



Acta Biológica Colombiana

ISSN: 0120-548X

racbiocol_fcbog@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia Sede

Bogotá

Colombia

SUAREZ GONZALEZ, Luisa Fernanda; DÍAZ TAPIAS, Marco Antonio; RODRIGUEZ
CAICEDO, Daniel; CANTOR RINCÓN, Fernando
MEDICIÓN INDIRECTA DE LA TASA DE CONSUMO DE ADULTOS E INMADUROS DE
Trialeurodes vaporariorum (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) SOBRE FRÍJOL
Acta Biológica Colombiana, vol. 20, núm. 3, septiembre-diciembre, 2015, pp. 99-109
Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319040736007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / ORIGINAL RESEARCH PAPER

MEDICIÓN INDIRECTA DE LA TASA DE CONSUMO DE
ADULTOS E INMADUROS DE *Trialeurodes vaporariorum*
(HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) SOBRE FRÍJOL

Indirect Measurement of the Rate of Consumption of Adult and
Immature of *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae)
On Common Bean

Luisa Fernanda SUAREZ GONZALEZ¹, Marco Antonio DÍAZ TAPIAS¹, Daniel RODRIGUEZ CAICEDO¹, Fernando CANTOR RINCÓN¹

¹ Universidad Militar Nueva Granada. Km 3 vía Cajicá – Zipaquirá. Cajicá, Colombia.

For correspondence. daniel.rodriguez@unimilitar.edu.co

Received: 26th June 2014, **Returned for revision:** 14th January 2015, **Accepted:** 13th May 2015.

Associate Editor: Víctor López Martínez.

Citation / Citar este artículo como: Suarez Gonzalez LF, Díaz Tapias MA, Rodríguez Caicedo D, Cantor Rincón F. Medición indirecta de la tasa de consumo de adultos e inmaduros de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre fríjol. Acta biol. Colomb. 2015;20(3):99-109. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n3.44073>

RESUMEN

La biología y ecología de la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), se encuentra ampliamente documentada. Sin embargo, hasta el momento no hay reportes acerca de la tasa de consumo de alimento por este fitófago, un parámetro necesario para modelos de simulación. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue la medición indirecta del consumo de alimento por el adulto e instares inmaduros de *T. vaporariorum* basado en metodologías encontradas en la literatura científica. La estimación de la tasa de consumo de alimento por adultos se realizó bajo condiciones de laboratorio, utilizando como unidad experimental una planta de fríjol de dos semanas de edad. El experimento consistió de dos tratamientos: (T1) plantas libres de cualquier fitófago y (T2) plantas sometidas a infestaciones con *T. vaporariorum*, cada tratamiento con 20 repeticiones y una réplica en el tiempo de todo el experimento. Se registró el peso fresco diariamente en ambos tratamientos. Para el caso de los inmaduros, la unidad experimental consistió en una hoja cotiledónea de fríjol, infestada con una población determinada de inmaduros de cada instar de mosca blanca teniendo así cinco tratamientos (Instar I, II, III, IV y Control) cada uno con 17 repeticiones. Se registró diariamente el peso fresco de las hojas. Se obtuvo un consumo promedio de alimento por el adulto de $0,277 \pm 0,0042$ mg.día⁻¹. Para los dos primeros instares ninfales se estimó una tasa de consumo de 0,052 mg.día⁻¹, en el tercer instar de 0,14 mg.día⁻¹, y para el cuarto instar de 0,19 mg.día⁻¹. Un adulto de mosca blanca puede consumir en un día seis veces su peso y un inmaduro ocho veces, gracias a su rápido metabolismo y la constante excreción de mielecilla.

Palabras clave: daños fitófago, herbivoría, mosca blanca, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

The biology and ecology of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae), is widely documented. However, so far there are not reports about the rate of consumption of this phytophagous. Therefore, the objective of this research was to measure the food consumption by the adult and immature instars of *T. vaporariorum* based on indirect methodologies found in the literature. The estimate of the food consumption rate by adults was conducted under laboratory conditions, using as experimental units plant beans two weeks old. The experiment consisted of two treatments: (T1) plants free from any phytophagous and (T2) plants subjected to infestation with *T. vaporariorum*, with 20 repetitions each treatment and replicated over time. In the case of the immature individuals, the experimental unit consisted of a bean cotyledon leaf infested with a population of immature individuals of each instar of whitefly, having five treatments (Instar I, II, III, IV and Control) each with 17 repetitions. Fresh weight of leaves was recorded daily. An average food consumption of 0.277 ± 0.0042 mg.day⁻¹ was obtained for the adult. For

the first two nymphal instars food consumption rate of 0.052 mg.day⁻¹ was estimated, for the third instar 0.14 mg.day⁻¹, and for the fourth instar 0.19 mg.day⁻¹. An whitefly adult can consume in a day six times its weight and an immature eight times, this thanks to the rapid metabolism and a constant excretion of honeydew of the species.

Keywords: insect feeding, greenhouse Whitefly, *Phaseolus vulgaris*, phytophagus damage.

INTRODUCCIÓN

Varios estudios sobre la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) han reportado que esta especie se comporta como una plaga cosmopolita de gran importancia en cultivos como el frijol, la habichuela, el tomate (Cardona *et al.*, 1991; Rendón *et al.*, 2001) y la fresa, entre otros (McKee y Zalom, 2009). Este fitófago genera grandes pérdidas económicas para el sector agrícola, debido a los dos tipos de daño que produce sobre la planta: directo e indirecto (Español y Corredor, 1988).

Los daños directos que producen los adultos y los inmaduros, ocurren cuando se alimentan del floema de la planta succionando los foto asimilados por medio de un estilete, estructura que contiene un canal salival que inserta en los tejidos de la hoja sin producir un daño físico en ésta (Gullan y Cranston, 2010). La presión a la que se encuentra la corriente de asimilación, hace que parte del fluido floemático se introduzca a través del estilete hasta el sistema digestivo, donde después de la digestión, el líquido es excretado por el extremo distal del insecto, produciendo la conocida “mielecilla”, la cual es una sustancia compuesta principalmente por azúcares y aminoácidos (Raven *et al.*, 1992). Producto de la alimentación del insecto, la planta sufre un retraso en su desarrollo fenológico, ya que los productos de la fotosíntesis son succionados y removidos de la planta impidiendo el desarrollo y mantenimiento fisiológico de ésta (Byrne *et al.*, 1990; Fransen y van Lenteren, 1993).

Los daños indirectos se deben a que este fitófago al excretar la sustancia azucarada conocida como “mielecilla”, promueve entre otros, el crecimiento del hongo *Cladosporium pernum* sobre el haz de la hoja de la planta (Rendón *et al.*, 2001; Gullan y Cranston, 2010), reduciendo la tasa fotosintética y posteriormente causando la muerte prematura de los tejidos y estructuras (Byrne *et al.*, 1990). Además de esto, se ha reportado que *T. vaporariorum* es un vector de diversos virus como el *Beet pseudoyellows virus* y el *Tomato torrado virus* (Jones, 2003).

Se han realizado diversos estudios sobre la biología y ecología de *T. vaporariorum*. Manzano y van Lenteren (2009) establecieron parámetros biológicos de esta plaga en diferentes cultivares de frijol, encontrando datos de longevidad de 5,9 a 35,5 días a 26 °C y 19 °C respectivamente. Los autores también reportan en el mismo estudio una fecundidad máxima de 127,2 huevos por hembra a 19 °C y una tasa intrínseca de crecimiento máxima de 0,061 a la

misma temperatura. Campos *et al.* (2003) determinaron la duración del ciclo de vida de huevo a adulto en 22,58 días, la longevidad promedio del adulto de 27 días a 23 °C y la tasa intrínseca de crecimiento en 0,1386 en frijol. Osborne (1982) determinó que la temperatura mínima de desarrollo de *T. vaporariorum* es de 8,3 °C y que los tiempos de desarrollo en grados día son 122,9, 63,9, 38,4, 40,1 y 115,4 para los estadios de huevo, primer, segundo, tercer y cuarto instar ninfal respectivamente.

Además de los estudios realizados sobre la biología de *T. vaporariorum*, existen investigaciones sobre el comportamiento de alimentación del adulto, la gran mayoría realizadas por medio de la técnica gráfico de penetración eléctrica o EPG de sus siglas en inglés *Electrical Penetration Graph* (Xu *et al.*, 1994; Lei *et al.*, 1997; Lei *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 1999; Lei *et al.*, 1999). Janssen *et al.* (1989) reportaron por medio del EPG que *T. vaporariorum* presenta cinco comportamientos de penetración del tejido de la planta, todos asociados a un proceso de selección y búsqueda de las células del floema, en donde se destaca que el camino de inserción del estilete del adulto es completamente intercelular, evitando así inducir respuestas de defensa de la planta. Los investigadores concluyen que el proceso desde el comienzo de la penetración hasta cuando alcanza el floema dura aproximadamente media hora.

Lei *et al.* (1999) determinaron por medio del EPG que el tiempo gastado por *T. vaporariorum* en las células del floema (cuando se realiza la absorción de foto asimilados) es de 287 minutos aproximadamente, siendo éste más del 50 % del tiempo gastado en todo el comportamiento de alimentación. Sin embargo, la cantidad de tiempo gastado en la alimentación es dependiente de la planta hospedera y de la cepa de *T. vaporariorum* (Lei *et al.*, 1998).

Los estudios mediante EPG han permitido establecer la duración de la alimentación, pero no la cantidad de foto asimilados sustraídos de la planta o el efecto del fitófago sobre ésta. Por esta razón, en el presente trabajo se diseñó una metodología para calcular de forma indirecta la tasa de consumo de alimento de adultos y estados ninfales de *T. vaporariorum* sobre la planta de frijol bajo condiciones controladas de laboratorio, con el fin de complementar el conocimiento de la biología de esta especie. Este parámetro puede ser utilizado a futuro para entender las relaciones tróficas que existen entre la planta hospedera y la plaga, así como también el efecto fisiológico de la alimentación del fitófago sobre la planta. Este trabajo constituye el primer reporte del cálculo indirecto de las tasas de consumo

de alimento de *T. vaporariorum* por medio de parámetros fisiológicos de la planta, ya que no se ha reportado recientemente una metodología que permita la medida directa del consumo del fitófago sobre la planta siendo la más reciente la reportada por Schowalter (2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Control Biológico de la Universidad Militar Nueva Granada, ubicado en el Municipio de Cajicá (4°56' N, 74°01' W), a una temperatura promedio de 19 °C y humedad relativa de 65 %.

Material biológico

Se sembraron semillas certificadas de frijol variedad ICA-Ceranza, en bandejas plásticas con turba y cascarilla de arroz en proporciones 3:1. Las bandejas fueron ubicadas bajo invernadero en una zona sombreada y se cubrieron con plástico negro. Ocho días después de la siembra fue retirado el plástico y luego de dos a tres días se trasladaron a laboratorio, cuando las plántulas presentaban las hojas primarias.

Las poblaciones de mosca blanca fueron proporcionadas por la cría de plagas de la Universidad Militar Nueva Granada (UMNG). Los insectos usados se tomaban diariamente de la cría para asegurar el uso principalmente de individuos recién emergidos.

Se realizó una modificación a la metodología propuesta por Schowalter (2006), en la que se determinaba de forma indirecta el consumo de alimento por hemípteros, como la diferencia entre la pérdida de peso fresco de plantas atacadas por altas poblaciones de fitófagos y la pérdida de peso de plantas que no estaban sometidas a consumo. Para el mantenimiento y crecimiento de las plantas se siguió la metodología reportada por Villar *et al.* (1998) en el cual se evitan las variaciones del peso de las plantas causada por la variación de los nutrientes en el sustrato, utilizando una solución nutritiva en lugar de suelo para el crecimiento de la planta (Taiz y Zeiger, 2006; Lambers *et al.*, 2008).

Determinación de la tasa de consumo de alimento por adultos

Montaje experimental

Se realizó un ensayo preliminar con el fin de corroborar y estandarizar la propuesta de Schowalter (2006). Este ensayo consistió de dos tratamientos: T1 plantas sin la presencia de adultos de mosca blanca y T2 plantas infestadas con aproximadamente 1000 adultos de mosca blanca, recién emergidos. Cada unidad experimental consistió de una planta de frijol de dos semanas de edad. Las plantas se encontraban completamente libres de plagas y enfermedades antes de comenzar el ensayo. Cada unidad experimental fue puesta dentro de un envase plástico con una solución nutritiva compuesta por 100 g de fertilizante Actisol® fórmula inicial (14-35-15), disueltos en 200 l de agua,

solución formulada especialmente para este experimento ya que limitaba el nitrógeno disponible para el crecimiento de la planta. Esta solución, aunque no suministra la cantidad de nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento óptimo de la planta, permitió su sobrevivencia por un período de tiempo prolongado sin que exista ganancia de peso que dificulte la estimación del consumo de alimento por el fitófago.

Por tratamiento se evaluaron nueve plantas. Para evitar que las plantas control se infestaran con adultos del fitófago, todas las plantas de ambos tratamientos se confinaron dentro de jaulas entomológicas de las mismas dimensiones 61,5 cm x 70 cm x 45 cm, y se dispersaron en el área asignada dentro del laboratorio para garantizar homogeneidad de las unidades experimentales.

Posteriormente se realizó una réplica del ensayo en el tiempo con los mismos tratamientos (T1) y (T2) y el mismo montaje de unidad experimental, pero con mayor número de repeticiones (20 por tratamiento). Al igual que en el ensayo preliminar, la distribución de las plantas se realizó permitiendo una independencia de las unidades experimentales, con el fin de evitar que el efecto del tratamiento se viera influenciado por diferencias en las condiciones de iluminación, ventilación, humedad y temperatura dentro del laboratorio.

Registro de datos

Diariamente se registró el peso fresco de las plantas en ambos tratamientos, retirando el exceso de humedad de cada unidad experimental. En cada toma de datos se tomaba una foto de los adultos en el envés de las hojas para su conteo. Posteriormente se retiraba la mosca blanca del tratamiento dos (T2), y se medía en ambos tratamientos el peso de las plantas por medio de una balanza analítica. Posterior a la toma de peso, las plantas eran infestadas con una nueva población de mosca blanca. Los datos se registraron durante siete días. Por medio de un Datalogger HOBBO® U10 se registró la temperatura y humedad relativa diariamente. Estos datos fueron usados para calcular los grados día durante el experimento por el método lineal (Zalom, 1983) teniendo en cuenta el promedio de temperatura y el umbral mínimo de desarrollo del frijol. Para los cálculos de la tasa de consumo se usaron los datos desde los 12 hasta los 125GD (0-168 horas) y posteriormente se convirtieron a valores de consumo diario usando el promedio de grados días que se acumula en un día. De esta forma el valor de la tasa de consumo se calcula en $\text{g}\cdot\text{gd}^{-1}$ y en $\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$.

Análisis de datos

Con los datos del ensayo preliminar y de la réplica, se realizó una prueba de t-student entre los tratamientos en el día inicial antes de la infestación, para verificar que no hubiera diferencia significativa entre los pesos de ambos tratamientos. Posteriormente, al cabo de los 125 gd, se

realizó un análisis de medidas repetidas con el programa estadístico R versión 3.0.2 (R-Team, 2008; Hothorn y Everitt, 2009) para determinar si había una diferencia en el peso de las plantas entre los tratamientos a lo largo del tiempo. La variable medida fue el peso (g) diario por planta.

Por medio de un análisis de medidas repetidas (Scheiner y Gurevitch, 2001) se estimó la pérdida del peso de cada planta para cada uno de los intervalos de tiempo (diario). Finalmente, el cálculo del consumo de alimento por los adultos de mosca blanca se obtuvo como la diferencia entre la pérdida de peso de las plantas del tratamiento dos (plantas con adultos de mosca blanca) con las plantas del tratamiento uno (plantas control), es decir, la pérdida de peso corregida entre las plantas que eran consumidas por el fitófago y las plantas que no. El cálculo para la pérdida de peso de cada tratamiento se realizó por medio de las fórmulas 1 y 2:

$$Q_T = P_{(i)} - P_{(i-1)} \quad \text{Fórmula 1}$$

$$P_c = Q_{T2} - Q_{T1} \quad \text{Fórmula 2}$$

Donde, Q_T es la pérdida de peso de cada tratamiento, (i) tiempo en días, $P_{(i)}$ es el peso (g) del día del registro, $P_{(i-1)}$ peso (g) del día anterior, P_c la corrección de la pérdida de peso, Q_{T2} pérdida de peso del T2, Q_{T1} pérdida de peso del T1 (control).

El cálculo para el consumo de alimento final de *T. vaporariorum* se hizo por medio de las fórmulas 3 y 4:

$$P_c = (Q_{T2} - Q_{T1}) * GD \quad \text{Fórmula 3}$$

$$Cu = \frac{P_c}{Z} \quad \text{Fórmula 4}$$

Donde, Cu es el consumo de alimento total obtenido por individuo, GD grados día promedio diario, Z es el número promedio de la población de individuos registrado. Todas las ecuaciones utilizadas fueron diseñadas para este experimento con el propósito de estimar la tasa de consumo.

Finalmente, con los datos de peso fresco del segundo experimento, se calculó la tasa de crecimiento absoluto (TAC) de las plantas en los dos tratamientos y se compararon gráficamente. Valores de tasa de crecimiento negativos implican una pérdida de peso de las plantas, de manera similar al ensayo anterior (Fórmula 1). Para el cálculo de la TAC se utilizó la metodología propuesta por Hunt (2002) en la cual los datos de peso fresco tomados diariamente se transformaron por medio del logaritmo natural, con el fin de reducir las fluctuaciones causadas por la toma de datos. Posteriormente se ajustó una regresión polinómica y los parámetros de esta regresión fueron utilizados para

calcular la tasa absoluta de crecimiento por medio de las fórmulas 5 y 6:

$$TAC_{(y)} = \frac{d(PS_y)}{dx} \quad \text{Fórmula 5}$$

$$TAC(y) = e^{(a+bx+cx^2+dx^3)} * (b+2cx+3dx^2) \quad \text{Fórmula 6}$$

Donde: a , b , c , d , son los coeficientes de la regresión polinómica que se asociaron a la variable PS (Peso) y X corresponde al tiempo fisiológico medido en grados día.

Para el cálculo de la tasa de consumo de alimento por la mosca blanca se restó de la TAC del tratamiento con mosca blanca la TAC del tratamiento control, para corregir la pérdida de peso causada por el montaje, de forma similar al experimento anterior (fórmula 2). Los valores de tasa de consumo se pasaron de unidades de grados día a unidad de día usando el promedio de grados día acumulado diariamente durante el experimento (1 día = 13 GD) (fórmula 3). Finalmente para saber el consumo de alimento por individuo se dividió el consumo total de alimento de la población entre el número promedio de individuos presentes en las plantas (fórmula 4).

Determinación de la tasa de consumo de alimento por inmaduros

Montaje experimental

Para la estimación de consumo de alimento por los estados ninfales de *T. vaporariorum* bajo condiciones de laboratorio se realizó un montaje similar al de adultos pero sobre hojas primarias de frijol infestadas con poblaciones de los cuatro estados ninfales del fitófago. Para obtener las hojas de la misma edad con las poblaciones de inmaduros, se realizaron infestaciones de forma escalonada en plantas de tres semanas de edad, con una población de 1000 adultos de *T. vaporariorum* por hoja durante 24 horas. Las infestaciones se realizaron con una frecuencia de cada ocho días (ya que es el tiempo promedio entre los instares ninfales de mosca blanca). De esta forma a la cuarta semana se encontraban todos los instares ninfales (I, II, III y IV) de *T. vaporariorum* en plantas de la misma edad. Por medio de esta metodología se aseguró tener de forma simultánea los cuatro instares en el momento del montaje del experimento. Las hojas cotiledóneas con las poblaciones de inmaduros de la mosca blanca fueron removidas de la planta desde el peciolo, realizando cortes transversales con el fin de preservar la estructura de los vasos conductores.

Para que las hojas se mantuvieran turgentes y evitar la pérdida de agua, se agregó a un tubo de Eppendorf de 2,0 ml agua destilada estéril (ADE). El peciolo de cada hoja fue puesto en el interior del tubo. Se realizó un diseño completamente al azar con 14 repeticiones por tratamiento, en donde se evaluaron cinco tratamientos correspondientes a cada instar de mosca blanca junto con un control

consistente de hojas sin individuos. Se registró el peso en gramos (g) de cada una de las hojas por tratamiento y se realizó el conteo de la población de inmaduros de cada unidad experimental utilizando un estereoscopio marca Leica modelo Stemi 1000 a 50X.

Análisis de Datos

Para calcular la tasa de consumo de alimento por los inmaduros de mosca blanca se determinó la pérdida de peso de las hojas registradas diariamente en cada uno de los tratamientos. Debido a que en este experimento no se podía homogenizar el peso de las hojas infestadas en el montaje, en el análisis se utilizaron porcentajes de peso de cada tratamiento con respecto al primer día. Estos porcentajes se graficaron y se compararon cada uno contra el control por medio de un análisis de medidas repetidas. Posteriormente se calculó la tasa de consumo con los datos recopilados de la misma forma que en el experimento de adultos comparando cada tratamiento con el control corrigiendo la pérdida de peso.

RESULTADOS

Consumo de alimento por adultos de *T. vaporariorum*

Como se explicó en la metodología de este ensayo, las condiciones de las plantas fueron restrictivas, usando como sustrato una solución de agua y actisol (14-35-15), lo que resultó en un crecimiento limitado de las plantas de frijol.

Con el fin de comparar la pérdida de peso entre los tratamientos (T1: plantas libres del fitófago versus T2: plantas con adultos de mosca blanca) (Fig. 1A), se homogenizó el peso de las plantas para los dos tratamientos el día del montaje, verificado por una prueba estadística de T Student que mostró que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($t = 0,92$; $gl = 8$; $p < 0,38$). La tendencia del peso de las plantas mostró que para el tratamiento de plantas no infestadas, el peso se mantuvo entre 4,22 y 4,6 g, con una reducción del peso desde los 68 hasta los 125 GD. Por lo tanto la diferencia de peso entre cada muestreo da una idea del promedio de pérdida de peso en condiciones limitantes sin la presencia del fitófago. En el caso del tratamiento de plantas con el fitófago, se presentó una reducción mayor en el peso llegando a un peso final de 3,5 g.

La prueba de medidas repetidas determinó que existe un efecto del tiempo sobre el peso de las plantas ($F = 32,41$; $gl = 4$; $p = < 0,0001$) y una diferencia significativa entre los tratamientos ($F = 17,23$; $gl = 16$; $p = 0,0008$). Se observó que también existe un efecto significativo de la interacción Tiempo/Tratamiento ($F = 2,54$; $df = 4$; $p = 0,048$), ya que en los primeros días del experimento las plantas contaban con el mismo peso pero después de los 40 GD las plantas de los tratamientos comenzaron a mostrar una diferencia en la pérdida de peso (Fig. 1A).

Para realizar el cálculo del consumo se tuvo en cuenta la pérdida de peso diaria de los días que presentaron diferencias

entre los tratamientos según la prueba estadística y la tendencia de disminución de peso que se observa en la Fig. 1A. Entre estos días se calculó el promedio de la pérdida de peso diario y la tasa de consumo usando las formulas enunciadas anteriormente. El número de adultos promedio que se encontró en las plantas fue de 1001,5 individuos, dando un valor de consumo de alimento de $0,2657 \pm 0,0001$ mg.día⁻¹ por adulto de mosca blanca para el ensayo preliminar.

En el experimento con mayor número de repeticiones, la prueba de t-student a dos colas mostró que no había diferencias significativas entre los tratamientos al momento del montaje ($t = 0,93$; $gl = 19$; $p = 0,364$). Los datos de peso mostraron una tendencia decreciente en el tiempo (Fig. 1B). Esto se debe principalmente al factor limitante en nutrientes para las plantas. La Fig. 1C muestra que entre los 69 y 234 GD existe una estabilización del peso de las plantas sin presencia del fitófago en un valor de 4,0 g aproximadamente, sin embargo, para las plantas del tratamiento con la presencia del fitófago se evidenció que el peso no se estabilizaba sino que por el contrario disminuía hasta llegar a los 3,22 g al final del experimento (Fig. 1D).

Al igual que en el primer montaje, la prueba de medidas repetidas mostró que existe efecto del tiempo sobre el peso de la planta ($F = 33,03$; $gl = 13$; $p = 0,0001$) y que una diferencia significativa ocurrió entre los tratamientos en el tiempo ($F = 7,04$; $gl = 13$; $p = 0,0001$). Esta diferencia fue marcada desde los 94 grados día (Fig. 1B) tiempo en el cual la curva de peso de las plantas del tratamiento con la presencia de la plaga, muestra una tendencia hacia el descenso, mientras que la del tratamiento sin presencia de la plaga se mantiene estable.

La Fig. 2 muestra la Tasa Absoluta de Crecimiento (TAC) calculada a partir de la metodología propuesta debido a que las fluctuaciones en la pérdida de peso en ambos tratamientos para este ensayo dificultan la estimación de la tasa de consumo por medio de la diferencia entre los promedios de la pérdida de peso de ambos tratamientos, como se realizó en el ensayo anterior. La TAC se utilizó no sólo para calcular la tasa de consumo, sino también como herramienta para corroborar que las plantas de los tratamientos estuvieran bajo condiciones limitantes y no hubiera un crecimiento que pudiera dificultar la estimación de la tasa de consumo de alimento de mosca blanca.

La TAC mostró valores negativos para ambos tratamientos debido a que las plantas no estaban acumulando peso sino que por lo contrario lo estaban perdiendo en el tiempo, pero con una tasa cada vez menor hasta aproximarse a cero. La TAC para las plantas sin presencia del fitófago obtiene valores positivos después de los 180 grados día, tiempo en el cual la planta ha dejado de perder peso y comienza a acumular nutrientes que permiten que genere nueva biomasa (Fig. 2). En este punto se puso fin al experimento.

La tasa de consumo en este experimento se estimó como la diferencia entre la TAC de las plantas con mosca blanca

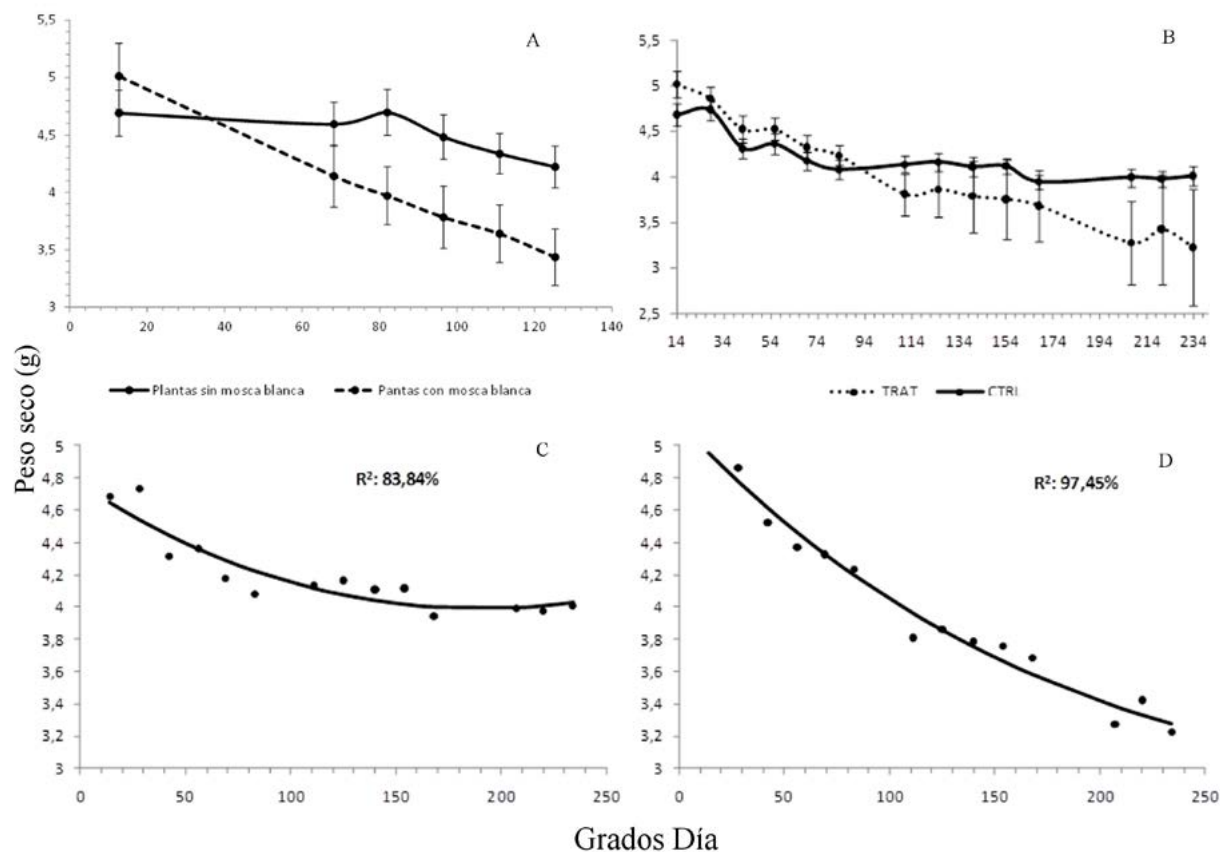


Figura 1. Relación de la pérdida de peso de las plantas durante los dos ensayos. A. Tendencia del peso en gramos (g) de las plantas de frijol bajo dos tratamientos T1 (plantas control) y T2 (plantas con adultos de mosca blanca) primer ensayo. B. Tendencia del peso segundo ensayo. Ajuste de regresión pérdida de peso para plantas control (C) y plantas con mosca blanca (D) del segundo ensayo. Barra: Error estándar.

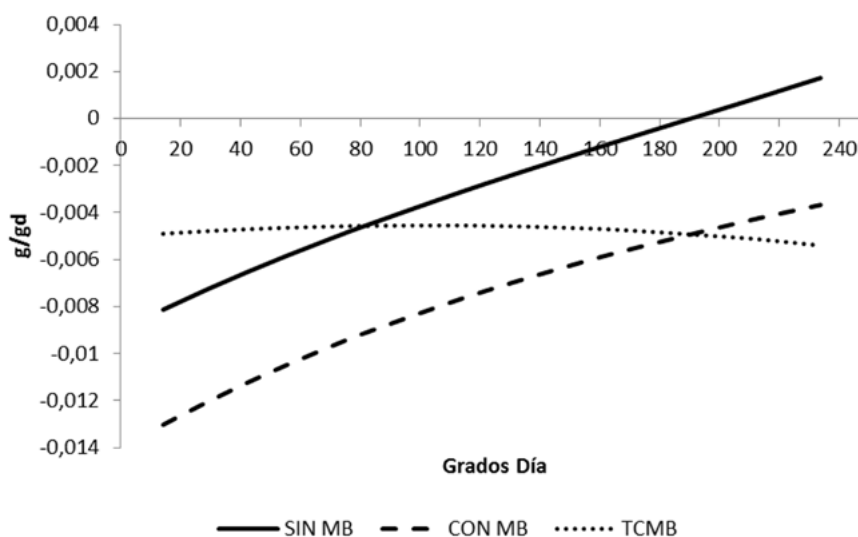


Figura 2. Tasa absoluta de crecimiento para cada tratamiento T1: SIN MB Plantas sin mosca blanca (Control), T2: CON MB Plantas con la presencia del fitófago. La diferencia entre las tasas (TCMB) representa la tasa de consumo de mosca blanca (*T. vaporariorum*) medida en g/gd de una población aproximada de 224 individuos.

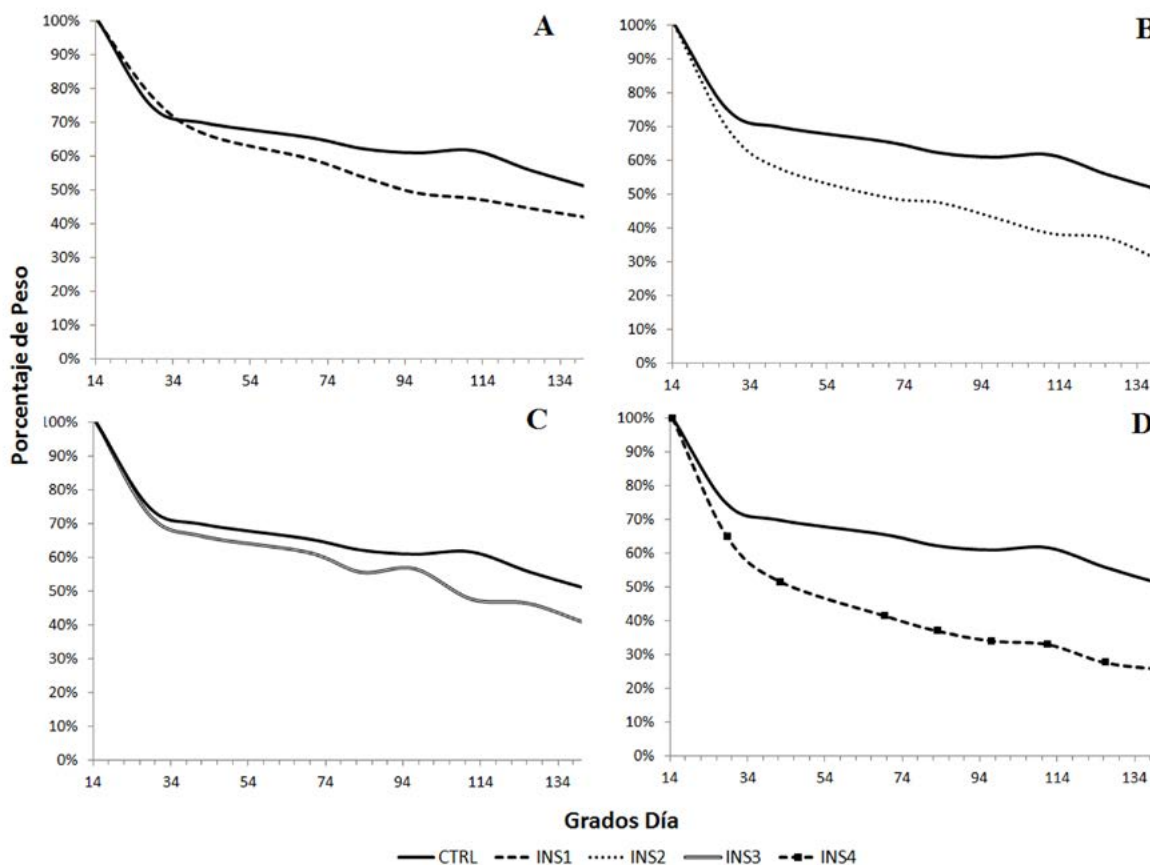


Figura 3. Tendencia de la disminución del porcentaje de peso de hojas de frijol con inmaduros de mosca blanca (*T. vaporariorum*) comparado con el tratamiento control. CTRL plantas sin mosca blanca. A. Instar 1 (2445 indiv. aprox.), B. Instar 2 (1872 indiv. aprox.), C. Instar 3 (710 indiv. aprox.), D. Instar 4 (800 indiv. aprox.).

y la TAC de las plantas sin mosca blanca (Fig. 2, curva TCMB). Esta diferencia enmarca la pérdida corregida de peso de las plantas al ser atacadas, lo cual es indirectamente equivalente al consumo de alimento de la mosca blanca. El dato final se calculó como el promedio de los datos de la curva de consumo (Fig. 2) convertidos de gramos/grados día (g/gd) a miligramos/día (mg/d) (un día = 13 grados día) y dividiéndolo por el número promedio de adultos registrados durante el experimento que fue de 224 individuos.

Finalmente, la tasa de consumo de alimento por el adulto de mosca blanca se estimó con un valor promedio de $0,277 \pm 0,0042$ mg.día⁻¹ por adulto. Comparando este valor de consumo con el que se obtuvo en el ensayo preliminar ($0,265 \pm 0,0001$ mg.día⁻¹ por adulto) se puede evidenciar que los valores son similares. Debido a que el último ensayo se realizó con un mayor número de muestras se pudo verificar que el dato estimado es confiable.

Consumo de alimento por inmaduros de *T. vaporariorum*

Con el fin de homogenizar los valores de pérdida de peso en los cinco tratamientos se calcularon los porcentajes de

peso diario con respecto al día inicial y se realizó una gráfica comparativa (Fig. 3). La curva de pérdida de peso de las hojas del tratamiento control mostró que desde los 34 hasta los 94 GD se alcanzó una estabilización del peso de la hoja entre un 60 y 70 % del peso inicial (Fig. 4), posteriormente se evidencia un crecimiento del peso y una caída final para llegar a un peso correspondiente al 50 % del inicial. En este punto se puso fin al experimento.

Cómo se observa en la Fig. 3 el tratamiento control tiene un menor porcentaje de pérdida de materia fresca comparado con los demás tratamientos, lo cual implica que en los tratamientos correspondientes a las ninfas de primer, segundo, tercer y cuarto instar, existe una reducción por efecto del consumo de alimento de mosca blanca. Lo cual se apoyó en el análisis de medidas repetidas en donde se encontró un efecto del tiempo sobre el peso tanto para el control como los tratamientos, así como también diferencias entre el control y cada uno de los tratamientos (Tabla 1.).

Para los tratamientos correspondientes al primer y segundo instar se calculó un consumo de $0,0516 \pm 0,003$ y $0,0523 \pm 0,005$ mg.día⁻¹ por ninfa, con una población

Tabla 1 Análisis de medidas repetidas comparando el tratamiento control (hojas libres de mosca blanca) con cada uno de los tratamientos.

| Comparación | Fuente de error | Grados de libertad | Valor de F | Probabilidad (0,05) |
|-------------------|--------------------|--------------------|------------|---------------------|
| Control Vs Ninfa1 | Tiempo | 6 | 63,94 | < 0,0001 |
| | Tiempo*Tratamiento | 6 | 5,00 | 0,0001 |
| Control Vs Ninfa2 | Tiempo | 6 | 72,32 | < 0,0001 |
| | Tiempo*Tratamiento | 6 | 4,08 | 0,0112 |
| Control Vs Ninfa3 | Tiempo | 6 | 89,36 | < 0,0001 |
| | Tiempo*Tratamiento | 6 | 8,40 | < 0,0001 |
| Control Vs Ninfa4 | Tiempo | 6 | 119,63 | < 0,0001 |
| | Tiempo*Tratamiento | 6 | 16,12 | < 0,0001 |

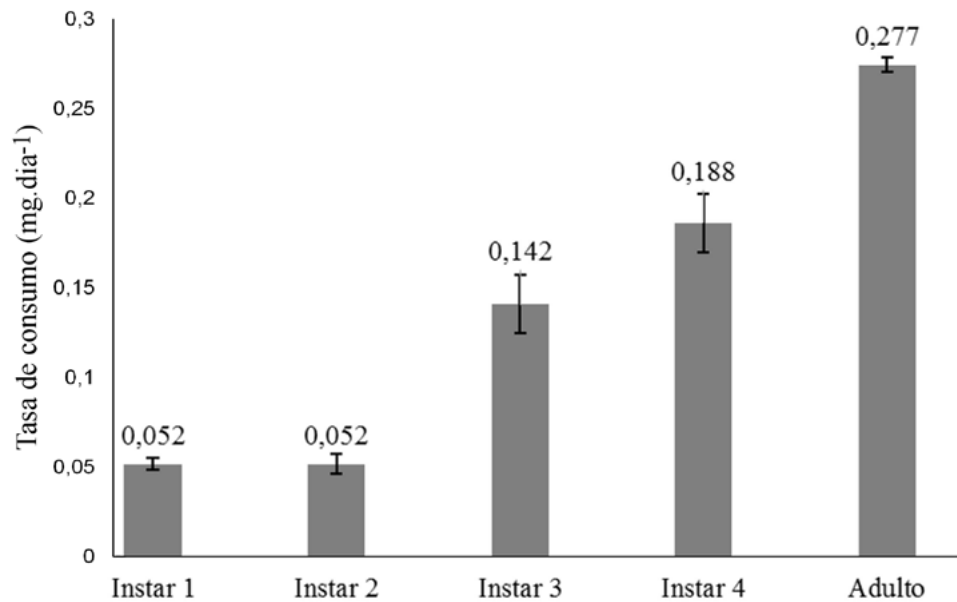


Figura 4. Tasas de consumo de mosca blanca (*T. vaporariorum*) (mg.día⁻¹) por individuo para cada uno de los estadios inmaduros. Barras error estándar.

promedio aproximada de 2445 y 1872 ninfas de mosca blanca respectivamente. Este consumo fue calculado a partir de la corrección del porcentaje de pérdida de peso de materia fresca de las hojas del tratamiento control menos el peso de las plantas que estaban sometidas a las ninfas de mosca blanca. Al final del experimento el tratamiento uno mostró una pérdida de 10 % de peso con respecto al control, para el tratamiento dos, esta diferencia fue del 20 %.

Por el contrario, para el tratamiento tres (tercer instar de mosca blanca) se encontró una diferencia del 10 % con las plantas control al final del experimento, lo cual se debe a que el número de individuos en este tratamiento era de aproximadamente 710 ninfas, es decir que menos ninfas de tercer instar causan un daño similar que 2445 ninfas de primer instar. El consumo calculado para este instar fue de $0,141 \pm 0,017$ mg.día⁻¹ por ninfa el cual se evidenció desde los 34 GD hasta los 126 GD.

En el último instar de mosca blanca, que corresponde al tratamiento cuatro (ninfa de cuarto instar), el consumo fue mayor, con un valor de $0,188 \pm 0,016$ mg.día⁻¹ por ninfa calculado a partir de una población de 800 individuos. La diferencia en la pérdida de materia fresca con respecto al control es de más del 25 % luego de los 114 GD.

DISCUSIÓN

Las tasas de consumo calculadas en este trabajo mediante una metodología indirecta, permiten tener una mejor comprensión de las relaciones tróficas entre el fitófago y la planta, de tal manera que se puede cuantificar el daño causado por la herbívora de esta plaga de importancia agrícola para el país.

En el tratamiento T1 del experimento de adultos no hubo aumento significativo en la materia fresca total de la planta aunque se observó que a los 96 GD las plantas

intentaban generar nuevos folíolos sin importar que tuvieran una limitación de nutrientes en la solución en la que se encontraban. Este hecho se debe a que la planta, en ausencia de nuevos foto asimilados, es capaz de movilizar recursos desde las reservas hacia las nuevas estructuras vegetativas (Taiz y Zeiger, 2006; Lambers *et al.*, 2008).

Las plantas para el tratamiento con la presencia de adultos presentaron una reducción de la turgencia de las hojas, lo cual afectó el sistema vascular reduciendo la capacidad de acumular foto-asimilados para el crecimiento y mantenimiento de la planta. Esta reducción de la turgencia se dio a pesar de que las plantas estaban en una solución nutritiva, difiriendo con el tratamiento control, en el cual las plantas permanecieron turgentes. Es posible que al retirar los foto asimilados de la planta, los adultos de mosca blanca están causando un desbalance osmótico en los tejidos de la hoja (Schowalter, 2006; Gullan y Cranston, 2010).

Hasta los 100 GD, la pérdida de peso para los dos tratamientos fue la misma, pero luego de este momento las plantas con adultos de mosca blanca presentan una caída más notoria. El consumo de alimento por los adultos se inicia en las primeras 24 h de interacción entre la plaga y la planta (Lei *et al.*, 1999), sin embargo la caída en el peso se da por la remoción continua de foto asimilados después de un determinado número de grados día (Díaz, 2011).

El tejido criboso del floema está conectado por medio de células que se comportan como secciones de canales formando el haz vascular en una estructura tubular. Normalmente, cuando las plantas vasculares detectan un daño en las células del floema o cuando la presión del fluido se reduce, las plantas pueden cerrar secciones del tejido criboso para evitar el efecto de “sangrado” (Taiz y Zeiger, 2006). Sin embargo, en el caso de un ataque por mosca blanca, las plantas no responden a la acción del fitófago, debido a que éste evita activar los mecanismos de defensa utilizando un canal salivar que le permite entrar entre los tejidos de la planta sin producir daño mecánico. Además de esto, se ha reconocido que dentro de la fisionomía del aparato bucal de las moscas blancas existe un órgano que hace las veces de válvula, la cual permite regular la cantidad de fluido que entra por presión al estilete (Stansly y Naranjo, 2010).

El valor de consumo de alimento por el adulto estimado en este trabajo fue de 0,265 mg.día⁻¹ el cual es más alto que el peso de un individuo reportado en otras especies de mosca blanca. No existen reportes de peso de adultos o de instares de *T. vaporariorum*, sin embargo, debido a que la morfometría de esta mosca blanca es similar a la de otras especies, es posible asumir que los valores de peso de individuos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) son cercanos a los de *T. vaporariorum* (Carapia-Ruiz y Castillo-Gutiérrez, 2013). Chu *et al.* (2003) reportaron que el peso de individuos adultos de *B. tabaci* es de 0,039 mg y 0,017 mg para la hembra y macho adulto respectivamente. El mismo patrón sucede con los instares, ya que los mismos autores reportaron valores

de peso para el primer, segundo, tercer y cuarto instar de 0,001, 0,0036, 0,0084 y 0,03 mg respectivamente, siendo estos valores menores a las tasas de consumo de alimento de los mismos instares encontrados en este trabajo; 0,052, 0,052, 0,14 y 0,19 mg.día⁻¹ respectivamente.

Este fenómeno en el que la tasa de consumo de alimento en peso es mayor que el peso del individuo se debe a que las moscas blancas, después de haber hecho la inserción en el tejido de la planta, permanecen alimentándose y excretando los productos de la digestión continuamente en el día. Lei *et al.* (1997) reportaron que la tasa de excreción está correlacionada al periodo de alimentación, es decir que después de la inserción del estilete, la mosca blanca permanecerá excretando mielecilla mientras se esté alimentando. Los autores reportan un desfase de dos horas entre el comienzo de la alimentación y el comienzo de la excreción, tiempo en el cual la mosca blanca realiza la digestión. Hong y Rumei (1993) reportaron que un evento de alimentación de un adulto puede durar de 20 a 22 h, mientras que para el tercer y cuarto instar puede sobrepasar las 24 h.

Este comportamiento de continua alimentación y excreción se debe a que la composición del fluido del floema es rico en azúcares y en aminoácidos no esenciales para el desarrollo, así que la mosca blanca debe extraer una gran cantidad de fluido para poder cubrir sus requerimientos alimenticios (Hong y Rumei, 1993). Por esta razón la tasa de alimentación medida en este trabajo en unidades de mg.día⁻¹ es mucho más grande que el peso de los individuos. Hasta el momento se desconoce qué proporción del total de fluido consumido es efectivamente usado para el metabolismo del insecto.

Las metodologías propuestas permiten replicar este trabajo en otras plantas hospederas de este fitófago y constituyen el primer reporte en la literatura de una medición del efecto del consumo de alimento de la plaga sobre la planta. Teniendo en cuenta que la mosca blanca remueve foto asimilados de la planta, esta metodología sería la única que permitiría puntualmente estimar el efecto de esta remoción. Los datos arrojados por este trabajo permitirán construir modelos de simulación que tengan en cuenta los intercambios energéticos que se producen en forma de biomasa desde un nivel trófico inferior a uno superior.

CONCLUSIONES

La tasa de consumo de alimento por adultos de *T. vaporariorum* se estimó por medio de dos análisis diferentes; el primero como la diferencia en el promedio de pérdida de peso entre las plantas con y sin fitófago, y el segundo como la diferencia entre la tasa de crecimiento absoluto de las plantas en los dos tratamientos. En cualquiera de los dos casos, el valor del consumo fue similar, lo cual evidencia que la metodología utilizada es la apropiada para la estimación indirecta de la tasa de consumo de alimento por *T. vaporariorum*.

El valor estimado de consumo de alimento para todos los estados de mosca blanca representan un valor teórico mínimo ya que para el caso de los adultos, las plantas se encontraban en condiciones limitantes de nutrientes, ofreciendo al fitófago una calidad baja de nutrientes. Para el caso de los inmaduros la remoción de la hoja de la planta también limita la oferta de nutrientes de ésta hacia los fitófagos, por lo cual el valor estimado de tasa de consumo podría ser mayor si se ofrecen mejores condiciones.

Comparando los valores de la tasa de consumo de alimento y el peso aproximado de individuos adultos, se puede concluir que la mosca blanca puede consumir en un día seis veces su peso, gracias a su rápido metabolismo y la constante excreción de mielecilla. Para los individuos inmaduros esta proporción puede ser de ocho veces su peso en promedio.

Cabe resaltar que los valores de tasa de consumo de alimento para cada estadio de *T. vaporariorum* fueron obtenidos por medio de una metodología indirecta, ya que el estudio del consumo directo de alimento presenta muchas dificultades debido al tamaño de la especie, y a que ésta no es un removedor de biomasa como en el caso de otros fitófagos, sino un secuestrador de foto asimilados.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada por la financiación del proyecto CIAS 1175, ejecutado durante el año 2013 que dio lugar a este trabajo de investigación.

REFERENCIAS

- Byrne D, Bellows T, Parrela M. Whiteflies in Agricultural systems. In: Gerlink D, editor. Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management. New Castle, UK: Athenaum; 1991. p. 227–251.
- Campos OR, Crocomo WB, Labinas AM. Comparative biology of the whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) (Hemiptera-Homoptera: Aleyrodidae) on soybean and bean cultivars. *Neotrop Entomol.* 2003;32:133–138. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2003000100020>
- Carapia-Ruiz VE, Castillo-Gutiérrez A. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta Zool Mex.* 2013;29:178–193.
- Cardona C, Prada P, Rodríguez A, Ashby J, Quiros C. Bases para el establecimiento de un programa de Manejo Integrado de Plagas en habichuela en la provincia de Sumapaz (Colombia). Palmira: ICA; 1991. p. 78.
- Chu C, Buckne JS, Karuc K, Freeman TP, Nelson DR, Hennebeny TJ. A survey of sizes and weights of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype life stages from field grown cotton and cantaloupes. *Insect Sci.* 2003;10(2):121–129. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7917.2003.tb00374.x>
- Díaz MA. Contribución a la estandarización del proceso de producción de *Encarsia formosa*, parasitoide de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en plantas de frijol bajo invernadero (tesis de pregrado). Cajicá: Departamento de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada; 2011. p. 54.
- Español JA, Corredor D. Contribución al estudio de la biología y capacidad de control de *Encarsia formosa* Gahan en la Sabana de Bogotá. *Agron Colomb.* 1988;5(1-2);97–102.
- Fransen JJ, van Lenteren JC. Host selection and survival of the parasitoid *Encarsia formosa* on greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, in the presence of hosts infected with the fungus *Aschersonia aleyrodinis*. *Entomol Exp Appl.* 1993;69(3):239–249. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01747.x>
- Gullan PJ, Cranston PS. The Insects: An Outline of Entomology. 4th ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons; 2010. p. 289. Doi: <http://dx.doi.org/10.1093/ae/41.3.188>
- Hong L, Rumei X. Studies on honeydew excretion by greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) on its host plant, *Cucumis sativus*. *J Appl Entomol.* 1993;115(1-5):43–51. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.1993.tb00362.x>
- Hothorn T, Everitt BS. A Handbook of Statistical Analyses Using R. 2 Ed. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC; 2009. p. 27. Doi: <http://dx.doi.org/10.1201/9781420010657>
- Hunt R. A Modern Tool for Classical Plant Growth Analysis. *Ann Bot.* 2002;90(4):485–488. Doi: <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcf214>
- Janssen JAM, Tjallingii WF, Lenteren JC. Electrical recording and ultrastructure of stylet penetration by the greenhouse whitefly. *Entomol Exp Appl.* 1989;52(1):69–81. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1570-7458.1989.tb01250.x>
- Jiang Y, Lei H, Collar J. Probing and feeding behavior of two distinct biotypes of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato plants. *J Econ Entomol.* 1999;92(2):357–366. Doi: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/92.2.357>
- Jones DR. Plant Viruses Transmitted by Whiteflies. *Eur J Plant Pathol.* 2003;109(3):195–219.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL. Plant Physiological Ecology. New York: Springer New York; 2008. p. 328–367.
- Lei H, Tjallingii WF, Lenteren JC. Effect of tethering during EPG recorded probing by adults of the greenhouse whitefly. *J Appl Entomol.* 1997;(1-5)121:211–217. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.1997.tb01395.x>
- Lei H, Tjallingii WF, van Lenteren JC. Probing and feeding characteristics of the greenhouse whitefly in association with host-plant acceptance and whitefly strains. *Entomol Exp Appl.* 1998;88(1):73–80. Doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00348.x>

- Lei H, van Lenteren JC, Tjallingii WF. Analysis of resistance in tomato and sweet pepper against the greenhouse whitefly using electrically monitored and visually observed probing and feeding behaviour. *Entomol Exp Appl*. 1999;92(3):299-309. Doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00551.x>
- Manzano MR, van Lenteren JC. Life history parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) at different environmental conditions on two bean cultivars. *Neotrop Entomol*. 2009;38(4):452-8. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2009000400002>
- McKee CJ, Zalom FG. A model of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) population development and management on Camarosa variety strawberry plants. *J Asia Pac Entomol*. 2009;12(3):117-122. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aspen.2009.01.005>
- Osborne LS. Temperature-Dependent Development of Greenhouse Whitefly and Its Parasite *Encarsia formosa*. *Environ Entomol*. 1982;11(2):483-485. Doi: <http://dx.doi.org/10.1093/ee/11.2.483>
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. *Biología de las plantas*. 2nd ed. New York: Reverte; 1992. p. 493-513.
- Rendón F, Cardona C, Bueno JM. Pérdidas causadas por *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela en el Valle del Cauca. *Rev Colomb Entomol*. 2001;27(1):39-43.
- Ihaka R, Gentleman R. R: A language for Data Analysis and Graphics. *J Comput Graph Stat*. 1996;5(3):299-314.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2013 [actualizado 2013-05-16]; p. 1731. Disponible en <http://www.r-project.org/>
- Scheiner S, Gurevitch J. *Design and Analysis of Ecological Experiments*. 2nd ed. London: Oxford University Press; 2001. p. 134-157. Doi: <http://dx.doi.org/10.2307/1269183>
- Schowalter TD. *Insect Ecology: An Ecosystem Approach*. 3rd ed. London: Academic Press; 2006. p. 359-396. Doi: <http://dx.doi.org/10.1086/590579>
- Stansly PA, Naranjo SE. Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest. Dordrecht: Springer Netherlands; 2010. p. 109-147. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-2460-2>
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiología vegetal*. 3 ed. Sunderland: Universitat Jaume; 2006. p. 1129.
- Villar R, Veneklaas EJ, Jordano P, Lambers H. Relative growth rate and biomass allocation in 20 Aegilops (Poaceae) species. *New Phytol*. 1998;140(3):425-437.
- Xu R, Zhang Y, Ma W. The probing and feeding process of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* westwood. *Insect Sci*. 1994;1(1):67-76. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7917.1994.tb00196.x>
- Zalom F, Goodell P, Wilson L, Barnett W, Bentley W. Degree-Days: The Calculation and Use of Heat Units in Pest Management. University of California Division of Agriculture and Natural Resources Leaflet. 1983: 21373(1):1-10.

