



Revista de la Sociedad Entomológica
Argentina

ISSN: 0373-5680

pdellape@fcnym.unlp.edu.ar

Sociedad Entomológica Argentina
Argentina

Bardi, Christian; Lange, Carlos E.

Distribución geográfica, prevalencia e intensidad de las infecciones de Gregarina
ronderosi (Eugregarinorida: Gregarinidae) en *Dichroplus elongatus* (Orthoptera:
Acrididae)

Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, vol. 75, núm. 1-2, 2016, pp. 3-9
Sociedad Entomológica Argentina
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=322046181001>

- 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

Distribución geográfica, prevalencia e intensidad de las infecciones de *Gregarina ronderosi* (Eugregarinorida: Gregarinidae) en *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae)

BARDI, Christian & Carlos E. LANGE

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), CCT La Plata, CONICET-UNLP-CICPBA, La Plata, Argentina. E-mail: bardi_c@yahoo.com.ar

Geographic distribution, prevalence, and infection intensity of *Gregarina ronderosi* (Eugregarinorida: Gregarinidae) in *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae)

ABSTRACT. *Gregarina ronderosi* is an obligate parasite of the digestive tract of the pest grasshopper *Dichroplus elongatus*. It is one of only two eugregarines of Argentine grasshoppers described with their complete life cycles. Given the lack of knowledge regarding fundamental epizootiologic aspects of eugregarine infections in Argentine grasshoppers, the objective was to initiate the recording of the geographic distribution of *G. ronderosi* in the Pampas region, its natural prevalence, and the intensity of infections under natural conditions. To this end, 4084 individuals of *D. elongatus* were collected at 42 localities in the Pampas region between 2008 and 2012. Mean prevalence of *G. ronderosi* for all localities with presence (17 localities) was $29.7 \pm \text{SE } 6.6\%$ ($n = 1071$). Infected individuals ($n = 396$) were categorized according to infection intensity: three (0.8%) had very heavy infections, 80 (20%) showed heavy infections, 210 (53%) moderate, and 103 (26%) light ones. The known geographic distribution of *G. ronderosi* was expanded, high prevalence events suggesting the occurrence of epizootics were recorded, and intense infections categorized as very heavy and heavy were detected under natural conditions for the first time.

KEY WORDS. Melanoplinae. Biocontrol. Grasshopper. Apicomplexa. Pest.

RESUMEN. *Gregarina ronderosi* es un parásito obligado del tracto digestivo del acrídido plaga *Dichroplus elongatus* y una de las únicas dos eugregarinas de acrídidos argentinos descritas con su ciclo de vida completo. Dada la falta de conocimiento acerca de aspectos epizootiológicos fundamentales de las infecciones causadas por eugregarinas en acrídidos de Argentina, el objetivo de esta contribución es iniciar el registro de la distribución geográfica de *G. ronderosi* en la región Pampeana, su prevalencia natural y la intensidad de las infecciones en condiciones naturales. Para ello, se colectaron ejemplares de *D. elongatus* (2008 – 2012) en distintos puntos de la región Pampeana. Se obtuvieron y analizaron un total de 4084 ejemplares provenientes de cuarenta y dos localidades. La prevalencia promedio de *G. ronderosi* para el total de localidades con presencia (diecisiete localidades) fue de $29,7 \pm \text{EE } 6,6\%$ ($n = 1071$). El total de individuos infectados ($n = 396$) fue categorizado respecto de la intensidad de las infecciones: tres (0,8%) presentaron infecciones muy fuertes, ochenta (20%) fuerte, doscientos diez (53%) moderadas y ciento tres (26%) infecciones leves. Se ha ampliado la distribución geográfica conocida, se han registrado prevalencias elevadas que sugieren la ocurrencia de epizootias y se han registrado por primera vez en condiciones naturales infecciones de *G. ronderosi* categorizadas como Fuertes y Muy Fuertes.

PALABRAS CLAVE. Melanoplinae. Biocontrol. Apicomplexa. Tucura. Plaga.

INTRODUCCIÓN

La tucura *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos, melanoplino de amplia distribución geográfica (casi la totalidad de la Argentina, centro y parte del Norte de Chile, Uruguay y Sur de Brasil), es una de las especies de acrídidos más perjudiciales para el agro en la Argentina, particularmente en zonas de la región Pampeana y el Oeste de la Patagonia (Carbonell *et al.*, 2006). Es un acrídido univoltino, de hábito alimentario polífago y que suele ser numéricamente dominante en las comunidades de acrídidos, en la mayoría de los hábitats de pastizal (Cigliano *et al.*, 2014).

Las eugregarinas son protistas apicomplejos, parásitos obligados de cavidades corporales de invertebrados, principalmente insectos y anélidos (Lange & Lord, 2012). Se trata de un gran grupo monofilético hiperdiverso, del cual sólo una mínima proporción de especies ha sido descrita (Clopton, 2000, 2009; Lange & Lord, 2012). Por este motivo, la gran mayoría de los trabajos sobre eugregarinas continúa siendo de carácter taxonómico, con escasas contribuciones respecto de aspectos epizootiológicos. En la Argentina, las eugregarinas de acrídidos no escapan a esta tendencia, aunque sólo dos especies han sido descritas con su ciclo de vida completo (Lange & Wittenstein, 2002; Lange & Cigliano, 2004). Una de ellas es *Gregarina ronderosi* Lange & Wittenstein, que parasita el tracto digestivo de juveniles y adultos de *D. elongatus* y sobre la cual no se dispone de información más allá de la descripción original (Lange & Wittenstein, 2002).

Dada la falta de conocimiento acerca de aspectos epizootiológicos fundamentales de las infecciones causadas por eugregarinas en acrídidos de la Argentina, el objetivo de esta contribución es iniciar el registro de la distribución geográfica de *G. ronderosi* en la región Pampeana, su prevalencia natural y la intensidad de las infecciones en condiciones naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Distribución geográfica y prevalencia

Entre 2008 y 2012, en los meses de enero y febrero, se realizaron muestreos en las comunidades de acrídidos de la región Pampeana para determinar la presencia y prevalencia de *G. ronderosi* en su hospedador natural *D.*

elongatus. Cada muestra consistió en el total de individuos adultos y ninfas mayores (cuarto y quinto estadio) de *D. elongatus* capturados mediante doscientos golpes o barridos de red entomológica a lo largo de cuatro transectas de cincuenta golpes cada una, a partir de un punto central, de acuerdo con lo descrito por Bardi (2013). Se capturó y procesó un total de 4084 ejemplares obtenidos en pastizales ubicados en las inmediaciones de cuarenta y dos localidades; en un área definida entre los 58°18'2" y 65°00'20" de longitud Oeste, y entre los 35°3'56" y 38°22'40" de latitud Sur. Treinta y cuatro de estas localidades pertenecen a la provincia de Buenos Aires (Ayacucho, Azul, Balcarce, Bocayuva, Bolívar, Bordenave, Carlos Tejedor, Daireaux, Empalme Querandíes, Fulton, General La Madrid, General Villegas, Garré, Gironde, Guaminí, Ibarra, Ingeniero Thompson, La Chumbeada, Laguna Alsina, Las Flores, Napaleofú, Pehuajó, Pirovano, Rauch, Rivadavia, Rivera, Roque Pérez, Saladillo, Salliqueló, Tandil, Tapalqué, Trenque Lauquen, Tres Arroyos y Udaquiola), y ocho a la provincia de La Pampa (Boliche El Araña, Caleufú, El Destino, Hucal, La Maruja, Quetrequén, Rucanelo, Santa Rosa). Una vez en el laboratorio, los acrídidos fueron conservados por congelación (-32 °C) hasta su examen individual por disección longitudinal ventral (Lange & Henry, 1996; Lacey & Solter, 2012). La presencia-ausencia y la prevalencia (% de infección) de *G. ronderosi* se determinó mediante la prospección de los tractos digestivos bajo microscopio estereoscópico simple (X40) y microscopía de contraste de fases (X100, X400) (Lacey & Solter, 2012; Solter *et al.*, 2012) en busca de trofozoitos, gamontes y gametoquistes característicos del parásito (Lange & Wittenstein, 2002).

Intensidad de las infecciones

Los ejemplares infectados fueron categorizados para estimar visualmente la intensidad de la infección. Las categorías se establecieron teniendo en cuenta simultáneamente dos criterios: el aumento óptico necesario para la detección de *G. ronderosi* y el número de secciones del tracto digestivo invadidas por el parásito. Si la infección era detectada sin la necesidad de instrumental óptico (X0), con la ayuda de microscopio simple (X40) o con la utilización de microscopio compuesto (X100, X400), y el nú-

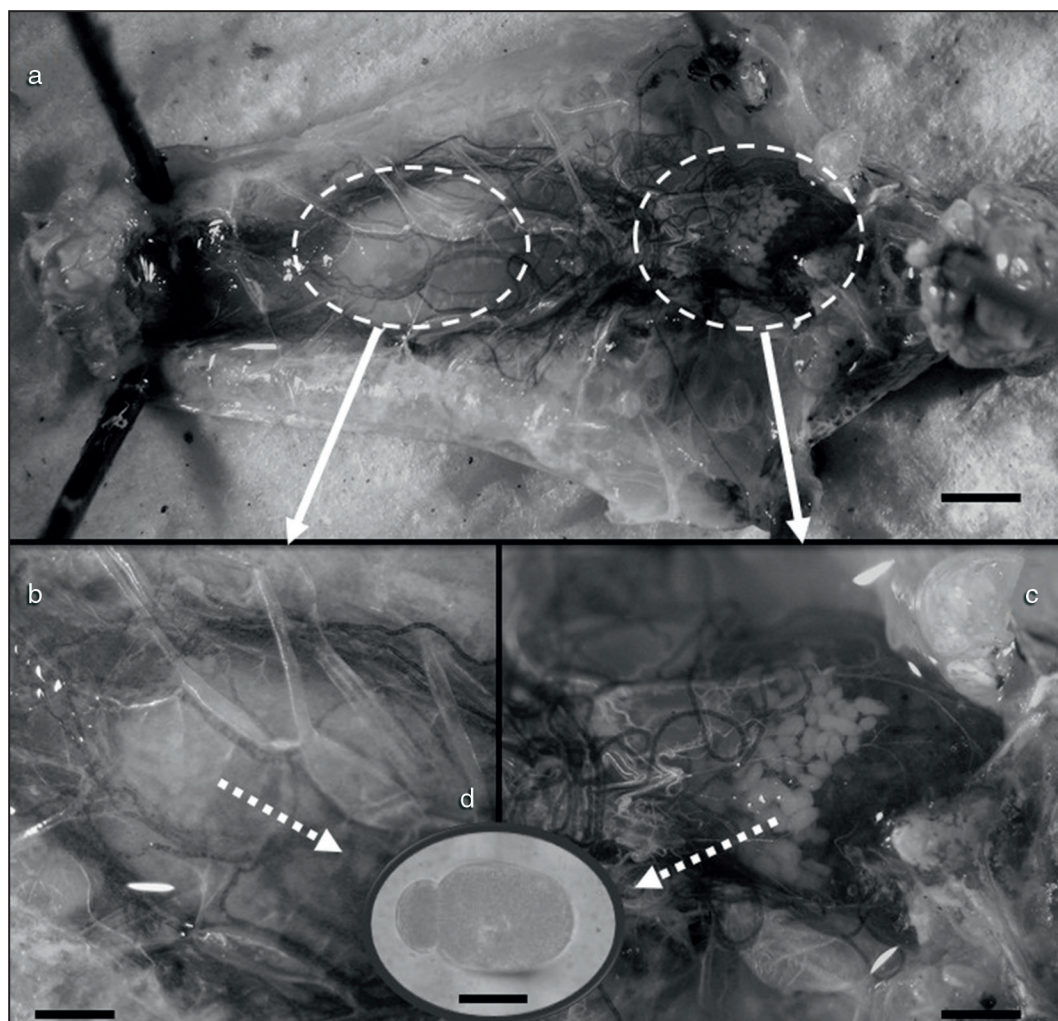


Fig. 1. a, Infección de categoría Muy Fuerte. Varias zonas del tracto digestivo de *Dichroplus elongatus* están ocupadas por gamontes de *Gregarina ronderosi* (escala: 5 mm); b, detalle de los tractos digestivos medio y c, anterior (escala: 2,5 mm); d, detalle de un gamonte de *G. ronderosi* (escala: 100 μ m).

mero de zonas del tracto digestivo ocupadas por la infección. Para ello, se consideraron las divisiones clásicas del tracto digestivo según Jones (1981): anterior (faringe, esófago, buche), medio (mesenterón, ciegos gástricos) y posterior (ileon, colon, recto). Las categorías de infección resultantes fueron: **Muy fuerte:** infección evidente sin necesidad de instrumental óptico (X0) en más de una zona del tracto digestivo (Fig. 1). **Fuerte:** infección también evidente sin instrumental (X0) pero en una sola zona del tracto digestivo, generalmente el tracto digestivo medio (Fig. 2). **Moderada:** infección detectable con microscopio simple (X40) en solo una zona del digestivo. **Leve:** infección detectable

solo con microscopio compuesto (X100, X400) en una zona del digestivo.

RESULTADOS

Gregarina ronderosi fue detectada en las inmediaciones de diecisiete localidades de la provincia de Buenos Aires (Ayacucho, Azul, Daireaux, Empalme Querandies, Fulton, Garré, Gironde, Guaminí, Ibarra, Laguna Alsina, Napaleofú, Pehuajó, Pirovano, Rivera, Tandil, Trenque Lauquen y Udaquiola). Los sitios con hallazgos se encuentran distribuidos en un área relativamente bien definida entre los 58°34'1" y 63°10'48" de longitud Oeste, y entre

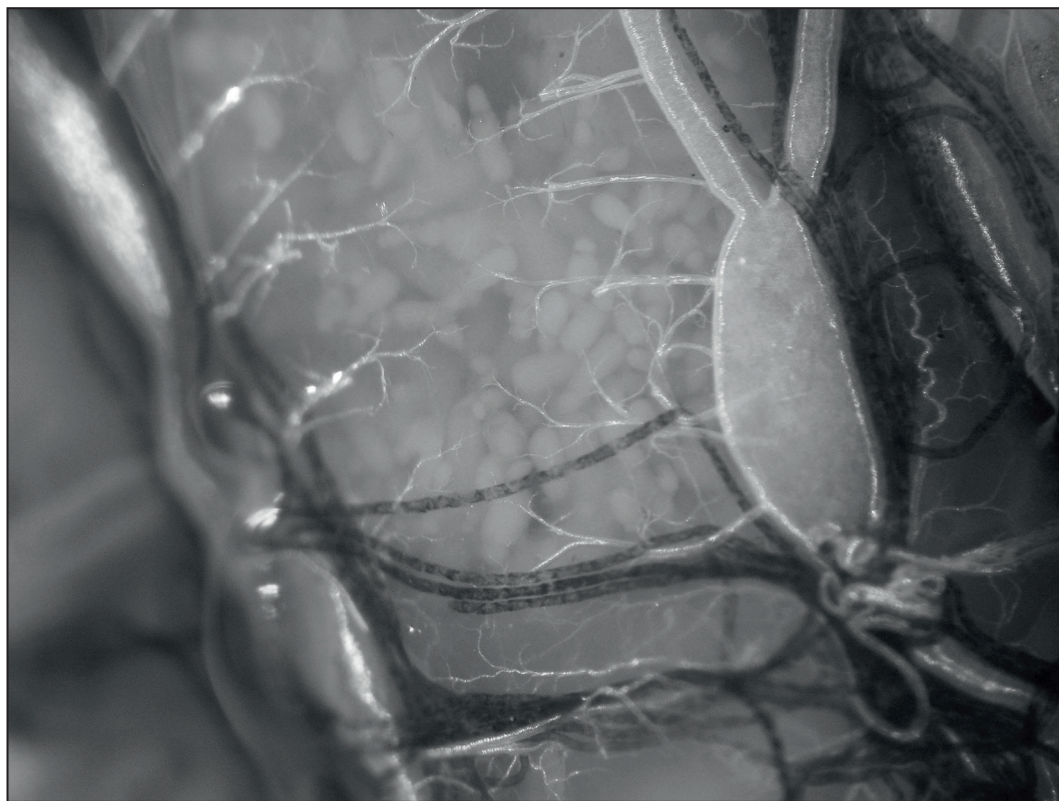


Fig. 2. Infección de categoría Fuerte. El tracto digestivo medio de *Dichroplus elongatus* está ocupado por gamontes de *Gregarina ronderosi*.

los 35°51'31" y 37°20'43" de latitud Sur (Fig. 3). La prevalencia de *G. ronderosi* varió entre 2,2 y 89,3%, con un valor promedio de $29,7 \pm EE$ 6,6% ($n = 1071$) (Tabla I). Respecto de la intensidad de las infecciones, del total de individuos infectados ($n = 396$), tres (0,8%) presentaron infecciones Muy Fuertes, ochenta (20%) Fuerte, doscientos diez (53%) Moderadas (M) y ciento tres (26%) Leves (Tabla I).

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten contar con un mayor conocimiento de *G. ronderosi* acerca de los tres aspectos abordados, la distribución geográfica, la prevalencia y la intensidad de las infecciones. Teniendo en cuenta que *G. ronderosi* era conocida sólo para su localidad tipo (Girondo, 20 km al sudeste de Pehuajó, provincia de Buenos Aires) a partir de la descripción de la especie (Lange & Wittensstein, 2002), su distribución geográfica conocida ha sido ampliada considerablemente luego de

las prospecciones realizadas. No obstante, tratándose de un parásito obligado y aunque las prospecciones con resultados negativos (falta de detección) no deben interpretarse como absolutas, llama la atención que su presencia parezca relativamente restringida en relación a la gran amplitud de distribución que tiene su hospedador, que abarca casi todo el país y es particularmente común en la región Pampeana (Bardi *et al.*, 2012; Cigliano *et al.*, 2014). En este sentido, desconocemos el o los motivos que podrían estar restringiendo un mayor alcance en la distribución de *G. ronderosi* y que, como indican Shapiro-Ilan *et al.* (2012), podrían corresponderse con una variedad de factores interactivos relacionados tanto con el parásito como con el hospedador y el ambiente.

Respecto de la prevalencia, la disparidad en el tamaño de las muestras y los intervalos temporales espaciados del muestreo no permiten un análisis pormenorizado. Sin embargo, la detección de prevalencias elevadas (sobradamente mayores que la media de 29,7%) en muestras

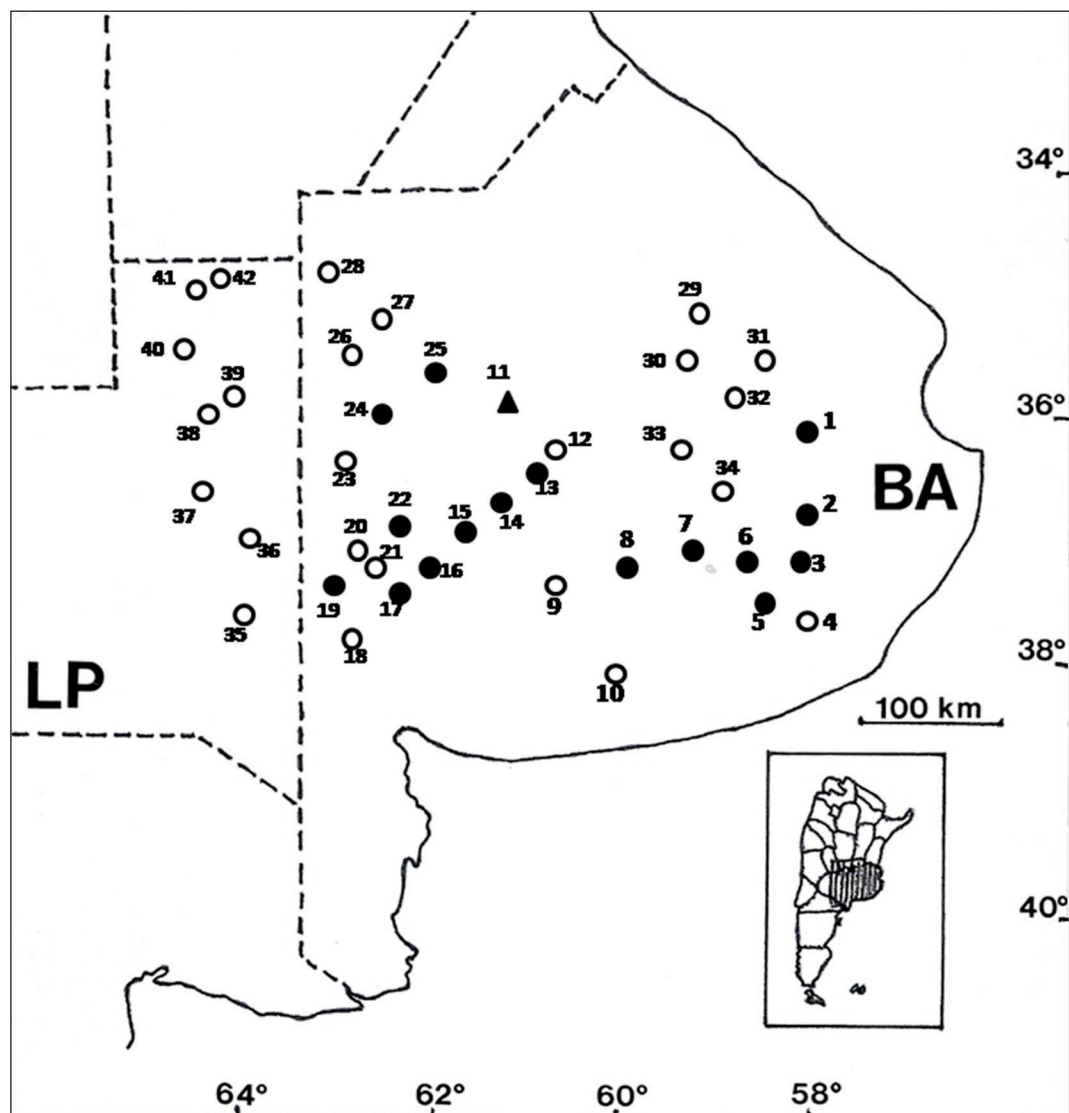


Fig. 3. Localidades donde fue detectada la presencia de *Gregarina ronderosi* en *Dichroplus elongatus*. Los círculos llenos indican presencia de *G. ronderosi*; los círculos vacíos, ausencia. El triángulo indica localidad tipo. **BA:** Buenos Aires: 1- Udaquiola; 2- Ayacucho; 3- Napaleofú; 4- Balcarce; 5- Fulton; 6- Tandil; 7- Azul; 8- Empalme Querandíes; 9- General La Madrid; 10- Tres Arroyos; 11- Girondo; 12- Bolívar; 13- Ibarra; 14- Pirovano; 15- Daireaux; 16- Laguna Alsina; 17- Guaminí; 18- Bordenave; 19- Rivera; 20- Ingeniero Thompson; 21- Salliqueló; 22- Garré; 23- Bocayuva; 24- Trenque Lauquen; 25- Pehuajó; 26- Estación América; 27- Carlos Tejedor; 28- General Villegas; 29- Roque Pérez; 30- Saladillo; 31- La Chumbeada; 32- Las Flores; 33- Tapalqué; 34- Rauch. **LP:** La Pampa: 35- Hucal; 36- Boliche El Araña; 37- Santa Rosa; 38- Rucanelo; 39- El Destino; 40- La Maruja; 41- Caleufú; 42- Quetrequén.

con cantidades considerables de ejemplares (88,7% en Udaquiola 2009, 82% en Ibarra 2009, 72,1% en Guaminí 2011, etc.) sugiere que las epizootias de *G. ronderosi* en *D. elongatus* no son eventos infrecuentes, fenómeno que condice con la capacidad de transmisión horizontal efectiva que caracteriza a *G. ronderosi* en particular y a la mayoría de las eugregarinas en ge-

neral (Lange & Wittenstein, 2002; Lange & Lord, 2012; Shapiro-Ilan *et al.*, 2012).

Quizás el aspecto más saliente o destacable de los resultados obtenidos es el relacionado con la intensidad de las infecciones, en el sentido de que por primera vez se registraron en condiciones naturales infecciones de *G. ronderosi* categorizadas como Muy Fuertes y Fuertes.

Tabla I. Localidades donde se detectó la presencia de *Gregarina ronderosi* en *Dichroplus elongatus*, prevalencia y categorización de las infecciones: Muy Fuerte (MF); Fuerte (F); Moderada (M); Leve (L).

Localidad	Año	Coordenadas	Prevalencia (%)	Intensidad de la infección				(n)
				MF	F	M	L	
Girondo	2008	35°59'9"S 61°37'55"O	22,2	0	4	14	10	126
Udaquiola	2009	36°34'46"S 58°34'1"O	88,7	3	42	71	18	151
Ayacucho	2009	37°6'51"S 58°34'34"O	4,1	0	0	1	1	49
Napaleofú	2009	37°35'26"S 58°39'8"O	2,2	0	0	1	0	46
Tandil	2009	37°14'25"S 59° 7'0"O	7,1	0	0	1	0	15
Azul	2009	36°55'4"S 59°45'59"O	8,3	0	0	1	0	12
Empalme Querandies	2009	37° 0'29"S 60°23'0"O	62,5	0	3	14	8	40
Ibarra	2009	36°17'9"S 61°16'42"O	82,0	0	9	22	10	50
Daireaux	2010	36°36'51"S 61°48'9"O	14,2	0	0	1	1	16
Udaquiola	2011	36°34'46"S 58°34'1"O	3,3	0	0	1	1	60
Ayacucho	2011	37°6'51"S 58°34'34"O	20,0	0	6	10	4	100
Fulton	2011	37°20'43"S 58°50'9"O	8,9	0	0	1	3	45
Ibarra	2011	36°17'9"S 61°16'42"O	89,3	0	7	25	10	47
Pirovano	2011	36°27'30"S 61°36'9"O	28,2	0	0	5	6	39
Guaminí	2011	37°3'21"S 62°21'23"O	72,1	0	5	23	16	61
Garré	2011	36°33'42"S 62°36'3"O	46,8	0	0	14	8	47
Trenque Lauquen	2011	36°4'48"S 62°43'48"O	4,3	0	0	0	2	47
Pehuajó	2011	35°51'31"S 62° 2'16"O	20,7	0	2	1	3	29
Udaquiola	2012	36°34'46"S 58°34'1"O	2,7	0	1	0	0	37
Laguna Alsina	2012	36°49'53"S 62°13'2"O	21,4	0	0	2	1	14
Rivera	2012	37°7'8"S 63°10'48"O	10,0	0	1	2	1	40
Totales				3	80	210	103	1071
Prevalencia promedio			29,7					

Las eugregarinas obtienen los nutrientes de su hospedador. Al mismo tiempo, dañan la integridad de sus células, posibilitando el ingreso de otros agentes etiológicos, y ocupan un espacio que, de otra manera, quedaría disponible para el alimento ingerido. Existe consenso en que sólo las infecciones intensas resultan claramente perjudiciales para el insecto afectado (Maddox, 1987; Brooks, 1988; Boucias & Pendland, 1998; Lange & Lord, 2012). La carga parasitaria de eugregarinas es directamente proporcional a la cantidad de ooquistes ingeridos por el hospedador (debido a la falta de

proliferación asexual o esquizogonia en el ciclo de desarrollo). Por esta razón, las infecciones fuertes suelen registrarse en colonias de cría donde muchos insectos conviven en espacios reducidos, mientras que en condiciones naturales suelen ser leves. Creemos por ello importante reportar el hallazgo de infecciones intensas en la naturaleza, a nuestro saber un fenómeno poco registrado en acrididos (Lipa *et al.*, 1996). En tales casos, como ha sido citado para otras eugregarinas de acrididos en condiciones experimentales de cautiverio (Henry, 1969; Harry, 1970), *G. ronderosi* seguramente cause

BARDI, C. & C. E. LANGE. *Gregarina ronderosi* en *Dichroplus elongatus*.

bloqueos intestinales y alteraciones epiteliales tendientes a aumentar la mortalidad y reducir el vigor, longevidad y fecundidad del hospedador. Algunos autores consideran que las eugregarinas nativas podrían ser de utilidad para un control biológico de tipo aumentativo de acrididos perjudiciales (Muralirangan *et al.*, 2000).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- BARDI, C. 2013. Biología y biocontrol de *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae), acridio plaga del agro argentino. [Tesis de doctorado]. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- BARDI, C., Y. MARIOTTINI, S. PLISCHUK & C. E. LANGE. 2012. Status of the alien pathogen *Paranosema locustae* (Microsporidia) in grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas. *Biocontrol Science and Technology* 22(5): 497-512.
- BOUCIAS, D. J. & J. C. PENDLAND. 1998. *Principles of Insect Pathology*. Kluwer, Boston.
- BROOKS, W. M. 1988. Entomogenous Protozoa. En: Ignoffo, C.M. (ed.), *Microbial Insecticides vol. 5*, Handbook of naturally occurring pesticides. CRC, Boca Raton, pp. 1-149.
- CARBONELL, C., M. M. CIGLIANO & C. E. LANGE. 2006. Especies de acridomorfos (Orthoptera) de Argentina y Uruguay. The Orthopterists Society, Argentina/USA. [CD].
- CIGLIANO, M. M., M. E. POCCO & C. E. LANGE. 2014. Acridoideos (Orthoptera) de importancia agroeconómica en la República Argentina. En: Roig Junent, S. A., L. E. Claps & J. J. Morrone (eds.), *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos, vol. 3*, Editorial INSUE, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina, pp. 1-36.
- CLOPTON, R. E. 2000. Order Eugregarinorida. En: Lee, J. J., G. F. Leedale, P. Bradbury (eds.) *The illustrated guide to the Protozoa* 2nd ed., vol. 1, Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, pp. 205-288.
- CLOPTON, R. E. 2009. Phylogenetic relationships, evolution, and systematic revision of the septate gregarines (Apicomplexa: Eugregarinorida: Septatorina). *Comparative Parasitology* 76(2): 167-190.
- HARRY, O. G. 1970. Gregarines: their effect on the growth of the desert locust (*Schistocerca gregaria*). *Nature* 225: 964-966.
- HENRY, J. E. 1969. Protozoan and viral pathogens of grasshoppers. [Doctoral Thesis]. Montana State University-Bozeman, Montana.
- JONES, J. C. 1981. *The anatomy of the grasshopper*. Ch. Thomas Publisher, Springfield, Illinois.
- LACEY, L. A. & L. F. SOLTER. 2012. Initial handling and diagnosis of diseased invertebrates. En: Lacey, L. A. (ed.), *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 2nd ed. Academic Press, an imprint of Elsevier, London, pp. 1-14.
- LANGE, C. E. & J. E. HENRY. 1996. Métodos de estudio y producción de protistas entomopatógenos. En: R. Lecuona (ed.), *Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga*, Mariano Mas, Argentina, pp. 169-176.
- LANGE, C. E. & M. M. CIGLIANO. 2004. The life cycle of *Leidyana ampulla* sp. n. (Apicomplexa: Eugregarinorida: Leidyaniidae) in the grasshopper *Ronderosia bergi* (Stål) (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). *Acta Protozoologica* 43: 81-87.
- LANGE, C. E. & J. C. LORD. 2012. Protistan Entomopathogens. En: Vega, F. E. & H. K. Kaya (eds.) *Insect Pathology*, 2nd ed. Academic Press, an imprint of Elsevier, London, pp. 367-394.
- LANGE, C. E. & E. WITTENSTEIN. 2002. The life cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal Invertebrate Pathology* 79: 27-36.
- LIPA, J. J., P. HERNÁNDEZ-CRESPO & C. SANTIAGO-ALVAREZ. 1996. Gregarines (Eugregarinorida: Ap.) in natural populations of *Dociostaurus maroccanus*, *Calliptamus italicus* and other Orthoptera. *Acta Protozoologica* 35: 49-59.
- MADDOX, J. V. 1987. Protozoan disease. En: Fuxa, J. R. & Y. Tanada (eds.) *Epizootiology of insect diseases*. John Wiley, New York, pp. 417-452.
- MURALIRANGAN, M. C., K. P. SANJAYAN & S. JOHNY. 2000. Augmentation of native gregarine parasites for the management of grasshopper of agroecosystem. En: Narasimhan, S., G. Suresh & D. Wesley, (eds.), *Innovative Pest and Disease Management in Horticultural and Plantation Crops: Technology Improvement, Validation and Transfer*. Allied Publishers Limited, Chennai, India. pp. 208 - 215.
- SHAPIRO - ILAN, D. I., D. J. BRUCK & L. A. LACEY. 2012. En: Vega, F. E. & H. K. Kaya (eds.), *Principles of epizootiology and microbial control*. Insect Pathology, 2nd ed., Elsevier, London, pp. 29-72.
- SOLTER, L. F., J. J. BECNEL & J. VÁVRA. 2012. Research methods for entomopathogenic microsporidia and other protists. En: Lacey, L. (ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*, 2nd ed., Academic Press, an imprint of Elsevier Science, Londres, pp. 329-371.