CRC Press.

Rohlf, F. (1998). On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. 47: 147–158. *Systematic Biology*, 47, 147-158.

Rohlf, J. (2015). The Tps Series of Software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 26(1), 9-12.

Saavedra, S. (2020). *Genetica Guia N°17: Cromosomas*. La Florida: Departamento de Ciencias Biología.

Saez, F., & Cardoso, H. (1978). *Citogenetica Basica. Biología de los Cromosomas*. OEA.

Sappington, T., Siegfried, B., & Guillemaud, T. (2006). Coordinated *Diabrotica* Genetics Research: Accelerating Progress on an Urgent Insect Pest Problem. *American Entomologist*, 52(2). Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/43286081>

Schneider, M., Artoni, R., & Almeida, M. (2002). Cytogenetic Analysis of 3 Populations of *Diabrotica speciosa* (Chrysomelidae, Galerucinae): Constitutive Heterochromatin and Nucleolus Organizer Regions. *Cytologia*, 67, 281-287.

Shingh, T. (2002). *Basic Cytogenetics*. Atalaya Prees Comp.

Smith, R., & Lawrence, J. (1967). *Clarification of the status of the type specimens of Diabroticites (Coleoptera, Chrysomelidae, Galerucinae)* (Vol. 45). Universidad of California.

- Smith, S. G. (1969).** The Chromosomes of Some Chrysomelid Coleoptera: Diabroticites. *Chromosomes Today*, 197-207.
- Smith, S., & Virkki, N. (1978).** *Animal Cuytogenetics* (Vol. 3). Berlin: Hans Bauer, Hiroshi Kayano, Albert Levan, Michael White.
- Sokal, R., & Rohlf, F. (1962).** The Comparison of Dendrograms by Objetive Methods. *Taxon* , 33-40.
- Sokal, R., & Sneath, P. (1963).** *Principles of Numerical Taxonomy*. San Francisco: Freeman and Company.
- Spotorno, A. (1985).** Conceptos y Metodos en Cariologia Descriptica y Comparada. En R. Donoso, *Los Cromosomas y la Evolucion* (págs. 1-34). UNESCO.
- Suzuki, K. (1994).** Comparative Morfology of the Hindwing Venation of the Chrysomelidae (Coleoptera). En P. Jolivet, M. Cox, & E. Petitpierre, *Novel Aspects of the Biology os Chrysomelidae* (págs. 337-354). Japan: Department of Biology, Faculty of Science, Toyama University.
- Szalanski, A. L., Sikes, D. S., Bischof, R., & Fritz, M. (2000).** Population Genetics and Phylogenetics of the Endangered American Burying Beetle, *Nicrophorus americanus* (Coleoptera: Silphidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93(3), 589-594. Obtenido de <https://academic.oup.com/aesa/article/93/3/589/71774> by guest on 13 August 2021
- Vidal, R. (1984).** Chromosome numbers of Coleoptera from Argentina. *Genetica* 65, 3, 235-239.
- White, M. J. (1973).** *Animal Cytology and Evolution*. England: Cambridge University Press.

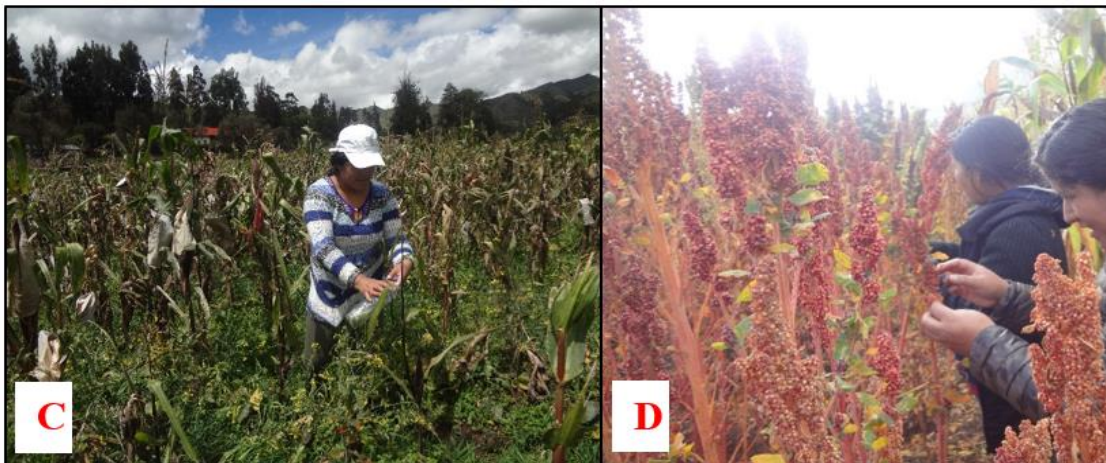
Wilcox, J. (1965). *A Synopsis of the North American Galerucinae (Coleoptera: Chrysomelidae)*. Albany, New York: The University of the State of the New York. Obtenido de <http://purl.nysed.gov/nysl/1293090>

Zia, Y. (1936). Comparative studies of the male genital tube in Coleoptera Phytophaga. *Sinensia*, 7, 319-352.

ANEXOS



Nota. A: Cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) y B: Cultivo de haba (*Vicia faba*)



Nota. C: Cultivo de maíz (*Zea mays*) y D: Cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa*)

Figura 35. Zonas de Colecta y Diversos Cultivos Andinos Donde se Encontraron las Especies de *Diabrotica*.



Figura 36. Laboratorio de Biología Celular de la Escuela profesional de Biología-UNSAAC



Figura 37. Laboratorio de Entomología de la Escuela profesional de Agronomía-UNSAAC



Figura 38. *Procesamiento de las Muestras en Laboratorio de Biología*

Nota. A: Preservación a 0 grados, B: Muestras rotuladas y C: Sacrificio de las muestras.

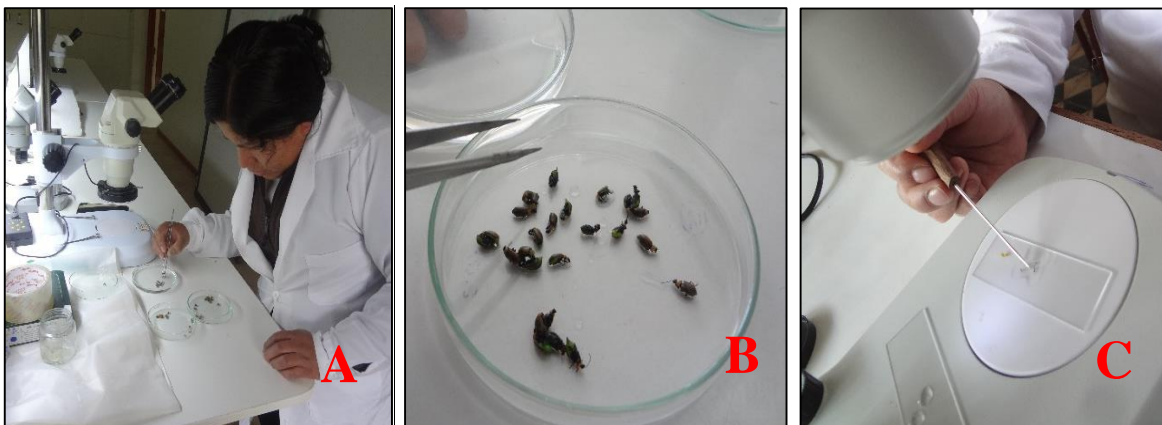


Figura 39. *Procesamiento de las Muestras en Laboratorio de Biología*

Nota. A y B: Separación de las muestras según el sexo. C: Obtención de ganadas y ciegos intestinales.

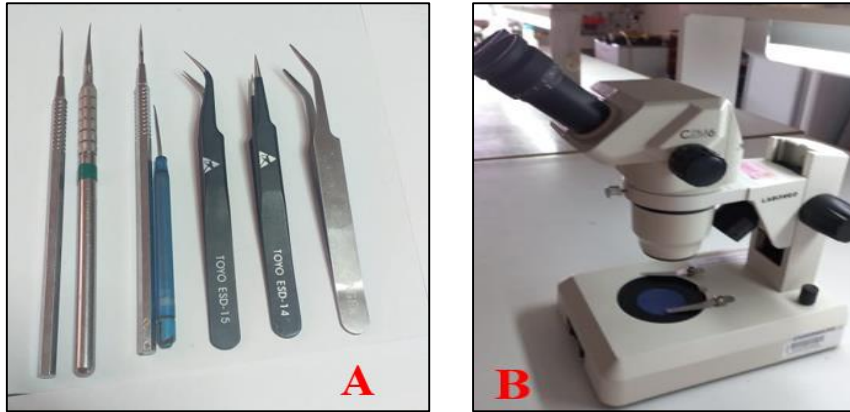


Figura 40. *Instrumentos de Disección y Aparatos Utilizados en Laboratorio*

Nota. A: Instrumentos de disección, B: Estereoscopio.

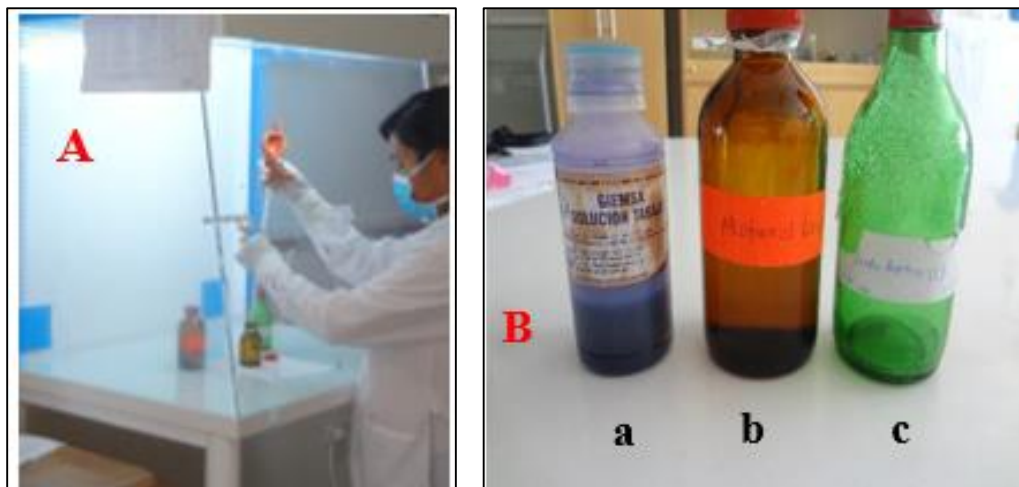


Figura 41. *Preparación de Reactivos y Fijador*

Nota. A: Preparación de Fijador Carnoy y B: a) Colorante Giemsa, b) Metanol y c) Ácido acético glacial

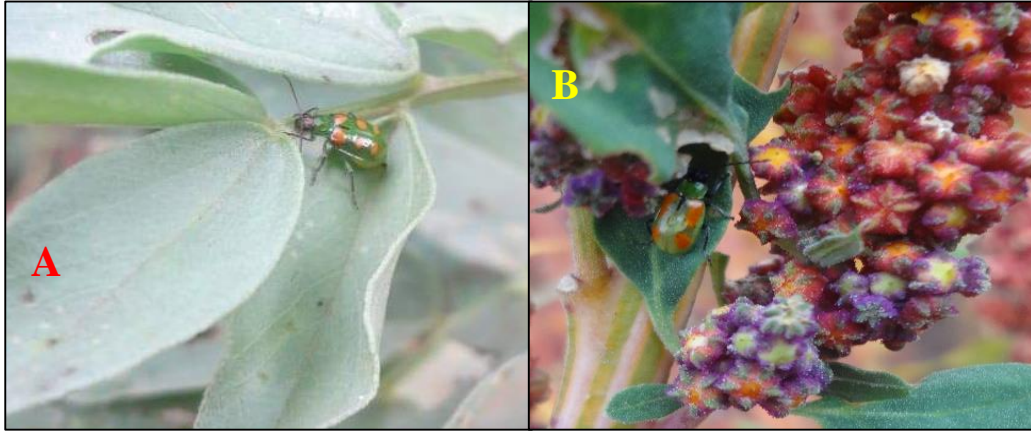


Figura 42. *Muestras Biológicas en el Campo.*

Nota. A: Diabrotica speciosa, B: Diabrotica sicuanica



Figura 43. *Muestras de Diabrotica Montadas*

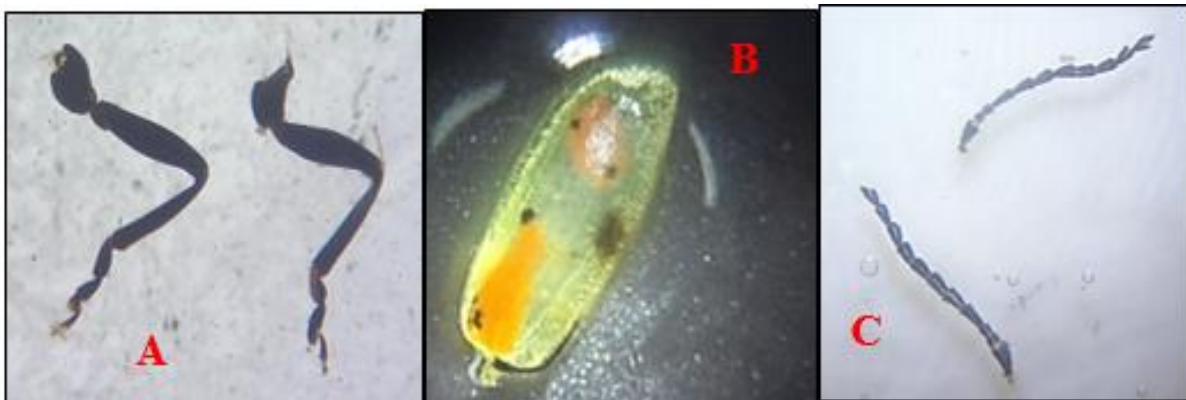


Figura 44. *Algunas partes de Diabrotica sicuanica*

Nota. A: Patas, B: Élitro y C: Antenas

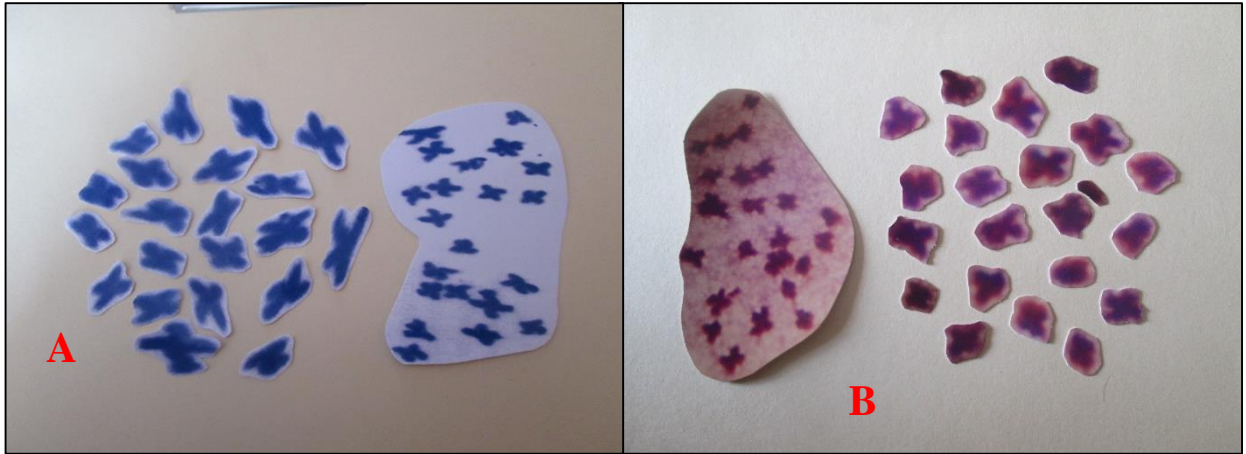


Figura 45. Cromosomas de *Diabrotica speciosa* con Colorantes Convencionales.

Nota. A: Coloración Giemsa y B: Coloración con Orceína.

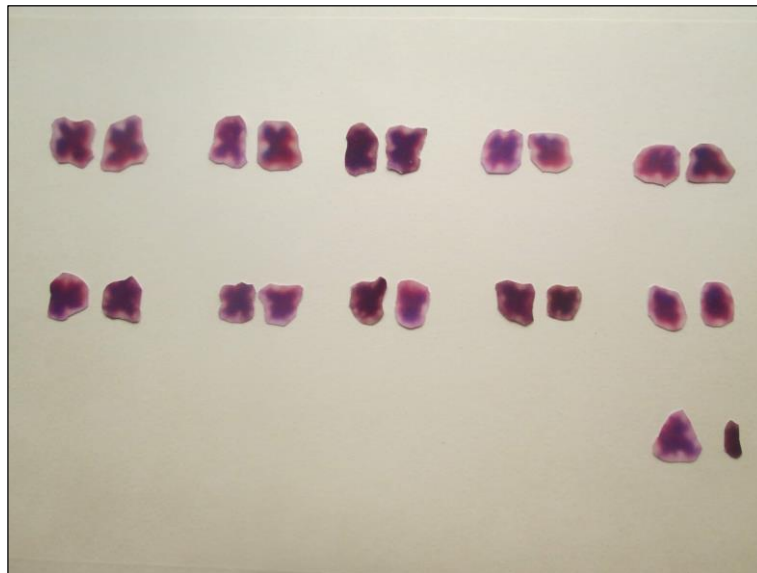


Figura 46. Cariotipo de la Hembra de *Diabrotica speciosa* con Colorante Orceina

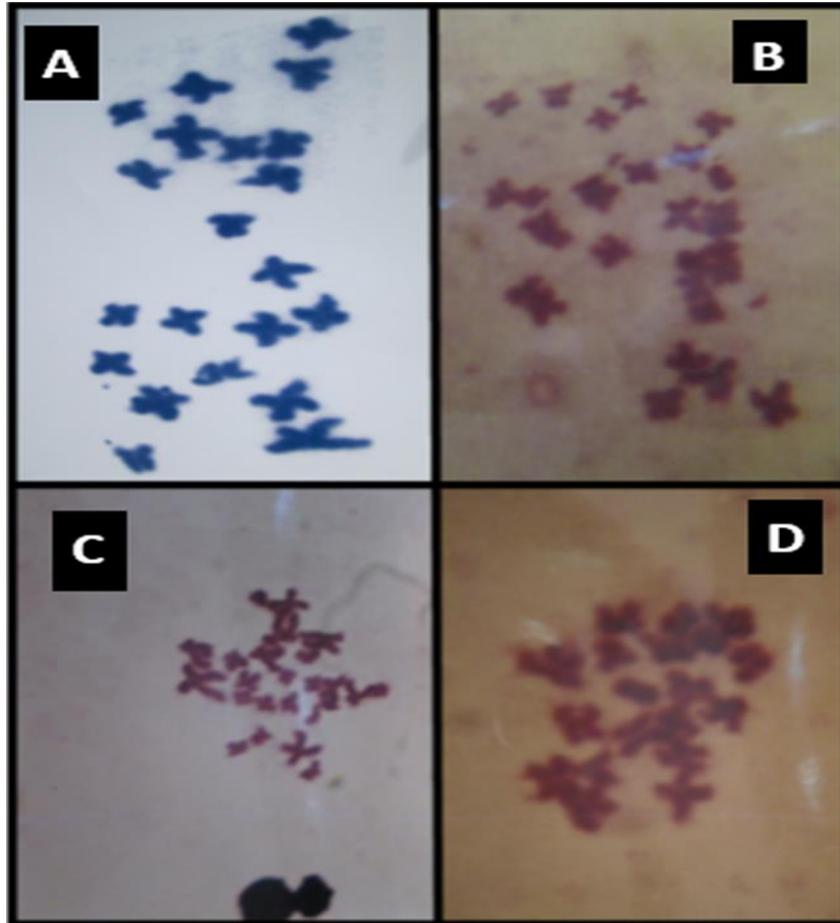


Figura 47. *Metafases Mitóticas de Ciegos Intestinales*

Nota. A, B: *Diabrotica. speciosa*; C, D: *Diabrotica. sicuanica*, coloración convencional, Giemsa y orcina acética. Aumento a 1000X

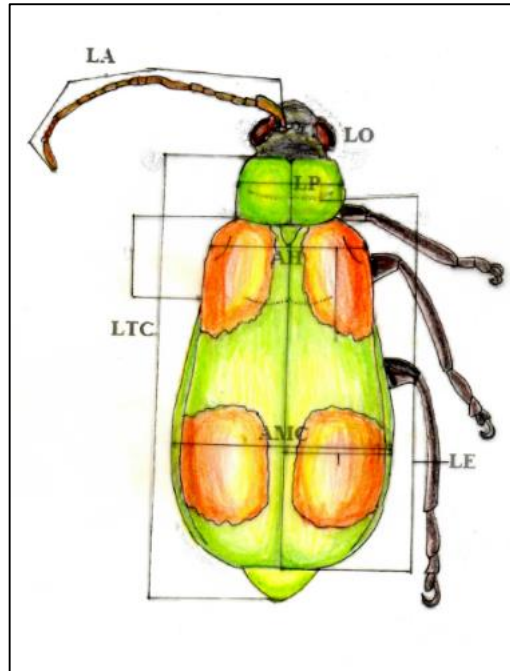


Figura 48. Principales Medidas Morfométricas Utilizadas en el Estudio de las Especies de *Chrysomelidae*. Tomada de Cabrera (2001).

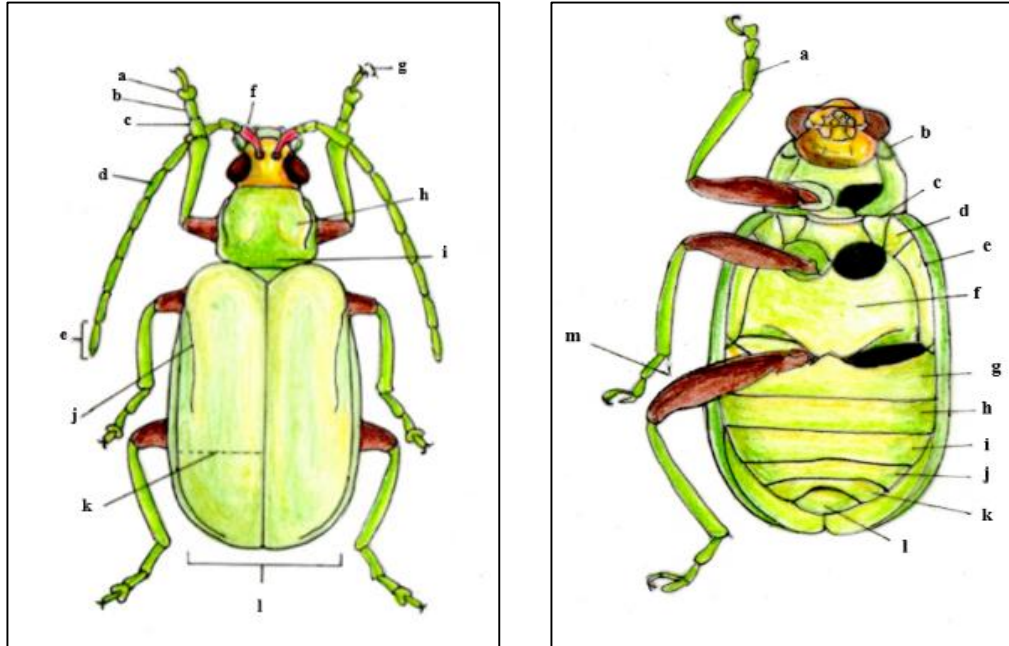


Figura 49. Detalles Morfológicos del Genero *Diabrotica* Chevrolat 1837 según Wilcox (1972)

- Lateral margin of prothorax with large setae only on anterior and posterior angles or with one or two small setae placed near large setae 8
- 8(7). Genal space small, its width less than one-fourth eye maximum diameter 9
- Genal space medium sized, its width one-fourth to one-half the maximum eye diameter 14
- 9(8). Antennomere 3 twice to 3.5 times as long as antennomere 2 10
- Antennomere 3 subequal to antennomere 2 (not more than 1.5 times as long) 11
- 10(9). Mesotibia without emargination before apex. Antennomere 3 distinctly shorter than antennomere 4 *Paranapiacaba* Bechyné (part)
- Mesotibia emarginate before apex. Antennomere 3 slightly longer than antennomere 4 *Palmaria* Bechyné
- 11(9). Antennomere 3 equal to or slightly longer than antennomere 2, together equaling more than half of antennomere 4 length 12
- Antennomere 3 slightly shorter than antennomere 2, together usually considerably shorter of antennomere 4 length *Diabrotica* Chevrolat (*signifera* group)
- 12(11). Elytral surface even, not sulcate, although sometimes with one or two short plicae in posthumeral area 13
- Each elytron with two or more distinct sinuate sulci, strongest behind humeral callus and extending beyond middle. Pronotum deeply bifoveate *Diabrotica* Chevrolat (*virgifera* group)
- 13(12). Metepisternum in males with patch of long, silky, golden or silvery, overlapping setae. Front tibiae in males thickened, expanded distally and strongly carinate on outer side. Elytra with epipleuron nearly vertical at humerus, visible laterally in posterior half *Cochabamba* Bechyné (part)
- Males without golden or silvery setae on metepisternum *Diabrotica* Chevrolat
- 14(8). Antennomere 3 1.5 or more times as long as antennomere 2 15
- Antennomere 2 and 3 subequal. Head and pronotum with pattern of spots. Pronotum strongly foveate *Anisobrotica* Bechyné & Bechyné
- 15(14). Metatarsomere 1 long, in male longer than two following tarsomeres combined, but not as long as all following tarsomeres together 16
- Metatarsomere 1 short, in male subequal to two following tarsomeres *Isotes* Weise (part)
- 16(15). Elytra in male with raised areas, excavations, or depressions in posterior half 17
- Elytra in male often dilated posteriorly, but without raised areas, excavations, or depressions *Paranapiacaba* Bechyné (part)
- 17(16). Males with apices of elytra not excavated, or, if excavated, excavations not extending to elytral apex *Paratriarius* Schaeffer
- Males with elytra narrowed sharply in apical fourth to form a point, each with apex excavated *Pseudodiabrotica* Jacoby

18(7). Elytral disk glabrous, irregularly punctate, sometimes with scattered setae on elytral margins or in apical third of elytron	19
– Elytral disk with erect or suberect setae, often arranged in rows	21
19. Elytra without vittae	20
– Elytra vittate. Maximum eye height equal to 2/3 to 3/4 of interocular distance	<i>Amphelasma</i> Barber
20(19). Elytra faintly striate	<i>Paranapiacaba</i> Bechyné (part)
– Elytra without striae	<i>Isotes</i> Weise (part)
21(18). Elytra with erect or suberect setae arranged in rows	<i>Acalymma</i> Barber
– Elytra with erect or suberect hairs scattered on disk, not arranged in rows	<i>Zischkaiia</i> Bechyné

Figura 50. *Clave para Determinar Géneros de la Familia Chrysomelidae de Derunkov*

et al.(2015)

all subsequent systematic changes (Smith and Lawrence, 1967; Krysan et al., 1980, 1983); some couplets are verbatim from the cited references.

- | | | |
|----|--|--|
| 1 | Elytra in part pale, yellow or green | 2 |
| | Elytra entirely dark; 4–6 mm long | <i>D. cristata</i> (Harris) |
| 2 | Pronotum pale, yellow or green | 3 |
| | Pronotum black; montane grasslands of New Mexico, western Texas, and Arizona | <i>D. lemniscata</i> LeConte |
| 3 | Elytra with longitudinal carinae on the disk | 4 |
| | Elytra lacking discal carinae | 8 |
| 4 | Femora black or pale with outer edge tinged with black | 5 |
| | Femora green or yellow; not marked with black | 6 |
| 5 | Elytra with black vittae from humeral angles and on the suture, often covering most of the elytra; beetle usually yellow and black | <i>D. virgifera virgifera</i> (WCR) (Fig. 1A) |
| | Elytra entirely pale or with a narrow piceous vitta extending posteriorly from the humeral angle; beetle largely green | <i>D. virgifera zeae</i> (MCR) (Fig. 1B) |
| 6 | Antennae (except proximal segments), clypeus, tibiae, and tarsi infuscated, often black | 7 |
| | Antennae, clypeus, tibiae, and tarsi, yellow or testaceous; humeral vittae if present very weakly colored | <i>D. barberi</i> (in part) (Fig. 1C) |
| 7 | Scutellum usually black; Nebraska and Texas to Colorado and Arizona | <i>D. longicornis</i> (Say) |
| | Scutellum yellow or testaceous; Pennsylvania and Quebec to Vermont and Massachusetts; populations in Georgia and South Carolina have a black scutellum | <i>D. barberi</i> (NCR) (in part) |
| 8 | Elytra with black markings | 9 |
| | Elytra without black markings; green with yellow transverse bands | <i>D. balteata</i> (BCB) (Fig. 1D) |
| 9 | Elytra with 11 black spots | <i>D. undecimpunctata sensu lato</i> |
| | Each elytron with a basal black area enclosing a pale spot and an arcuate transverse black band in the apical third | <i>D. tibialis</i> LeConte |
| 10 | Legs and abdomen entirely black; Pacific Coast | <i>D. undecimpunctata undecimpunctata</i> (WSCB) |
| | Abdomen pale, legs in part pale | 11 |
| 11 | Spots black and rather large; form robust; eastern United States | <i>D. u. howardi</i> (SCR) (Fig. 1E) |
| | Spots smaller and brownish; form less robust | <i>D. u. tenella</i> LeConte |

Figura 51. Clave para Determinar Especies del Género *Diabrotica* de Krysan & Miller

(1986)

**ELEVATION OF *DIABROTICA SICUANICA*
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) TO THE
SPECIES LEVEL WITH NOTES ON THE
ALTITUDINAL DISTRIBUTION OF *DIABROTICA*
SPECIES IN THE CUZCO DEPARTMENT OF PERU^{1,2}**

J.L. Krysan³, T.F. Branson³, R.F.W. Schroeder⁴, W.E. Steiner, Jr.⁵

ABSTRACT: *Diabrotica decempunctata sicuanica* Bechyne is elevated to the species level. The altitudinal distribution of 17 species of *Diabrotica* in the Cuzco Dept. of Peru, based on material collected in January of 1979 and 1982, is presented. The greatest diversity of species (11) was collected in the altitudinal range of 1250 to 2450 M. At elevations below 2800 M, most beetles were found on flowers of cucurbits. In the altitude zone from 2800 to 3500 M, two taxa were collected, both from *Zea mays* L.: *D. speciosa vigens* Erichson, from 2800 to 3200 M and *D. sicuanica* Bechyne, from 3000 to 3500 M elevation. The two species with the most extensive continental ranges were collected over the greatest range of altitudes.

Diabrotica is a largely Neotropical genus that includes several species of great economic importance in North America, particularly as pests of maize. Given the pest status, the South American members of the genus have been of interest to North American entomologists as, for example, reservoirs of natural enemies. Despite this interest, most South American *Diabrotica* are very poorly known. Except for a few widespread economic pests, the literature consists of original descriptions and catalog entries. Distribution records are scanty and indefinite. Given the nature of Andean ecology, altitudinal distribution patterns are expected, but no such information is available for *Diabrotica*.

In the course of a total of nearly 7 weeks of searches for natural enemies in the Cuzco Department of Peru in January of 1979 and 1982, we made extensive collections of *Diabrotica*. Based on these collections, we herein elevate one taxon, *D. decempunctata sicuanica* Bechyne, to the species level, and report on the altitudinal distribution of 17 taxa of *Diabrotica*.

Taxonomic Status of *Diabrotica decempunctata sicuanica* Bechyne

Our experience indicates a status change for this taxon is appropriate despite our commitment to the ideal that piecemeal changes separate from a major revision can be detrimental. We have recognized *D. d. sicuanica* as a pest of maize (see below), so a literature might develop which makes nomenclatural simplicity and stability highly desirable. Taxonomic information indicates species status is appropriate, and because trinomials are commonly ignored in general entomological literature, we elevate *D. d. sicuanica* to the species level. A brief description is given here because the original description is limited to a key couplet.

Diabrotica sicuanica Bechyne new status

D. decempunctata sicuanica Bechyne, 1958: 555.

Description. Body elongate oval, lime green nearly throughout, elytra widest slightly post-medially. Length 5 to 7 mm.

Pronotum. Shiny lime green, wider than long, mean ratio length to width, 0.70; disc with 2 foveae tiny or absent, glabrous except for a prominent seta on anterior and posterior angles and 1 or 2 short setae on the lateral margin adjacent to the prominent seta; lateral margin distinct, reflexed; scutellum piceous.

Elytra. Humeral plicae absent, disc asculate, finely, irregularly punctate, surface very finely alutaceous; each elytron with 2 spectrum orange (frequently faded) diffuse spots, one originating on humerus and narrowing apicad, ending at basal one-third to one-half of elytron, other oblong, one-third width of elytron, originating at apical one-third of elytron, one-third of elytral width of suture, directed diagonally towards apical curve. Piceous maculation highly variable; piceous sutural vitta at basal one-sixth of elytron and at most 5 spots on each elytron: 1 humeral; 2 in proximal one-half, 1 on disc near but not touching suture, the other nearer lateral margin lying slightly apicad from the first, 2 arranged similarly in posterior one-third. Piceous maculation may be reduced to a very narrow sutural vitta; distal medial spots are the last to disappear, except occasionally only humeral spots present; when present, the distal spots lie at either end of distal orange spot. Disc essentially glabrous; a few setae on apical margin.

Head. Very shiny, entirely piceous. Antennae entirely piceous, three-fourths length of body in male, two-thirds length of body in female; third segment $1\frac{1}{4}$ times length of segment 2; segments 2 and 3 together two-thirds length of segment 4.

Ventral side. Prothorax yellow or lime green, meso and metathorax entirely piceous, all legs entirely piceous, abdomen yellow or lime green.

Male genitalia. The internal sac is illustrated in Figure 1a.

Material Examined. Three hundred and thirteen (313) specimens from the localities listed in Table 1 collected by J. Krysan and T. Branson, January 1982, and deposited in USNM and Ministerio de Agricultura y Alimentacion, Lima, Peru; San Jeronimo, Cuzco Dept., Peru III-24-79, G. Buckingham, private colln.; AUTOTYPE, Urabamba, Peru V-16-62, 3200 M, Carrasco, obtained from Dr. F. Carrasco, Cuzco Dept., Peru (to be deposited in USNM).

Distribution. In addition to the material examined, we know of specimens collected at Cuzco, Peru, 3500 M, by G. Molleda, X-15-61 in California Insect Survey and the type material collected at Sicuani, Peru (Museum G. Frey). Thus, the species has been collected only in the Cuzco Dept. of Peru and from localities above 3150 M elevation.

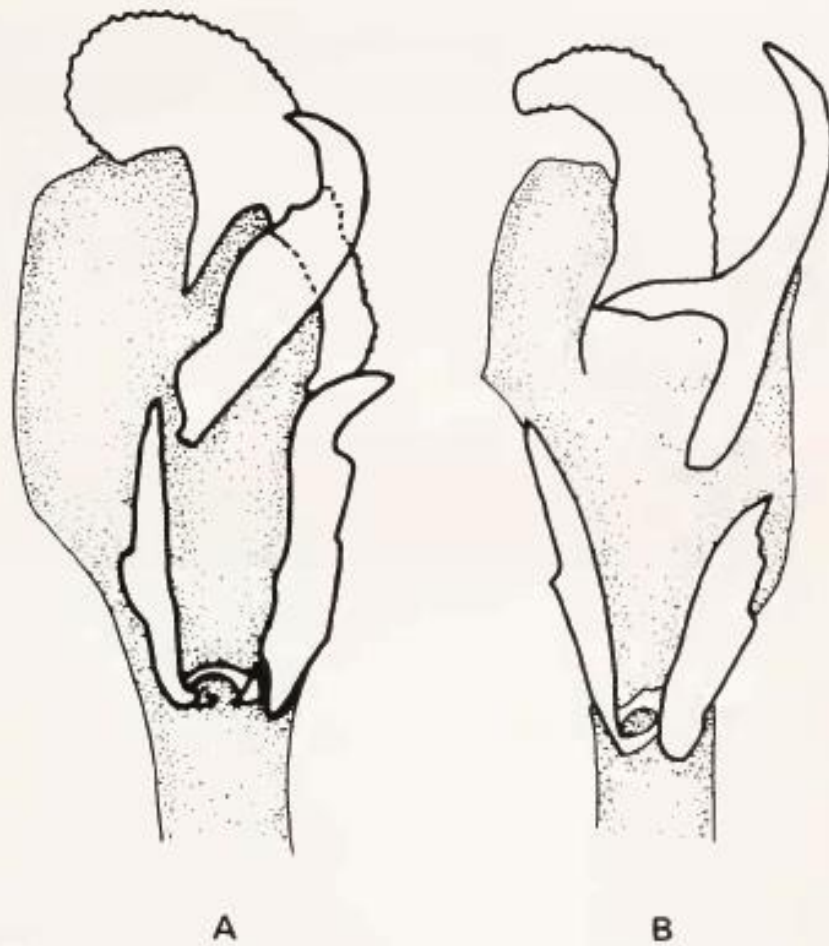


Fig. 1. Internal sac structure of *D. sicuanica* (A) and *D. d. semiviridis* (B).

Taxonomic Discussion. Bechyne (1958) named *D. sicuanica* as a subspecies of *D. decempunctata* Latreille in a key. In that key, he also combined *D. semiviridis* Bowditch as a subspecies of *D. decempunctata*. We collected both *D. d. semiviridis* and *D. sicuanica* in the Cuzco Dept., but their ranges are altitudinally distinct; the former was collected at 1800-2500 M and the latter only above 3150 M (see next section). Usually subspecies rank indicates morphological similarity, so at least some specimens should be hard to place. That is not so with these taxa. Size of elytral punctations, Bechyne's diagnostic character for these taxa, is technically a quantitative trait and hence potentially variable, but we have seen no beetles with intermediate punctation size, and Bechyne mentioned none. We consider the internal sac of the male genitalia to bear the most useful characters for distinguishing *Diabrotica*, so we illustrate here the

armature of internal sacs of *D. sicuanica* and *D. d. semiviridis* (Figs. 1a and 1b). The differences are obvious and should be taken into account by the next revisor; the important point for now is the relationship between *D. sicuanica* and the nominate taxon *D. decempunctata* Latreille. The type of the latter is a damaged female specimen without exact locality data. The pronotal shapes of *D. sicuanica* and the type of *D. decempunctata* Latreille are obviously different, a difference which can be measured. Of 33 female *D. sicuanica* measured, the length to width ratio of the pronotum (mean 0.70, range 0.66 to 0.74) is clearly different than that of the type of the nominate subspecies (0.78).

Collection Sites and Methods

The climate and ecology of Peru is summarized in Gorbman et al. (1961), and we use their designations for ecological regions. The collections above 2500 M are in the Quechua region. Sites between 1000 and 2500 M in the Valle Lares, and the valleys of the Rio Urubamba and Rio Pilcopata, are in the Fluvial Yunga. The collections between 400 and 1000 M are in the Selva Alta, and those below 400 M are in the Selva Baha. The collection sites near Limatambo and Curahuasi in the Rio Apurimac system, while classified in the Quechua, are considerably drier than the other sites in this biological zone.

In most localities, all plants found in flower were examined for beetles on the foliage as well as the floral parts. The great majority of beetles (exceptions are noted) were collected from the flowers or foliage of domestic or wild cucurbits. Collections in the Selva Baha and Selva Alta were from highly diverse vegetation systems, and few beetles were found. Only a total of four days was spent searching at those elevations. Collections in the Fluvial Yunga were usually from tiny garden plots invariably containing domestic cucurbits and sometimes containing corn. From these complex systems in the Selva and Fluvial regions, numbers of beetles collected would mean little.

Collections in the upper elevations (> 2800 M) of the Quechua region, however, were always from row-crop agricultural land or alfalfa monocultures. In maize fields in these upper elevations we saw evidence of altitudinal change in species composition so we conducted a rather intensive search. This search focused on the Urcos, Sacred, Ccorao, and Cuyo Grande valleys and the valley of the Rio Colorado. The Cuyo Grande valley is above, but contiguous with, the Sacred Valley proper and it was fortuitous that we could collect where maize production was continuous between the two valleys. Twenty-seven fields were searched for a minimum of 30 minutes each. Longer search numbers were adjusted to reflect 30 minutes of search. We think those numbers reflect the elevational relation-

ship between *D. sicuanica* and *D. speciosa vigens*.

The beetles will be deposited in the USNM and the collection of the Ministerio de Agricultura y Alimentacion, Lima, Peru.

RESULTS

Elevation of Collections

The species collected at the various sites summarized by elevation levels are presented in Table 1. In the Selva Alta and Selva Baha, 5 species were found, but each was represented in very low numbers. The greatest variety of species (11) was encountered in the Fluvial Yunga where we collected at elevations from 1250 to 2450 M. All these beetles were collected from cucurbit flowers.

In the Quechua region from elevation 2600 M to 3000 M, *D. speciosa vigens* was by far the most common species found. It was collected from maize, cucurbits, common bean (*Phaseolus vulgaris*) foliage and flowers, alfalfa foliage and flowers, and flowers of the weedy legume *Sparteum junceum*. The one other species (new species, *virgifera* group) collected in this elevation range was represented by a series of 31 ♂ beetles found near Limatambo at 2800 M.

Above 2800 M elevation we found two species, *D. s. vigens* and *D. sicuanaca* (Table 2). In the elevation range from 3000 to 3200 M, *D. s. vigens* occurred with *D. sicuanaca*; we never collected the latter taxon at lower elevations. Above 3200 M, *D. sicuanica* was the only species of *Diabrotica* collected. The highest elevation at which we collected *D. sicuanica* was 3500 M (Table 2). In the Valley of the Rio Colorado, where we collected from 2800 to 3500 M, we did not find *D. sicuanica*, but we did find *D. speciosa vigens* up to 3200 M elevation. Incidentally, the Urcos and Anta valleys, where only *D. sicuanica* was collected, have no accessible openings to valleys at lower elevations comparable to the intersection of the Cuyo Grande and Sacred valleys.

Despite the polycultural nature of many of the fields, we found *D. sicuanica* beetles only on maize plants. Furthermore, larvae of *D. sicuanica* were found feeding on maize roots.

Figura 52. *Descripciones de Diabrotica sicuanica* de Krysan et al. (1984)

Tabla 18. *Recuento de Cromosomas de Diabrotica speciosa (Coleóptera, Chrysomelidae)*

Número de Cromosomas por metafase (2n)	Frecuencia de placas metafasicas	
	Cantidad	%
21	50	81.96
20	3	4.92
24	1	1.64
63 poliploides	7	11.48
Total	61	100.00

Tabla 19. *Recuento de Cromosomas de Diabrotica sicuanica (Coleóptera, Chrysomelidae)*

Número de Cromosomas por metafase (2n)	Frecuencia de placas metafasicas	
	Cantidad	%
15	1	1.72
19	50	86.21
20	2	3.45
57 poliploides	5	8.62
Total	58	100.00

GLOSARIO DE TÉRMINOS ENTOMOLÓGICOS

Aedeagus: la parte esclerotizada principal de los genitales masculinos; "Aedeagus" se usa aquí en lugar de "lóbulo mediano de aedeagus"

Antena: (pl. antenas) un par de apéndices segmentados relativamente largos en la parte frontal o superior de la cabeza del escarabajo

Callos antenales: las inflamaciones en la parte frontal de la cápsula de la cabeza sobre las cuencas antenales

Antenomero: "segmento" de antena, más o menos claramente separado

anterior: el más cercano al frente del escarabajo

Apice: (pl. ápices) el extremo distante de una estructura; opuesto a la base apical: de o perteneciente al ápice; opuesto de basal

Bandas: (aquí) máculas transversales en el escarabajo en el elitro

Basal: de o perteneciente a la base, como en el primer segmento basal de un apéndice; opuesto a apical

Clípeo: la parte de la superficie frontal de la cápsula de la cabeza entre la frente y labrum

Coxa: (pl. coxae) la primera parte de la pata del escarabajo, uniendo la pata con el cuerpo del escarabajo

Callo humeral: (pl. calli) tubérculo o nudo más o menos marcado en el ángulo anterobasal del elitro

Disco: el área media y más uniforme de una estructura (generalmente elitro o pronoto) que es visible dorsalmente

Elitro: (pl. elytra) el ala de escarabajo altamente esclerotizada

Epipleuron: (pl. epipleura) una parte lateral de elytron que se pliega debajo y está separada del disco elytral por la carina

Escleritos: (aquí) los ganchos, espinas o placas esclerotizadas en el saco interno

Escutelo: escudo pequeño, generalmente triangular, entre las bases de los élitros

Fémur: (pl. femora) el tercer segmento de la pierna articulada con trocánter (o coxa) y tibia

Filiforme: antenas delgadas con antenómeros de forma similar

Frente: la parte exterior de la cápsula de la cabeza del escarabajo ocupaba el espacio entre el clípeo y los callos antenales

Gena: (pl. genae) la parte de la cabeza del escarabajo debajo y detrás del ojo

Labrum: el "labio superior" de los escarabajos, un esclerito móvil unido debajo del clípeo

Macula: (aquí) marcado por máculas o parches de diferente forma y tamaño, generalmente claramente separados entre sí

Mandíbula: las "mandíbulas superiores" de los escarabajos

Maxila: (pl. maxilares) llamados "mandíbulas inferiores" de escarabajos que se encuentran justo detrás (debajo) de las mandíbulas

Palpo maxilar: par de apéndices segmentados de los maxilares

Mesepimeron: parte posterior del pleuron mesotorácico

Mesepisternum: parte anterior del pleuron mesotorácico antes de la sutura pleural

Mesocoxa: el primer segmento de las piernas medias

Mesofemur: fémur de las piernas medias

Mesosternum: placa ventral del mesotórax

Mesotórax: el segmento medio del tórax del escarabajo

Mesotibia: tibias de las piernas medias

Metafemur: femora de las patas traseras

Metasternum: placa ventral del metathorax

Metatorax: el segmento posterior del tórax del escarabajo

Metatibia : un proceso corto en la cúspide de metatibia

Metatibia: tibias de las patas traseras

Metepimeron: parte posterior del pleuron metatorácico, en *Diabrotica* extendida longitudinalmente entre el borde lateral de la metacoxa y el elytron, generalmente más o menos cubierto por elytron epipleura

Metepisternum: parte anterior del pleuron metatorácico antes de la sutura pleural, generalmente más o menos extendida longitudinalmente

Moniliformes: (aquí) antenas con antenas en forma de cuentas, ligeramente alargadas e hinchadas

Pleuron: (generalmente) la placa lateral de segmentos torácicos en escarabajos

Placa: (pl. plicae) (aquí) un pliegue o cresta en una superficie elytral de escarabajo

Procoxa: el primer segmento de las patas delanteras

Profemur: el fémur de las patas delanteras

Pronoto: noto del protórax con disco pronotal altamente esclerotizado

Prosternum: parte ventral del protórax

Protibia: tibias de las patas delanteras

Placa humeral: (pl. plicae) el pliegue o cresta en el elytron que comienza en el callo humeral y desaparece posteriormente

Segmento articular: (aquí) segmento de la parte articulada del cuerpo del escarabajo (por ejemplo, antena o maxilar palpi) aumentando gradualmente en ancho hacia el centro y posteriormente disminuyendo en ancho

Saco interno del edeagus: la cámara interna del pene del escarabajo invaginado al final del edeagus, que contiene de 2 a 6 ganchos, espinas o placas esclerotizadas en escarabajos diabroticos

Sutura elytral: la línea donde los elytra se unen a lo largo de su longitud

Tarsómero: uno de los segmentos del tarso

Tarso: (pl. tarsi) la quinta parte más distal de la pata del escarabajo, dividida en unos pocos segmentos

Tibia: (pl. tibias) la cuarta parte de la pata del escarabajo articulada con fémur en un lado y con tarso en el otro lado

Vértex: la parte superior de la cápsula de la cabeza detrás de los ojos

GLOSARIO DE TERMINOS DE CITOGENETICA

Autopoliploide Poliploide formado por la duplicación de un único genoma.

Autosoma Cualquier cromosoma que no sea un cromosoma sexual.

Bandas cromosómicas Rayas transversales en los cromosomas de muchos organismos que se ponen de manifiesto mediante procedimientos de tinción.

Bivalente Dos cromosomas homólogos apareados durante la meiosis.

Centrómero Región especializada de DNA presente en todos los cromosomas eucarióticos que actúa como lugar de unión para las proteínas del cinetocoro.

Ciclo celular Conjunto de sucesos que tienen lugar durante la división de las células mitóticas. El ciclo celular comprende el período entre la mitosis (Fase M) y la interfase. La interfase puede subdividirse en G₁, fase S y G₂. la síntesis de DNA tiene lugar durante la fase S. La duración del ciclo celular se regula mediante un período especial en G₁ en el que las células G₁ pueden entrar en una fase de reposo denominada G₀.

Cinetocoro Complejo de proteínas en el centrómero al que se une una fibra del huso acromático.

Citogenética Aproximación citológica a la Genética que consiste principalmente en estudios microscópicos de los cromosomas.

Cromátida Cada una de las dos copias, ambas unidas entre sí, que resultan de la división del cromosoma.

Cromátidas hermanas Par yuxtapuesto de cromátidas que surgen de la replicación de un cromosoma.

Cromatina Sustancia de que están compuestos los cromosomas; hoy sabemos que incluye DNA, proteínas cromosómicas y RNA cromosómico.

Cromómero Pequeña estructura en forma de cuenta de collar visible en un cromosoma durante la profase de la mitosis y la meiosis.

Cromosoma acéntrico Cromosoma que no tiene centrómero.

Cromosoma acrocéntrico Cromosoma que tiene el centrómero localizado muy cerca de uno de los extremos.

Cromosoma dicéntrico Cromosoma con dos centrómeros.

Cromosoma politénico Cromosoma gigante de tejidos específicos de algunos insectos, producidos por un proceso de endomitosis en el que los múltiples complementos de DNA se mantienen unidos en un número haploide de cromosomas.

Cromosoma satélite Cromosoma que, aparentemente, es una adición al genoma normal.

Cromosoma sexual Cromosoma cuya presencia o ausencia está correlacionada con el sexo del portador; cromosoma que desempeña una función en la determinación del sexo.

Cromosoma X Uno de los cromosomas que forman el par de cromosomas sexuales y que se distingue del cromosoma Y.

Cromosoma Y Uno de los cromosomas que forman el par de cromosomas sexuales y que se distingue del cromosoma X.

Cromosomas homeólogos Cromosomas parcialmente homólogos, que generalmente indican que existe entre ellos alguna homología ancestral original.

Cromosomas homólogos Cromosomas que se aparean entre sí durante la meiosis o cromosomas de distintas especies que han mantenido la mayoría de los mismos genes durante su evolución a partir de un ancestro común.

Cromosoma Agrupación lineal de genes y otros DNA, dispuestos de un extremo a otro, que incluye a veces las proteínas y RNA asociados.

Dotación cromosómica Grupo de cromosomas diferentes que lleva el conjunto básico de la información genética de una determinada especie.

Dotación cromosómica Un grupo de cromosomas diferentes que llevan la información genética básica de una especie particular.

Genoma Material genético completo de una dotación cromosómica.

Haploide Célula con una sola dotación cromosómica, u organismo compuesto de tales células.

Heterocromatina constitutiva Regiones cromosómicas con cromatina condensada permanentemente que suelen encontrarse en los telómeros y centrómeros.

Heterocromatina Regiones cromosómicas condensadas y densamente teñidas que se cree que en su mayor parte son genéticamente inertes.

Hetafase Estado intermedio de la división nuclear en el cual los cromosomas se alinean a lo largo del plano ecuatorial de la célula.

Mitosis Tipo de división nuclear, que tiene lugar durante la división de la célula, en la que se producen dos núcleos hijos idénticos al núcleo original.

Mutación cromosómica Cualquier tipo de cambio en la estructura o el número de cromosomas.

Número haploide El número de cromosomas en el conjunto genómico básico de una especie.

Ploidía Número de complementos cromosómicos.

Poliploide Célula que posee tres o más conjuntos de cromosomas u organismo compuesto de dichas células.

Telómero Punta o extremo de un cromosoma.

Teoría cromosómica de la herencia Una teoría unificadora que postula que los patrones de herencia pueden explicarse suponiendo que los genes se localizan en lugares específicos del cromosoma.

.....
Blga. MARÍA MERCEDES DEL CASTILLO ESPINOZA
PRIMER DICTAMINANTE
PRESIDENTE DEL JURADO

.....
Mgt. JORGE ACURIO SAAVEDRA
SEGUNDO DICTAMINANTE

.....
Blga. ELENA EMPERATRIZ MADERA TUPAYACHI
PRIMER REPLICANTE

.....
Mgt. CONCEPCIÓN MARIACA VALENZUELA
SEGUNDO REPLICANTE