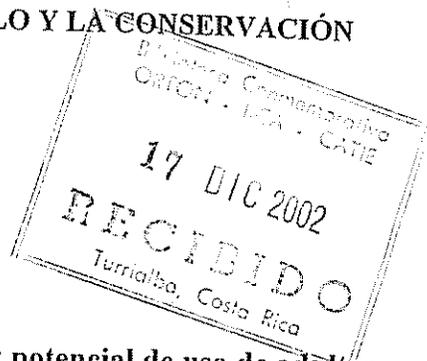


Distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* y
potencial de uso de adultos como agentes diseminadores de
entomopatógenos

JORGE A. CRUZ LÓPEZ

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE EDUCACIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACIÓN
ESCUELA DE POSGRADO



Distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* y potencial de uso de adultos como agentes diseminadores de entomopatógenos

Tesis sometida a consideración de la Escuela de Postgrado, Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza como requisito parcial para optar al grado de:

Magíster Scientiae

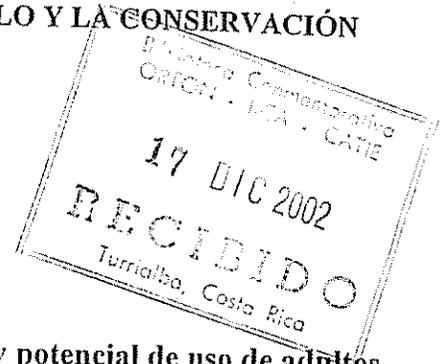
Por

✓
Jorge A. Cruz López

CATIE

Turrialba, Costa Rica; 2002

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE EDUCACIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACIÓN
ESCUELA DE POSGRADO



Distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* y potencial de uso de adultos como agentes diseminadores de entomopatógenos

Tesis sometida a consideración de la Escuela de Postgrado, Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza como requisito parcial para optar al grado de:

Magíster Scientiae

Por

✓
Jorge A. Cruz López

CATIE

Turrialba, Costa Rica; 2002

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

Al Programa de Becas de Posgrado financiado conjuntamente por el Japón y el Banco Mundial (JJ/WBGSP), por el apoyo financiero brindado para la realización de mis estudios de maestría.

Al MSc. Eduardo Hidalgo, por los conocimientos brindados durante la realización de esta investigación.

A los miembros del Comité Asesor, Ph. D. Luko Hilje, MSc. Manuel Carballo, Ph.D. Víctor Cartín, por las sugerencias y comentarios pertinentes para la presentación de este documento.

A mi esposa, amiga y colega Mercedes C. Gordillo Ruíz, por todo.

A mis amigos del Alma: Héctor Ávila y Jeannette Cárdenas, Róger Meneses, Katuska Andrew y José Luis Meneses, Román Ospina y Clara Inés Giraldo, Mauricio Carcache e Ilsen, Olivier Rondón, Marcelo Endara, Luis Alvarado, Ramón Báez, Geovanni Fernández, Rodrigo Cerrud, por todos aquellos momentos que pasamos para salir adelante en el estudio.

A los funcionarios y trabajadores del Ingenio El Palmar, Fernando Marengo, Pedro Busano, y los trabajadores de campo que me ayudaron en la fase de muestreo.

A Armando Portugués Quirós por su amistad y ayuda brindada en el trabajo de campo e invernadero. ¡Como le dicen Mae!

Al personal del Laboratorio de Control Microbial de la Unidad de Fitoprotección del CATIE.

Al MSc. Argenis Mora y familia, por su amistad y toda la ayuda desinteresada brindada en la realización de análisis geoestadísticos.

Al Ph.D. Gilberto Páez y Gustavo López por toda la ayuda brindada y sugerencias para la realización de los análisis estadísticos.

A la Organización para Estudios Tropicales (OET) por el apoyo financiero para la realización de una parte de la fase de campo.

A todo el personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton, por la accesibilidad a la información, en especial a Juan Rojas (fotocopiadora).

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de esta investigación.

CONTENIDO

APROBACIÓN	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
1.- INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2.- REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1.- Distribución e importancia de <i>Phyllophaga</i> en América Central	2
2.2.- Biología del género <i>Phyllophaga elenans</i>	2
2.3.- Daño ocasionado por <i>Phyllophaga</i> spp.	3
2.4.- Cultivos asociados e incidencia de <i>Phyllophaga</i> spp.	5
2.5.- Plantas hospedantes relacionadas con <i>Phyllophaga</i> spp.	7
2.6.- Método de captura y recaptura de insectos	8
2.7.- Uso de entomopatógenos para el control de insectos plaga	9
2.8.- Herramientas analíticas poco convencionales en el estudio de plagas subterráneas	10
3.- SÍNTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	12
3.1.- Objetivo general	12
3.2.- Materiales y Métodos	12
3.3.- Resultados y Discusión	13
3.4.- Conclusiones generales	16
3.5.- Recomendaciones generales	17
4.- LITERATURA CITADA	17
ARTICULO I	25
1.- PATRÓN DE VUELO DE ADULTOS DE <i>Phyllophaga elenans</i> EN FUNCIÓN DEL GUACIMO (<i>Guazuma ulmifolia</i>) COMO FUENTE DE ALIMENTACIÓN EN CAÑA DE AZÚCAR	25
1.1.- Introducción	25
1.2.- Materiales y Métodos	26
1.2.1.- Descripción del área de estudio	26
1.2.2.- Metodología	27
1.2.2.1.- Captura-marcado-recaptura de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> con trampas de luz	28
1.2.2.2.- Relación del sitio de emergencia y oviposición de los adultos	28
1.2.2.2.1.- Captura de adultos a través de trampa de luz	28
1.2.2.2.2.- Captura de adultos a través de trampa tul	28
1.3.- Resultados y discusión	29
1.3.1.- Captura, marcaje, liberación y recaptura de adultos	29
1.3.2.- Relación del sitio de emergencia y oviposición de los adultos	32
1.3.2.1.- Captura de adultos a través de trampa de luz y tul	32
1.4.- Conclusiones	33
1.5.- Recomendaciones	33
1.6.-Literatura citada	33

	ARTICULO II	36
2.- DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LARVAS DE <i>Phyllophaga elenans</i>		36
(COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE) EN FUNCIÓN DEL GUÁCIMO (<i>Guazuma ulmifolia</i>) EN CAÑA DE AZÚCAR		
2.1.- Introducción		36
2.2.- Materiales y Métodos		37
2.2.1.- Descripción del área de estudio		37
2.2.2.- Diseño del estudio		38
2.2.3.- Diseño experimental		39
2.2.4.- Variable de respuesta		39
2.3.- Resultados y discusión		39
2.4.- Conclusiones		46
2.5.- Recomendaciones		47
2.6.-Literatura citada		47
	ARTICULO III	49
3.- EVALUACIÓN DE ADULTOS DE <i>Phyllophaga elenans</i> COMO AGENTES		49
DISPERSORES DE <i>Metarhizium anisopliae</i> BAJO CONDICIONES DE		
INVERNADERO		
3.1.- Introducción		49
3.2.- Materiales y Métodos		50
3.2.1.- Descripción del área de estudio		50
3.2.2.- Porcentaje de mortalidad de adultos y producción de conidias sobre sus		50
cadáveres		
3.2.2.1.- Metodología		50
3.2.2.2.- Diseño experimental		50
3.2.2.3.- Variable de respuesta		51
3.2.3.- Diseminación cruzada entre adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> inoculados con		51
<i>Metarhizium anisopliae</i>		
3.2.3.1.- Metodología		51
3.2.3.2.- Diseño experimental		51
3.2.3.3.- Variable de respuesta		52
3.2.4.- Supervivencia de larvas provenientes de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i>		52
inoculados con <i>Metarhizium anisopliae</i>		
3.2.4.1.- Metodología		52
3.2.4.2.- Diseño experimental		52
3.2.4.3.- Variable de respuesta		53
3.3.- Resultados y discusión		53
3.3.1.- Porcentaje de mortalidad de adultos y producción de conidias sobre sus		53
cadáveres		
3.3.2.- Diseminación cruzada entre adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> inoculados con		54
<i>Metarhizium anisopliae</i>		
3.3.3.- Supervivencia de larvas provenientes de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i>		56
inoculados con <i>Metarhizium anisopliae</i>		
3.4.- Conclusiones		58
3.5.- Recomendaciones		58
3.6.- Literatura citada		58

Cruz-López, JA. 2002. Distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* y potencial de uso de adultos como agentes diseminadores de entomopatógenos

Palabras claves: Trampas de luz, *Phyllophaga*, Hospedantes, Melolonthidae, Entomopatógenos, Guácimo.

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la influencia de la vegetación hospedante de adultos de *Phyllophaga elenans* (*Guazuma ulmifolia*) sobre la distribución espacial de las poblaciones larvales en caña de azúcar, y su implicación sobre las prácticas de manejo de la plaga utilizando hongos entomopatógenos.

Se utilizó una metodología de captura-marcado-recaptura de adultos utilizando trampas de luz ubicadas en cinco sitios con distancias entre 50 y 450 m. De un total de 9572 adultos marcados y liberados únicamente fueron recapturados cinco individuos con marca, debido al número reducido de individuos recapturados no se evidenció un patrón de vuelo definido.

Se realizó un muestreo de suelo para determinar la densidad poblacional y distribución espacial de larvas en una retícula de 100 x 100 m. en tres parcelas con árboles hospedantes en uno de los bordes y tres parcelas sin árboles. Los resultados muestran cierta tendencia de agregación de las larvas de *Phyllophaga elenans* en relación con los árboles hospedantes; sin embargo, pareciera que los árboles hospedantes no están jugando un papel preponderante en cuanto a densidad y distribución espacial de las larvas ya que se registraron densidades altas y patrones agregados en parcelas sin árboles hospedantes.

A nivel de invernadero, se inocularon de adultos con tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* para evaluar el porcentaje de mortalidad, producción de conidias por adulto, transmisión cruzada y sobrevivencia de la progenie de adultos inoculados.

Los adultos machos y hembras de *Phyllophaga*. tratados en forma alterna con *M. anisopliae*, mostraron susceptibilidad al microorganismo inoculado. El promedio de producción de conidias por individuo infectado fue de 3.8×10^8 y no se detectó diferencias entre sexos. La diseminación del hongo de machos inoculados hacia hembras no inoculadas fue más evidente que en caso contrario.

Los resultados confirman la efectividad de *Metarhizium anisopliae* sobre los adultos de *Phyllophaga elenans* y un efecto sobre la reducción a la sobrevivencia de su progenie, por lo tanto las tres cepas constituyen una alternativa con potencial para ser incorporadas en programas de manejo integrado de esta plaga.

Cruz-López JA. 2002. Spatial distribution of *Phyllophaga elenans* larvae and its adult use potential as spreader agents of entomopathogens

Key words: Light traps, *Phyllophaga*, host, Melolonthidae, Entomopathogens, Guacimo.

SUMMARY

“ The objective of this research was to determine the influence of the host vegetation (*Guazuma ulmifolia*) of *Phyllophaga elenans* adults over the spatial distribution of larvae population in sugar cane, and its implication for pest management practices using fungus entomopathogens.

An adult capture-marking-recapture methodology with light traps located at five sites with distances among 50 m and 450 m was used. From a total of 9572 marked and liberated adults, only five marked individuals were recaptured. Because of the reduced number of recaptured individuals, a well-defined flight pattern was not shown.

“ In order to determine the population density and spatial distribution of larvae in a 100 x 100 m net, a soil sampling was done in three plots with host trees in one border and in three plots without trees. The results showed a slight aggregation tendency of *Phyllophaga elenans* larvae with relation to the host trees. However, it appears that the host trees do not have a preponderant role related to larvae spatial density and distribution because high densities and aggregated patterns in plots without host trees were also registered.

“ In order to evaluate the mortality percentage, conidia production per adult, crossed transmission, and progeny survival from inoculated adults, *Phyllophaga elenans* adults were inoculated with three *Metarhizium anisopliae* isolations in greenhouse.”

P. elenans male and female adults treated alternatively with *M. anisopliae* showed susceptibility to the inoculated microorganisms. The conidia production mean per infected individual was 3.8×10^8 , and no difference was detected between sexes. The inoculated male spread to non-inoculated females was more evident than the inverse case. “These results show the effectiveness of *M. anisopliae* over *P. elenans* adults and its progeny survival reduction.” Therefore, these three-fungus stocks constitute a potential alternative to be incorporated into integrated management programs of this pest.

INDICE DE CUADROS

1	Distribución por localidad, área afectada y porcentaje de daño, en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica, causado por <i>Phyllophaga</i> spp	4
2	Abundancia de larvas Melolonthidae edafícolas en México y América Central	6
3	Plagas de importancia económica controladas mediante hongos entomopatógenos en diversos cultivos	9
1.1	Total de individuos capturados y recapturados a través de trampas de luz en el Ingenio El Palmar, Puntarenas, Costa Rica	29
1.2	Total de individuos capturados y recapturados a través de trampas de tul en el Ingenio El Palmar, Puntarenas, Costa Rica	32
2.1	Parámetros estimados a través de una análisis de regresión para larvas de <i>Phyllophaga elenans</i>	41
3.1	Número de conidias de tres cepas de <i>Metarhizium anisopliae</i> producidos sobre adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> bajo condiciones de invernadero	54

INDICE DE FIGURAS

1.1 y 2.1	Localización del área de estudio	26 y 37
1.2	Trampa de luz tipo Luis Queiros para la colecta de adultos de <i>P. elenans</i>	27
1.3	Diagrama para el marcaje de adultos de <i>P. elenans</i> para diferenciar fecha de captura	28
1.4	Trampa tul para captura de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i>	29
1.5	Total diario de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> capturados con trampa de luz en el punto de captura y liberación bajo los árboles hospedantes, en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	29
1.6	Total de adultos capturados por día, con trampas de luz a diferentes distancias de árboles de Guácimo en caña de azúcar en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	30
2.2	Arreglo espacial de las parcelas con (izquierda) y sin árboles hospedantes (derecha) para el muestreo de larvas de <i>Phyllophaga elenans</i>	38
2.3	Densidad promedio de larvas de <i>Phyllophaga elenans</i> en caña de azúcar en función de los árboles hospedantes en el ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	40
2.4	densidad promedio de larvas de <i>Phyllophaga elenans</i> en caña de azúcar en ausencia de árboles hospedantes en el ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	41
2.5 (a, b y c)	Mapa de contorno mostrando la distribución espacial de larvas de <i>Phyllophaga elenans</i> en función árboles de <i>Guazuma ulmifolia</i> en caña de azúcar en el ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	43
2.5 (d, e y f)	Mapa de contorno mostrando la distribución espacial de larvas de <i>Phyllophaga elenans</i> en ausencia de árboles hospedantes caña de azúcar en el ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica	44
3.1	Porcentaje de mortalidad de adultos de <i>Phyllophaga elenans</i> ocasionados por cepas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	53
3.2	Porcentaje de mortalidad inoculando únicamente hembras de <i>Phyllophaga elenans</i> bajo condiciones de invernadero en CATIE	54
3.3	Porcentaje de mortalidad inoculando únicamente hembras de <i>Phyllophaga elenans</i> bajo condiciones de invernadero en CATIE	55
3.4	Sobrevivencia de huevo y larvas de <i>Phyllophaga elenans</i> provenientes de adultos inoculados con <i>Metarhizium anisopliae</i>	57

1.- INTRODUCCIÓN GENERAL

Los cultivos tropicales pueden ser afectados por muchos organismos, algunos de los cuales llegan a convertirse en plagas. Las plagas subterráneas son especialmente importantes, ya que pueden destruir hasta el 50% de las plantas, provocando una severa disminución en el rendimiento (Andrew y Navas 1989). Muchas de las plagas del suelo pasan solo parte de su ciclo de vida bajo o sobre la superficie del suelo, alimentándose de las raíces de los cultivos y de materia orgánica en descomposición.

Los insectos rizófagos figuran entre los problemas de mayor importancia en cultivo caña de azúcar, debido a que las larvas se localizan bajo la tierra y consumen partes ocultas de la planta, lo que dificulta su detección oportuna y su control.

En América tropical varias especies de coleópteros rizófagos de la familia Melolonthidae son plagas agrícolas, pertenecientes a los géneros *Phyllophaga*, *Anomala*, *Cyclocephala* y *Bothynus*. En los territorios continentales comprendidos desde México hasta Argentina y Chile se han registrado cerca de 300 géneros y 3600 especies de coleópteros de la familia Melolonthidae, cuyos adultos se alimentan de tejidos o productos vegetales. Aunque se desconocen los hábitos alimentarios de las larvas del 70 % de estas especies, se estima que cuando menos 2,500 de ellas se desarrollan en el suelo consumiendo materia orgánica en distintas etapas de humificación y los tejidos subterráneos de las especies vegetales incluidas en 80 familias (Morón *et al.* 2001).

La biología y zoogeografía de estos Melolonthidae determinan las fluctuaciones en su abundancia, la distribución en parches, su capacidad para adaptarse a diferentes plantas y distintos tipos de suelo, y sus defensas contra los enemigos naturales (Morón *et al.* 1996).

Las larvas de melolontidos, conocidos vulgarmente como "gallina ciega", han sido pobremente estudiadas como plaga. Muchas veces no se especifica su identidad y generalmente se le designa como *Phyllophaga* spp. Se ha demostrado que el daño por la plaga no se debe a una sola especie, sino a un grupo de ellas, conocido como "complejo gallina ciega" (Morón *et al.* 1996). Muchas de las investigaciones recientes se han enfocado en la búsqueda de alternativas de manejo de la plaga, debido al aumento pues se tiene claro que daña severamente distintos cultivos, sobre todo gramíneas.

No obstante la importancia que tiene la "gallina ciega" como plaga de muchos cultivos en América tropical, se carece aún de información importante para entender su dinámica, precisar la identidad de las especies presentes en cada complejo, si todas son causantes del daño en las raíces, así como las condiciones físico ambientales y las actividades agrícolas que determinan la composición de los distintos complejos y sus densidades.

Dos de las principales dificultades para desarrollar estrategias eficientes de combate, han sido su hábito subterráneo y su patrón de ataque en parches. Aunque no se cuenta con ningún mecanismo que permita anticipar su distribución, se ha reconocido el papel de las plantas o árboles hospedantes de adultos en la agregación de la plaga durante el periodo de vuelo y cópula (Hilje *et al.* 1993; Hilje, 1996). Sin embargo, no hay información confiable que demuestre el efecto de la presencia de este tipo de vegetación sobre la distribución espacial de las larvas en el campo. Por lo tanto, es necesario generar este tipo de información para determinar las prácticas de manejo apropiadas (podas, captura manual, captura con trampas de luz, trampas con hongos entomopatógenos, etc.) y la detección temprana de áreas con probabilidades de presentar altas densidades de larvas.

2.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Distribución e importancia de *Phyllophaga* en América Central

Entre los insectos plaga del suelo que se alimentan de raíces y tubérculos, las larvas del género *Phyllophaga*, conocidos como “gallina ciega” o “jobotos” fitófagos, son las más importantes. Las distribuciones de las especies de *Phyllophaga* económicamente importantes dentro de América Central son a menudo limitadas, y parecen estar ampliamente relacionadas con la cantidad y distribución de precipitación, y con la elevación sobre el nivel del mar (King, 1985).

En América Central los “jobotos” o “gallina ciega” constituyen plagas importantes de una gama amplia de cultivos anuales y perennes. En esta región hay varias especies asociadas con los cultivos. Las especies de mayor importancia son: *Phyllophaga menetriesi*, *P. elenans*, *P. vicina* y *P. parvisetis*; otras especies de importancia secundaria son: *P. obsoleta* y *P. hondura*. Hay otras especies de importancia menor o local, como: *P. dasypoda*, *P. valeriana*, *P. chiriquina*, *P. carga*, *P. yucateca*, *P. fulviventris*, *P. aequata*, *P. latipes*, *p. tumulosa* y *P. solanophaga* (King, 1984; Abarca y Quesada, 1997; Solis y Morón, 1998; Coto, 2000).

2.2.- Biología del género *Phyllophaga elenans*

El desarrollo del escarabajo desde la fase de huevo hasta adulto se completa en ciclos que van de uno a siete años. En ocasiones una misma especie puede exhibir ciclos anuales o bianuales, dependiendo de las condiciones ambientales (Morón, 1986).

Debido a la importancia que tiene el género *Phyllophaga* dentro del complejo “gallina ciega”, a continuación se describe el ciclo de vida de la plaga:

Esta es la especie probablemente más común y ampliamente distribuida con un ciclo de vida de dos años. Debido a que está distribuida en las partes más secas de América Central, la emergencia de los adultos con las primeras lluvias rara vez ocurre antes de mediados de mayo y generalmente

continúa hasta junio. Los adultos se alimentan de las hojas de un amplio ámbito de árboles y arbustos.

Presentan un período de preoviposición más extenso que las especies anuales, sin embargo, asegura que pocos huevos eclosionan antes de julio y las larvas alcancen el final del segundo estadio hasta principios de septiembre. Cada larva construye una celda en la tierra, en la cual permanece inactiva hasta abril o mayo del siguiente año, cuando ocurre el paso al tercer estadio. La larva en tercer estadio deja su celda, probablemente como respuesta a la humedad del suelo, y se alimenta vorazmente de raíces de plantas hasta agosto o septiembre. La alimentación entonces cesa, una celda es construida más profundamente en el suelo y la larva entra en un período de quiescencia obligatoria. La etapa de pupa dura cerca de un mes y el adulto permanece dentro de su celda hasta su madurez fisiológica y es estimulado a emerger cuando la lluvia moja el suelo. En la parte más al sur de Costa Rica, donde la época seca es menos severa, algunas larvas completan su desarrollo en solo un año (King, 1984; Solís y Morón, 1998).

2.3.- Daño ocasionado por *Phyllophaga* spp.

Las larvas de la familia Melolonthidae están frecuentemente asociadas con las gramíneas, leguminosas, rosáceas y solanáceas (Morón, 1984, 1986). Estas han sido observadas atacando las raíces de maíz, frijol, sorgo, trigo, papa, arroz, caña de azúcar, fresa, zanahoria, espinaca, tomate y cebolla (Morón, 1984; Rodríguez del Bosque, 1988). El daño causado por “gallina ciega” puede ser leve, moderado o severo dependiendo del cultivo, de las condiciones ambientales y del estado de desarrollo en que se encuentre el insecto (Villalobos, 1995). El tercer estadio larval es el que causa mayor daño pues ataca una gran variedad de plantas de interés agrícola y forestal (Morón, 1984). En México, Rodríguez del Bosque (1980) estimó entre 700 y 400 kg/ha las pérdidas en maíz por la plaga en Tamaulipas. Villalobos (1999) evaluó que el daño producido por la “gallina ciega” en maíz en la Reserva de la Biosfera “El Cielo” en Tamaulipas, disminuye la producción en un 48% (1.029 t/ha), permitiendo una producción promedio de maíz de apenas 1.1 t/ha. Por su parte, Nájera-Rincón (1993), señala que la evaluación de daño al rendimiento de grano por efecto de las plagas rizófagas, en el estado de Jalisco, se estiman entre 350 kg/ha (mínimo conservador) y 1.5 t/ha (máximo extremo), lo que equivale a un 3.85% y 16.5% de pérdida de la producción del Estado.

Por su parte, Lastres (1996), señala que Cáceres y Andrew en 1986 estimaron que una larva de “gallina ciega” por metro cuadrado reducía la producción de maíz en 0.19 t/ha y producía una pérdida de cuatro mil plantas de frijol por hectárea. King (1985) sugiere que una larva por metro cuadrado puede causar una pérdida de 0.17 t/ha de maíz.

En México en los cultivos donde se ha encontrado las poblaciones más altas de “gallina ciega” es caña de azúcar con 51 larvas de *P. lalanza* por m² (Morón *et al.* 1996). Esta especie por su abundancia, biomasa y voracidad, ocasiona daños severos e inclusive la muerte de un 42.9% de las cepas de la caña de azúcar (Aragón y Morón, 1998).

En el cultivo de caña de azúcar en Chietla, Puebla se obtuvieron densidades de 20 larvas por metro cuadrado, lo que puede ser equivalente a 200,000 larvas por hectárea (Aragón y Morón, 2000).

Los rendimientos totales de fresas se vieron afectados, debido a que niveles entre 10 y 15% de plantas dañadas por jobotos, no disminuyeron significativamente la producción. Lo contrario se observó cuando se alcanzaron niveles de infestación iguales o mayores al 20%, donde los rendimientos se redujeron notablemente (Abarca *et al.* 1992).

La proporción de especies de *Phyllophaga* que dañan a las plantas cultivadas en Costa Rica es baja en relación con su diversidad, ya que equivale a un 13.3% del total de las especies enlistadas (60:8) (Solís y Morón, 1998). Como se ha observado en otras regiones de Norte y Centroamérica, el complejo de especies de *Phyllophaga* “invierte” entre el 10 y 17% de su “potencial adaptativo” o diversidad en relación con las plantas cultivadas (Morón, 1996).

Las larvas de *Phyllophaga* causan pérdidas severas en muchos cultivos en Costa Rica. Para el año de 1994 se estimó un área afectada superior a las 6000 ha (Cuadro 1). Mediante monitoreos de población larval realizados a nivel nacional durante los últimos tres años, se ha logrado determinar la presencia de niveles de hasta 20 larvas/m², los cuales superan por mucho los niveles de seguridad utilizados en otros países y en otros cultivos (4 larvas/m² en maíz) (Rodríguez *et al.* 2000).

Cuadro 1. Distribución por localidad, área afectada y porcentaje de daño, en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica, causado por *Phyllophaga* spp.

Localidad	Área (ha)	Porcentaje
Guardia (CATSA)	2500	38.0
Puntarenas	2000	30.4
Cañas	850	12.9
Filadelfia (El Viejo)	750	11.4
San Isidro del General	300	4.6
Grecia y San Ramón	180	2.7
TOTAL	6580	100

Fuente: Badilla (1995).

2.4.- Cultivos asociados e incidencia de *Phyllophaga* spp.

King (1985) encontró mayor densidad de larvas de *P. menetriesi* en parcelas con bordes de yuca, lo que incrementó la pérdida de plantas y redujo significativamente el rendimiento de maíz. Las hembras pueden ovipositar en suelo desnudo rodeando de yuca, que es una planta alimenticia para los adultos y sugiere que la proximidad de plantas atacadas por éstos es un factor decisivo para la sobrevivencia de larvas hasta que el maíz germine.

En parcelas de maíz adyacentes a plantaciones de café se encuentran mayores densidades larvales que favorecen el volcamiento de las plantas. En este caso los árboles utilizados para sombra de café parecen ser causantes del aumento a la oviposición en esta área, ya que en muchas ocasiones estos árboles son hospedantes del adulto, como el poró (*Erythrina poeppigiana*) que también actúan como barreras que interrumpen el vuelo y hacen que el insecto se pose y caiga, aumentando la oviposición en estos sitios.

Carballo y Jiménez (1993) evaluaron la incidencia de *Phyllophaga* sp. en maíz cultivado en callejones de *E. poeppigiana*. Se observó que en la siembra de junio en años anteriores presentaban problemas con el ataque de *Phyllophaga*, cuyos adultos se alimentan de brotes tiernos de poró, lo que hace suponer que este sistema de cultivo favorece el incremento de la población de larvas y el daño al maíz. En los muestreos a inicios y finales de junio, la población de *Phyllophaga* sp. fue 1.8 y 3.9 veces mayor en cultivos en callejones que en el monocultivo. También se observó que las larvas se ubican principalmente en las áreas más cercanas a árboles de poró que en los centros o zonas más alejadas.

Cruz-López (1999) señala que la asociación maíz-frijol bajo riego, los cultivos son menos propensos al ataque de plagas. La asociación de frijol y el cultivo de maíz puede causar distracción sobre las larvas, lo cual le permite un incremento de la biomasa radicular que se traduce en un mayor rendimiento del grano.

En América tropical se han registrado diversas especies de la familia Melolonthidae asociados a plantas cultivados, en bosques y diferentes ambientes (Cuadro 2). Pero en realidad sólo en pocas ocasiones se ha contado con evidencias directas de la participación de una especie en el daño a las raíces en estos ambientes, porque no se han efectuado estudios detallados que permitan conocer la diversidad de especies presentes en cada ecosistema, ni los hábitos alimentarios de cada una y su abundancia o predominio.

Cuadro 2. Abundancia de larvas edafícolas de la familia Melolonthidae en México y América Central.

Asociación vegetal	Larvas/m ²	Especies involucradas	Altitud msnm	Autores
Pastizales de <i>Panicum</i> y <i>Paspalum</i>	86-177	<i>Phyllophaga</i> sp.	50-800	Lavelle <i>et al.</i> (1981)
Bosque Tropical bajo subcaducifolio	3.2-16	<i>Phyllophaga</i> sp.	-	Lavelle <i>et al.</i> (1981)
Pastizales	64.7	<i>Cyclocephala lurida</i> , <i>Hoplia squamifera</i> , <i>Phyllophaga ravida</i> , <i>Anomala megalops</i> , <i>Phyllophaga trichodes</i>	-	Villalobos & Lavelle (1990), Villalobos (1991)
Pastizal natural, bosque de encinos y pinos	16-39	<i>Phyllophaga</i> sp. y <i>Diplotaxis</i> sp.	2400	Morón (1981)
Bosque Tropical Perennifolio	1-13	<i>Phyllophaga</i> sp.	110	Morón, (1986)
Bosque Tropical Perennifolio perturbado	3 - 23	<i>Phyllophaga</i> , <i>Cyclocephala</i> y <i>Anomala</i>	150	Morón (Inédito)
Transición del Bosque Tropical mediano, subperennifolio, Bosque Mesófilo de Montaña y Pastizales inducidos	44-67	<i>Cyclocephala stictica</i> , <i>Phyllophaga ravida</i> y <i>Anomala inconstans</i>	700	Morón (Inédito)
Cultivo de Papa	178	<i>Phyllophaga obsoleta</i>	1350	Hilje (1996)
Cultivo hornamental (<i>Limonium sincautumk</i>)	11	Complejo "gallina ciega" formada por seis especies, encabezada por <i>Phyllophaga ilhuicamini</i>	1700	Aragón y Morón, 1998
Cultivo de maíz	3.6	<i>Phyllophaga</i> sp.	-	King, 1985
Cultivo de maíz	81	<i>Phyllophaga vetula</i>	2200	Aragón y Morón (1998)
Cultivo de maíz	15-80	<i>Phyllophaga misteca</i> , <i>Phyllophaga trichodes</i> y <i>Diplotaxis turgidula</i>	2100	Villalobos (1999)
Cultivo de maíz	3-77	Complejo "gallina ciega" formada por nueve especies, encabezada por <i>Phyllophaga menetriesi</i>		Ramírez y Castro (2000); Cruz-López <i>et al.</i> (1999)
Cultivo de caña de azúcar	38	<i>Phyllophaga</i> sp.	5-400	Velásquez (1996)
Cultivo de Caña de azúcar	47.5	Complejo "gallina ciega" formada por 12 especies, encabezada por <i>Phyllophaga lalanza</i>	-	Morón <i>et al.</i> (1996)
Cultivo de caña de azúcar	10.4-20.3	<i>Phyllophaga</i> spp.		Badilla (1999)

2.5.- Plantas hospedantes relacionadas con *Phyllophaga* spp.

Morón *et al.* (2000) registraron que *Quercus* es hospedante de *P. ravida*, *P. obsoleta* y *P. vetula* en la Sierra del Tentzo, Puebla. La abundancia de *P. ravida* fue notablemente mayor durante junio de 1996, ocasionando una defoliación del 40 y 70% en numerosos encinos, sobre todo árboles más o menos aislados que enfrentan amplios espacios abiertos, con matorral o terrenos agrícolas.

Mediante observaciones crepusculares y nocturnas realizadas sobre el follaje de algunos árboles ubicados en los alrededores del sistema de cultivo maíz temporal, se determinó que *Q. scytophylla* y *Q. crassifolia* son hospedantes de *P. menetriesi* y *P. tenuipilis* (Cruz-López *et al.* 2001).

Los adultos se alimentan de diversas especies, registrándose un total de 71 géneros ubicados en 32 familias. Se tiene en cuenta que en México los adultos tienen una notable preferencia por el follaje de las fagáceas, principalmente del género *Quercus*. Sin embargo, aún hace falta información sobre los hábitos de las especies tropicales y subtropicales (Morón, 1986). En la región conocida como Los Altos de Chiapas se ha observado adultos de varias especies de *Phyllophaga* consumiendo follaje y copulando sobre árboles de *Q. crispipilis* y *Alnus acuminata* y también consumiendo follaje de *Cornus excelsa* y *Solanum myriacanthus* (Gómez *et al.* 1999).

Las observaciones crepusculares y nocturnas efectuadas en el follaje de los árboles, arbustos y herbáceas situados en los alrededores de los cañaverales, realizados durante junio, julio y agosto, permitieron determinar los hospedantes sobre los cuales se alimentan los adultos de varias especies de *Phyllophaga*, *Anomala* y *Cyclocephala* (Morón *et al.* 1996).

Se han recolectado adultos de *P. obsoleta* alimentándose de encinos que fueron capaces de defoliar un árbol de porte mediano en solo una noche (Aragón *et al.* 1998). Los adultos de *P. macrocera*, y *P. brevidens* se recolectaron cerca de los cultivos de frijol, col, alfalfa y maíz, además alimentándose del follaje de caña de azúcar y mezquite (*Prosopis* sp.) (Morón, 1993).

Algunas especies centroamericanas de *Phyllophaga* con ciclos de vida de un año, los adultos emergen del suelo cuando se inician las lluvias, se alimentan del follaje de arbustos y árboles como *Erythrina* spp., *Hibiscus esculentus*, *Anona* sp., *Ceiba* sp., *Sida* sp., *Guazuma ulmifolia*, *Gliricidia sepium*, *Spondias* sp., y plantas anuales (Saunders *et al.* 1998; Coto, 2000).

En América Central, los adultos de *Phyllophaga menetriesi* se alimentan del follaje tierno de varios árboles latifoliados incluyendo a algunas especies de *Erythrina* (ha sido registrado en *E. poeppigiana*, *E. berteriana*, *E. costaricensis*). En el laboratorio, al menos otra plaga de importancia como es *P. vicina* se alimenta, cópula y produce huevos viables al ser mantenida con una dieta basada en follaje de las dos primeras especies de poró, aunque su dieta natural normal es el guácimo (*Guazuma ulmifolia*) (Hilje *et al.* 1993).

Se han reportado que árboles de malinche (*Caesalpinia pulcherrima*), jocote (*Spondias purpurea*) son utilizados como sitios de alimentación y cópula por adultos de *Phyllophaga*, especialmente *P. elenans* en la región del Pacífico Seco de Costa Rica (Badilla, 1995; 1999).

2.6.- Método de captura y recaptura de insectos

La técnica de captura-recaptura ha sido ampliamente usada para estimar poblaciones animales, como pájaros, mamíferos, peces, reptiles e insectos (Blower *et al.* 1981).

Según Southwood (1978), este método constituye la mejor alternativa a aquellos basados en el conteo de animales en unidades fijas de hábitat y tiene la ventaja de que su precisión no depende del número de muestras. Otra ventaja de este método es que se pueden utilizar para estimar simultáneamente el tamaño de la población y otros parámetros poblacionales como mortalidad, dispersión y crecimiento.

El método de captura-recaptura tiene su base en una técnica muy sencilla y ampliamente conocida en la literatura como índice (o estimador) de Lincoln o índice de Peterson.

El principio más simple del método, de acuerdo con Poole (1974) consiste en tomar una muestra al azar de una población, marcar a los individuos y liberarlos. Después de cierto tiempo se toma una segunda muestra y el número de individuos marcados y no marcados se cuenta. Si no hay ganancias ni pérdidas en la población durante el intervalo de tiempo y ambas muestras consisten en 100 individuos, la proporción de individuos marcados en la segunda muestra es un estimador del porcentaje de la población total de donde se tomó la muestra inicial. Si el número de individuos marcados en la segunda muestra es de 10, se concluye que la muestra original de 100 representa 10% de la población. Por lo tanto, en este caso el tamaño de la población es de 1000 individuos. Un requisito para usar este método es disponer de una técnica de captura, marcado y liberación de los animales que no los dañe ni afecte su comportamiento una vez liberados en la naturaleza y que puedan ser reconocidos cuando sean recapturados (Southwood, 1978).

Una amplia variedad de materiales y métodos han sido utilizados para marcar animales en investigaciones biológicas. La pintura y tinta fueron los primeros materiales usados para marcar insectos y todavía son comúnmente utilizados para el marcaje de insectos en forma individual o grupal (Hagler y Jackson, 2001). El esmalte de uña, el corrector de texto (tempera), marcadores permanentes no evidencia toxicidad sobre los insectos pintados (Zúñiga *et al.* 2001). El sitio de marcado depende del tamaño y comportamiento del insecto. Se ha observado que en los Scarabaeidae el pronoto y los élitros son los mejores sitios de colocación (Favila, 1988).

2.7.- Uso de entomopatógenos para el control de insectos plagas

Una de las alternativas para el control de plagas es el uso de entomopatógenos (Cuadro 3), ya que tienen la capacidad de reducir poblaciones altas, debido a las características de la especie y de la cepa, ámbito de hospedantes, patogenicidad, virulencia y condiciones ambientales (Fuxa, 1987; Monzón, 2001).

Cuadro 3. Plagas de importancia económica controladas mediante hongos entomopatógenos en diversos cultivos.

Cultivo	Plaga	Hongo entomopatógeno
Café	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
-	<i>Perileucoptera coffeella</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
-	<i>Meloidogyne</i> spp.	<i>Verticillium chlamydosporiu</i> , <i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i>
Repollo	<i>Plutella xylostella</i>	<i>B. bassiana</i>
Caña de azúcar	<i>Aeneolamia postica</i>	<i>M. anisopliae</i>
-	<i>Diatarea saccharalis</i>	<i>M. anisopliae</i>
Papa, caña de azúcar	<i>Phyllophaga</i> spp.	<i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i>
Maíz	<i>Dalbulus maidis</i>	<i>M. anisopliae</i>
Plátano	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>M. anisopliae</i>
Macadamia	<i>Hyalymenus tarsatus</i>	<i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i>
-	<i>Schistocerca piceifrons</i>	<i>M. anisopliae</i> y <i>B. bassiana</i>
Arroz	Varias	<i>M. anisopliae</i>
Varios	Afidos y escamas	<i>Verticillium lecanii</i>

Fuente: Monzón (2001); Hincapié y Leguizamón (1999); Padilla *et al.* (2001); Berlanga y Hernández (2002).

Muchos hongos entomopatógenos pueden ser utilizados para el control de coleópteros, ya que las enfermedades virales y bacterianas son raras en los escarabajos (Hajek y Lager, 1994). Durante las últimas dos décadas se dio una explosión de interés e investigación en el campo del control microbiano, y los escarabeidos. Debido al hábitat en que se desarrollan sus larvas, suponían ser blancos óptimos para esta estrategia de control, siendo plagas del suelo, éstas viven en un medio con temperaturas estables y alta humedad relativa, condiciones ideales para la germinación y desarrollo de la mayoría de los hongos entomopatógenos. El suelo también protege las conidias de la exposición a la radiación solar evitando la pérdida de viabilidad causada por los rayos ultravioleta, en la mayoría de las estrategias de aplicación, los microorganismos son ubicados en el suelo y la infección se logra después del contacto aleatorio entre el microorganismo y la larva (Jackson, 1993; Shannon, 1996).

Poprawski (1985) observó que las larvas de *Phyllophaga* spp. fueron más susceptibles a infecciones de *M. anisopliae* aplicado al suelo a razón de 10.2×10^6 esporas por m^2 de suelo o 10.2×10^{11} esporas por hectárea de suelo en Quebec, Canadá, mostrando mortalidades de 64.42% con dosis de 2.14×10^8 esporas/ m^2 de suelo.

En otro estudio realizado en Quebec se observó que *M. anisopliae* fue más común que *Beauveria bassiana* en poblaciones de *Phyllophaga anxia* también se registró que las larvas de esta especie son más susceptibles a la infección de *M. anisopliae* que a *B. bassiana* (Lin, 1979).

En América Central, Velásquez (1996) reporta que se establecieron parcelas comerciales de caña de azúcar para evaluar la eficiencia de *M. anisopliae* contra *Phyllophaga* spp. mostrando resultados satisfactorios comparado con la aplicación tradicional del insecticida Counter.

En Costa Rica se evaluó la virulencia de 140 aislamientos de *M. anisopliae* sobre *P. menetriesi*, *P. obsoleta* y *P. vicina* en larvas de segundo (L2) y tercer estadio (L3). Se encontró que tres de ellos causaron mortalidad mayor que los demás aislamientos, y mostraron ser virulentos en más de una especie ARE-1 (70% de mortalidad en L3 de *P. menetriesi* y 58% para L2 de *P. vicina*), ARE-2 (78% de mortalidad en L2 de *P. menetriesi* y 75% en L2 de *P. vicina*) y TEP-4 (89% de mortalidad en L2 de *P. menetriesi*, 58% en L3 de *P. vicina* y 100% en L3 de *P. obsoleta* (Shannon *et al.* 1993).

Las larvas de *Phyllophaga* han evolucionado en un ambiente en que constantemente están en contacto con una gran variedad de microorganismos, incluyendo hongos entomopatógenos, por lo que han desarrollado resistencia contra la mayoría de ellos, haciendo que las cepas patogénicas de alta virulencia sean poco comunes. Para el control de algunos escarabeidos, se han puesto al mercado preparaciones en forma de polvo mojable, gránulos o suspensiones de esporas, aunque mucho del trabajo en control de *Phyllophaga* se ha realizado con formulaciones simples y económicas, como mezclas con talco simple o suspensiones acuosas de esporas o conidios (Hidalgo, 2001).

2.8.- Herramientas analíticas poco convencionales en el estudio de plagas subterráneas

El análisis ecológico normalmente incluye investigaciones de dispersión y modelos de asociación entre diferentes especies en lugares y en tiempos distintos, modelos que reflejen la dependencia e independencia espacial. Los modelos geoestadísticos originalmente fueron desarrollados en las ciencias de la tierra para describir y modelar reservas de petróleo y minerales.

La Geoestadística incluye diversos métodos que pueden ser utilizados para cuantificar la dependencia espacial. Estas técnicas proveen información sobre la correlación entre muestras de diversas distancias de interpuntos y direcciones y es una medida más o menos directa de la dependencia espacial a diferencia de los índices de dispersión (Rossi *et al.* 1992; Cressie, 1993).

El uso de la geoestadística se ha hecho muy popular en los estudios de variabilidad espacial de atributos de insectos, permitiendo establecer distancias óptimas de muestreos y mapas para la clasificación y uso de los mismos (Willims, *et al.* 1992; Hohn *et al.* 1993; Nestel y Klein, 1995; Ellsbury *et al.* 1998).

La variabilidad espacial es evaluada a través de los semivariogramas de aquellos atributos seleccionados. El semivariograma experimental se obtiene a partir de semivarianzas omnidireccionales, $\gamma(h)$, a partir de un conjunto de observaciones espaciales, $Z(x_j)$, los cuales son estimados por la siguiente ecuación:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} (Z_i - Z_{(i+h)})^2$$

Donde $N(h)$ representa el número de valores de pares medidos (Z_i, Z_{i+h}) separados por una distancia h . Para este estudio los valores de Z puede ser cualquiera de las propiedades estudiadas, como número de larvas por metro cuadrado; Mientras que los valores de i y $i+h$ están definidos de acuerdo con las posiciones de muestreo en el campo. La dependencia espacial significa autocorrelación, o sea que un valor en cualquier punto depende de algún modo de su vecino más cercano. Esta característica se expresa en la ecuación por la diferencia $(Z_i - Z_{i+h})^2$, suponiendo que la variación no es alterada por la dirección, se puede utilizar el módulo del vector h o la distancia de separación entre muestras. Cuando se obtiene el semivariograma experimental, se obtienen pares de valores de semivarianzas, $\gamma(h)$, y de distancias (h), los cuales deberán ser dispuestos en el gráfico de dispersión teniendo como valores de Y , las semivarianzas, y en X , las distancias. La estimación de los semivariogramas puede realizarse con los siguientes modelos espaciales teóricos: a) Modelo esférico, b) Modelo exponencial, c) Modelo Gaussiano y d) Modelo lineal; estas funciones integran el grupo de modelos denominados de transición (Vieira *et al.*, 1983). Con la información obtenida de los modelos ajustados de los semivariogramas, y con la finalidad de mostrar la variación espacial local de cada una de las variables estudiadas, se pueden generar mapas de isolíneas a través del método de interpolación lineal Kriging ordinario (Isaaks y Srivastava, 1989). Este método permite estimar aquellos valores no conocidos o muestreados en parcelas bajo estudio. Para realizar los mapas de isolíneas se puede utilizar diferentes programas como el GS plus versión 3.11.6 Demo (Gamma Design Software, 1999) y el Surfer version 7.

3.-SINTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.- Objetivo general

Determinar la influencia del guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como hospedante de adultos de *Phyllophaga elenans* sobre la distribución espacial de las poblaciones de larvas en caña de azúcar, y su implicación sobre las posibles prácticas de manejo de la plaga utilizando hongos entomopatógenos.

El estudio consistió en tres experimentos: 1) Patrón de vuelo de adultos de *P. elenans* (Artículo I), 2) Distribución espacial de larvas en función de árboles hospedantes (*Guazuma ulmifolia*) (Artículo II), y 3) Producción y diseminación de hongos entomopatógenos por adultos de ésta especie (Artículo III). Los resultados en extenso se encontraran en los artículos ubicados en los anexos al final de este documento.

3.2.- Materiales y métodos

Patrón de vuelo de adultos de *Phyllophaga elenans*

Se utilizó una metodología de captura-marcaje-liberación-recaptura para determinar el patrón de vuelo de los adultos. Para ello se utilizaron trampas de luz tipo Luis Queiros modificadas durante el período de cópula (abril-mayo). Se ubicaron cinco trampas en cinco sitios diferentes. El incremento en distancia para cada trampa fue de 100 m iniciando a los 50 m de los árboles hospedantes hasta los 450 m. De la captura masiva se marcaron 500 individuos por trampa durante cuatro días consecutivos, luego se liberaron los adultos marcados y posteriormente se realizó la recaptura durante 10 días consecutivos. En total se marcaron y liberaron 9572 adultos de *P. elenans*. Se ubicaron tres trampas tul de 1 m² en el suelo en tres distancias (50, 100 y 150 m) en función de los árboles hospedantes, se realizaron observaciones durante tres días consecutivos con la finalidad de evaluar emergencia y retorno a la misma zona de los adultos de esta especie.

Distribución espacial de larvas de *P. elenans*

Para determinar la densidad larval en función de los árboles hospedantes se seleccionaron seis parcelas de 100 x 100 m con el mismo tipo de suelo y condiciones específicas en cuanto a tipo de vegetación presente: tres parcelas con árboles hospedantes de los adultos de *P. elenans* en el borde del cultivo de caña de azúcar y tres sin presencia del hospedantes.

Para determinar la densidad de larvas y su distribución espacial, se realizó un muestreo a finales de agosto del 2002. Cada unidad muestral consistió en un área de 30 x 30 cm y 30 cm de profundidad.

Se obtuvo una muestra con intervalos de 10 m en una retícula de 100 x 100 m para obtener un total de 100 muestras en cada parcela. Las muestras de suelo se revisaron minuciosamente en el campo y cada espécimen de joboto se colocó en bandejas para cubos de hielo para su posterior identificación.

Producción y diseminación de hongos entomopatógenos

Se realizaron tres pruebas para determinar virulencia y producción de inóculo sobre los cadáveres, transmisión cruzada del inóculo entre sexos y el efecto de la inoculación sobre la prole.

Virulencia y producción de hongos entomopatógenos: Grupos de 10 adultos divididos por sexo fueron inoculados con conidios de tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (RCP-2, 340 y 281), posteriormente los adultos fueron depositados en los baldes con suelo estéril húmedo y follaje de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como alimento. Una semana después de la inoculación se evaluó el porcentaje de mortalidad y la producción de hongo por adulto muerto.

Transmisión cruzada del inóculo: Se inocularon grupos de cinco adultos hembras con conidios de tres aislamientos de *M. anisopliae* (RCP-2, 340 y 281) y se mantuvieron otros cinco grupos de machos no inoculados. Posteriormente ambos grupos de adultos fueron depositados en recipientes con suelo estéril húmedo y follaje de guácimo como alimento. Este mismo procedimiento fue replicado inoculando únicamente machos. A la semana de inoculación se evaluó el porcentaje de mortalidad de adultos no inoculados de ambos sexos.

Efecto de la inoculación sobre la prole: Grupos de 20 adultos (10 hembras y 10 machos) fueron inoculados con conidios de tres aislamientos de *M. anisopliae* (RCP-2, 340 y 281). Después de inoculados, los adultos fueron colocados en baldes plásticos de 20 l de capacidad con aproximadamente 7 l de suelo húmedo y follaje de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como alimento. La incubación se llevó a cabo durante 43 días para permitir la cópula, oviposición, muerte de los adultos y la eclosión de los huevos para evaluar la sobrevivencia de larvas (F₁).

3.3.- Resultados y discusión

Patrón de vuelo de adultos de *Phyllophaga elenans*

De un total de 9572 adultos marcados y liberados en las cinco trampas ubicadas a diferentes distancias únicamente el 0.05% fueron recapturados. Debido a éste número reducido de individuos recapturados en las diferentes distancias en función de los árboles de guácimo no fue posible

determinar un patrón de vuelo definido. Los adultos marcados recapturados fueron encontrados en la trampa ubicada en 250 m y 450 m. No se recapturó ningún adulto marcado en la trampa ubicada a 50 m. La captura inicial de adultos bajo los árboles hospedantes fue fluctuante en cada sitio para las diferentes fechas y muy variable entre sitios. El promedio de captura fue de 554 adultos/trampa/noche, con valores mínimos de 387 hasta 1140 adultos/trampa/noche.

La tasa de captura en las diferentes distancias también fue variable y disminuyó rápidamente al transcurrir las fechas de muestreo. El mayor número de adultos fue colectado a los 250 m durante la primera fecha de colecta, disminuyendo a capturas similares a las observadas en las otras distancias al avanzar el tiempo.

La tasa de captura a través de trampas de tul evidenció que de un total de 17 adultos capturados durante tres días consecutivos únicamente un solo individuo fue recapturado en el mismo sitio de emergencia, pareciera que los adultos no retornan al mismo sitio de emergencia.

Distribución espacial de larvas de *P. elenans*

La densidad larval no fue diferente estadísticamente tanto en parcelas con árboles hospedantes como en ausencia de ellos, a pesar de que en la primera condición se registro un promedio de 44.3 larvas/m²; mientras que en la segunda condición se registro 63.5 larvas/m².

La tendencia de la distribución larval fue muy similar tanto en parcelas con árboles hospedantes como en ausencia de ellos, contrario a lo esperado, la densidad larval de *Phyllophaga elenans* decrece significativamente conforme aumenta la distancia entre el punto de muestreo y la línea de árboles, hasta llegar al punto de cambio de la densidad a los 64 m. El análisis de regresión cuadrática señala que la respuesta del tratamiento es importante a considerarse; ya que por cada metro muestreado en función de los hospedantes hubo un aumento de 2.3 larvas y cuando se llega al punto de cambio de la densidad larval, por cada metro muestreado hubo una disminución de 0.014 larvas. Mientras que la respuesta de las larvas a la ausencia de árboles hospedantes indica que cada metro muestreado a partir de la línea divisoria de las parcela se incrementaba en 1.8 larvas hasta llegar al punto de cambio de densidad y cuando se llega al punto de cambio (66 m) por cada metro muestreado se tiene una disminución de 0.018 larvas.

Los resultados evidencian que las larvas de *P. elenans* muestran una tendencia de agregación hacia los árboles hospedantes; sin embargo, la tendencia no fue muy clara.

La tendencia de la distribución espacial de larvas de *P. elenans* muestra una tendencia hacia una mayor concentración de las larvas aproximadamente a partir de los 15 metros de los árboles hospedantes, mientras que en aquellas parcelas en ausencia de árboles hospedantes la densidad y distribución espacial de las larvas fue más heterogénea. Sin embargo, pareciera que los árboles hospedantes no están jugando un papel determinante en cuanto a densidad y distribución espacial

de las larvas, ya que se registraron densidades altas en parcelas en ausencia de la fuente de alimentación. Debido a las altas densidades de adultos de *P. eleanans*, los árboles más cercanos a las parcelas de caña quedan defoliados, lo cual obliga a los escarabajos que siguen emergiendo a buscar árboles cada vez más alejados del sitio donde nacieron. Este movimiento quizás puede explicar porque aún en parcelas en ausencia de árboles de *Guazuma ulmifolia* ubicadas entre 450 y 600 m se encuentren densidades altas de larvas y en “parches” muy heterogéneos dentro de la misma parcela.

Producción y diseminación de hongos entomopatógenos.

Virulencia y producción de hongos entomopatógenos: A los nueve días después de la inoculación la mortalidad de adultos en los tratamientos RCP-2, 281 y 340 fue de 75, 58 y 60%, respectivamente, mientras que en el testigo no hubo ningún adulto muerto por efecto del hongo, mostrando una diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo ($F = 43.91$, $gl = 3$, $P < 0.0001$).

Las hembras y machos muertos por acción de *M. anisopliae* produjeron igual cantidad de conidias; sin embargo, hubo diferencias significativas entre cepas ($F = 6.50$, $gl = 2$, $P < 0.0053$), destacándose con una mayor producción de conidias la cepa RCP-2 (7.6×10^8), mientras que la cepa 281 presentó una menor producción (9.4×10^7).

Transmisión cruzada del inóculo: Los adultos machos y hembras de *P. eleanans* tratados en forma alterna con *M. anisopliae*, mostraron sensibilidad al microorganismo inoculado. Los valores de mortalidad por micosis alcanzados al inocular solamente a las hembras de la población, muestra que existe una baja transmisión del inóculo hacia los machos durante la cópula.

El porcentaje de mortalidad registrado a los ocho días donde se inoculan únicamente machos evidenció diferencias significativas en cuanto al efecto de las cepas ($F = 3.31$, $gl = 3$, $P < 0.0472$), pero no hubo diferencias en cuanto al sexo. A pesar de no registrarse diferencias en el porcentaje de mortalidad por sexo, se muestra una mayor tendencia a la diseminación del hongo a través de los machos, ya que el porcentaje de mortalidad de hembras no inoculadas con el aislamiento 340 fue mayor que el de los machos.

Efecto de la inoculación sobre la prole: El número de huevos y larvas observados en todos los tratamientos con hongo después de 43 días de incubación fue mucho menor que en el testigo ($F = 16.12$, $gl = 3$, $P < 0.0001$).

Los resultados confirman la eficacia de *M. anisopliae* sobre los adultos de *P. elenans* y un efecto sobre la reducción a la supervivencia de su prole. Por lo tanto, las tres cepas constituyen una alternativa viable para su incorporación en programas de manejo integrado de plaga. Los adultos inoculados que esporulan son fuente de inóculo y logran que el entomopatógeno persista en el suelo infectando otros adultos y a su prole en los primeros instares. En promedio un adulto de *P. elenans* produjo 4.3×10^8 conidias, por lo que sería necesario inocular 2326 adultos para una dosis de 1×10^{12} conidias/ha. Según los datos de captura de adultos para la zona, se podría lograr fácilmente utilizando dos trampas de luz durante dos días, debido a que la tasa de captura para la región fue de 554 adultos por trampa por noche, destacando que estas trampas únicamente permanecieron encendidas durante una hora. Esto indica que si éstas permanecen por más tiempo podría incrementarse la tasa de captura.

A pesar de que los aislamientos utilizados en este estudio fueron originalmente seleccionados por su actividad sobre la larva en esta misma especie, éstos presentaron un gran potencial para controlar o infectar adultos y transmitirse luego a las larvas. Es importante destacar que los aislamientos que resultaron patogénicos para la especie, no siempre causaran mortalidad en otra plaga, lo que nos permite sugerir la existencia de especificidad en las distintas cepas, justificando la realización de pruebas preliminares y prospecciones en busca del aislamiento más eficaz para determinada plaga.

3.4.- Conclusiones generales

- Tanto la tasa de captura de adultos a diferentes distancia de la línea de árboles hospedantes, como la distribución y densidad larval en parcelas con y sin árboles hospedantes muestran que la distribución de la plaga es muy heterogénea y que, pese a haber mostrado cierto efecto en los patrones de agregación, la presencia de vegetación no juega un papel determinante en esta especie en el sitio de estudio.
- Debido a que tanto las hembras como los machos tienen la capacidad de diseminar el entomopatógeno en zonas de oviposición de la plaga, el uso de cepas de *Metarhizium anisopliae* constituye una herramienta promisoría dentro de una estrategia de manejo integrado tanto de larvas como de adultos de *P. elenans*, pudiéndose calcular la dosis promedio de conidias por hectárea de acuerdo al número de adultos inoculados.

3.5.- Recomendaciones generales

- Continuar con la generación de experiencias sobre el procedimiento de captura-marcado-recaptura de adultos de *P. elenans* considerando nuevas técnicas que permitan aumentar el número de adultos marcados, debido a la alta tasa de emergencia en la zona de estudio.
- Combinar el sistema captura con trampas de tul y técnicas de marcado de adultos, utilizando al menos 25 trampas por hectárea distribuidas simétricamente, para monitorear el comportamiento de vuelo y oviposición de la población local.
- Diseñar un mecanismo para adaptar a la trampa de luz un dispositivo que permita mantener un recipiente que contenga el hongo entomopatógeno para que durante la captura, los adultos se impregnen y puedan diseminar el entomopatógeno en la zona de oviposición.
- Evaluar, al nivel de campo y por varios ciclos, el efecto de la inoculación de adultos con cepas de *M. anisopliae* utilizadas en este estudio, sobre la incidencia de larvas en el cultivo de caña de azúcar.

4.- LITERATURA CITADA

- Abarca, G., Quesada, M. 1997. Especies del complejo de jobotos (*Phyllophaga* spp., *Anomala* spp. y *Cyclocephala* spp.) asociadas a cultivos en el Valle Central y Pacífico de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana* 8(2): 44-53.
- Abarca, G., Vargas, E., Mata, R. 1992. Alternativas de combate del complejo de larvas de jobotos (*Phyllophaga* spp., *Anomala* spp. y *Cyclocephala* spp.) (Col.: Scarabaeidae) en fresa (*Fragaria ananassa*). *Agronomía Costarricense* 16(1):45-54.
- Andrew, KL., Navas, D. 1989. La relación entre la plaga y el cultivo. In: Andrews, KL., Quesada, JR. (Eds.). *Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura*. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Honduras. p. 129-144.
- Aragón, A., Morón, MA. 1998. Evaluación del daño ocasionado por el complejo "gallina ciega" (Coleoptera:Melolonthidae) en el estado de Puebla, México.). In: Morón, MA. y Aragón, A. (Eds.). *Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros*

- edafícolas americanos. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. Puebla, México. pp. 143-150.
- Aragón, A., Morón, MA., Tapia-Rojas, AM., Rojas-García, R. 1998. Las especies de Coleoptera:Melolonthidae relacionadas con plantas cultivadas en el estado de Puebla, México. In: Morón, MA. y Aragón, A. (Eds.). Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros edafícolas americanos. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. Puebla, México. p. 131-142.
- Aragón, A., Morón, MA. 2000. Los coleópteros Melolonthidae asociados a la rizosfera de la caña de azúcar en Cítela, Puebla, México. Folia Entomológica Mexicana 108:79-94.
- Badilla, F. 1985. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 37: 26-33.
- Badilla, F., Chacón, M., Sáenz, C. 1999. Utilización de trampas de luz para la captura de adultos de *Phyllophaga* spp. en caña de azúcar, en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 51: 59-65.
- Berlanga P., AM. Hernández V., VM. 2002. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y la virulencia de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* y *Beauveria bassiana* en *Schistocerca piceifrons*. Manejo Integrado de Plagas. 63: 51-55.
- Blower, JG., Cook, LM., Bishop, JA. 1981. Estimating the size of animal populations. George Allen and Unwin Limited. London, England. 127 pp.
- Carballo, M., Jiménez, J. 1993. Evaluación del ataque de *Phyllophaga* sp. en maíz cultivado en callejones de *Erythrina poeppigiana*. Turrialba, CATIE. (Documento interno) Inédito.
- Coto, D. 2000. Gallinas ciegas como plagas de cultivos anuales y perennes. Manejo Integrado de Plagas 32: i-iv. Hoja Técnica.
- Cressie, NAC.1993.Statistics for spatial data. Revised Edition; New York: John Wiley and Sons. inc.900 pp.

- Cruz-López, JA. 1999. Alternativas de manejo de "gallina ciega" (Coleoptera:Melolonthidae) en maíz en Amatenango del Valle, Chiapas. Tesis de Lic. en Biología. Chiapas-México. Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas. 110 pp.
- Cruz-López, JA. 2001. Supresión manual de adultos de *Phyllophaga* spp. y *Anomala* spp. en maíz en México. Manejo Integrado de Plagas 59: 41-47.
- Ellsbury, MM., Woodson, WD., Clay, SA., Malo, D., Schumacher, J., Clay, DE., Carlson, CG. 1998. Geostatistical characterization of spatial distribution of adult corn rootworm (Coleoptera:Chrysomelidae) emergence. Environmental Entomology 27(4): 910-917.
- Favila, ME. 1988. Un método sencillo para marcar escarabajos. Folia Entomológica Mexicana 75: 117-118.
- Fuxa, JR. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. Annual Review of Entomology 32: 225-251.
- Gamma Design Software, 1999. GS Plus: Geostatistics for the environmental sciences release 3.11.6 Demo.
- Gómez, B., Villalobos, FJ., Ruiz, L., Castro, AE. 1999. Observaciones sobre la bioecología de melolontidos (Coleoptera:Scarabaeoidea) en una localidad de Los Altos de Chiapas, México. Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie) 78: 173-177.
- González B., G. 1985. Métodos estadísticos y principio de diseño experimental. 2ª. ed. Editorial Universitaria. Quito, Ecuador. 371 pp.
- Jackson, TA. 1993. Developing microbial controls for scarab pest. In: Morón, MA.(Ed.) Diversidad y Manejo de plagas subterráneas. Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. p. 183-192.
- Hajek, AE., Leger, ST. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology 39:293-322.

- Hagler, JR., Jackson, ChG. 2001. Methods for marking insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review Entomological* 46: 511-543.
- Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. *Manejo Integrado de Plagas* 37. pp. i-iv. Hoja Técnica.
- Hilje, L., Shannon, PJ., Coto, D. 1993. Insectos asociados con *Erythrina* spp. en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 28:36-42.
- Hilje, L. 1996. Notas sobre *Phyllophaga* spp. (Coleoptera:Scarabaeidae) en papa, en Cartago, Costa Rica. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 114-118.
- Hilje, L. 1996. Estacionalidad de adultos de Scarabaeidae (Coleoptera) en Barva, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 44(2):719-729.
- Hincapié R., D., Leguizamón C., JE. 1999. Efecto de *Verticillium chlamydosporium* en el control de *Meloidogyne* spp. en almácigos de café, var. caturra. *Cenicafe* 50(4): 286-298.
- Hohn, ME., Liebhold, AM., Gribko, LS. 1993. Geostatistical model for forecasting spatial dynamics of defoliation caused by the gypsy moth (Lepidoptera:Lymantriidae). *Environmental Entomology* 22 (5): 1066-1075.
- King, ABS. 1984. Biology and identification of white grubs (*Phyllophaga*) of economic importance in Central America. *Tropical Pest Management* 30(1): 36-50.
- King, ABS. 1985. Factors affecting infection by larvae of *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) in Costa Rica. *Bulletin Entomological Research* 5:417-427.
- King, ABS. 1996. Biología e identificación de *Phyllophaga* de importancia económica en América Central. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 33-43.

- Lastres de Rueda, L. 1996. Incidencia de *Phyllophaga spp.* en Honduras. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 8-15.
- Lavalle, P., Maury, ME., Serrano, V. 1981. Estudio cuantitativo de la fauna del suelo en la región de Laguna Verde, Veracruz.. In: Reyes-Castillo, P (Ed.). *Estudios ecológicos en el trópico mexicano.* Publicación 6, Instituto de Ecología, A.C., México. p. 71-105.
- Lim, K. 1979. Bionomics of the common june beetle *Phyllophaga anxia* (Coleoptera: Scarabaeidae) with particular reference to distribution, life history and natural enemies in the Southern Québec. Thesis Ph. D. Montreal, Canadá. 230 pp.
- Luna L., H. 1992. Dinámica poblacional y evaluación de daños ocasionados por *Phyllophaga spp.* (Coleoptera: Scarabaeidae) y *Agrotis ipsilon* Hufhagel (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz en Cerrito Colorado, municipio de Jilotepec, Estado de México. Tesis Lic. Ing. Agr. México. Universidad Autónoma de Chapingo. 82 pp.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas* 63: 95-103.
- Moron, MA. 1981. Fauna de coleópteros Melolonthidae de la reserva de la biosfera "La Michilia", Durango, México. *Folia Entomológica Mexicana* 50: 3-69.
- Morón, MA. 1984. Escarabajos, 200 millones de años de evolución. Publicación del Instituto de Ecología No. 14, México. 132 pp.
- Morón, MA. 1986. El género *Phyllophaga* en México: morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). Instituto de Ecología. México. Publicación 20. 341 pp.
- Morón, MA. 1993. Las especies de *Phyllophaga* (Coleoptera:Melolonthidae) del estado de Veracruz, México. *Diversidad, Distribución e Importancia.* In: Morón, MA. (comp.). *Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas.* Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. p. 55-82.

- Morón, MA. 1996. Diagnóstico y taxonomía de *Phyllophaga spp.* (Coleoptera:Melolonthidae) en Centroamérica. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 62-73.
- Morón, MA., Hernández, S., Ramírez, A. 1996. El Complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) asociado con la caña de azúcar en Nayarit, México. *Folia Entomológica Mexicana* 98:1-44.
- Morón, MA., Ratcliffe, BC., Deloya, C. 1997. Atlas de los escarabajos de México. Coleoptera Lamellicornia. Vol. 1. Familia Melolonthidae. Comisión Nacional de la Biodiversidad - Sociedad Mexicana de Entomología. México. 280 pp.
- Morón, MA., Tapia-Rojas, AM., Rojas-García, R. 2000. Coleoptera Lamellicornia de la Sierra del Tentzo, Puebla, México. *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)*. 79: 77-102.
- Morón, MA., Aragón-García, A., Hernández-Rodríguez, S. 2001. Importancia de las larvas edafícolas de Coleoptera Melolonthidae en América Latina. Instituto de Ecología A.C. México. s.p.
- Nájera-Rincón, MB. 1993. Coleópteros rizófagos asociados al maíz de temporal en el centro del estado de Jalisco, México. In: Morón, MA. (Ed.). *Diversidad y manejo de plagas subterráneas. Memorias de la IV Mesa redonda sobre plagas subterráneas.* Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. p: 143-154.
- Nestel, D., Klein, M. 1995. Geostatistical analysis of leafhopper (Homoptera:Cicadellidae) colonization and spread in deciduous orchards. *Environmental Entomology*. 24(5): 1032-1039.
- Padilla H., BE., Leguizamón C., JE., Velasquez S., ET. 2001. Evaluación de formulaciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de *Meloidogyne spp.* *Cenicafe* 52(4): 249-269.
- Poole. RW. 1974. *An introduction to quantitative ecology.* McGraw-Hill. 532 pp.

- Poprowsky, T. 1985. Natural enemies of *Phyllophaga* spp. (Coleoptera:Scarabaeidae) in the Southern Quebec, with especial reference to entomopathogens. Thesis Ph.D. Montreal, Canada. 336 pp.
- Ramírez S., C., Castro R., A. 2000. El complejo "gallina ciega" (Coleoptera:Melolonthidae) en el cultivo de maíz, en El Madronal, municipio de Amatenango del Valle, Chiapas, México. Acta Zoológica Mexicana 79:17-41.
- Rodríguez del Bosque, LA. 1980. Pérdidas en maíz por plagas del suelo en el norte de Tamaulipas. Folia Entomológica Mexicana. 45: 97-98.
- Rodríguez del Bosque, LA. 1988. *Phyllophaga crinita* (Burmeister) (Coleoptera: Melolonthidae); historia de una plaga del suelo (1855-1988). In: Morón, MA. (Ed.). Memorias de la III Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Sociedad Mexicana de Entomología, Morelia, Michoacán. México. p.53-80.
- Rodríguez, A., Sáenz, C., Salazar, JD., Alfaro, D., Oviedo, R. 2000. Manejo integrado y perspectivas de control de jobotos *Phyllophaga* spp. (Coleoptera:Melolonthidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica (en línea). Dirección de Investigación y Extensión de la caña de azúcar (DIECA-LAICA). Consultado 15 mayo 2002. Disponible en <http://www.infoagro.go.cr/tecnologia/cana/MANEJOBPhyllophaga%20spp.html>
- Rossi, RE., Mull, DJ., Journel, AG., Franz, EH. 1992. Geostatistical tool for modeling and interpreting ecological spatial dependence. Ecological monographs 62(2): 277-314.
- Shannon, PJ., Smith, SM., Hidalgo, E. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp (Coleoptera:Scarabaeidae). In Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas. Veracruz, México, Sociedad Mexicana de Entomología-Instituto de Ecología. p. 203-215.
- Solís, A., Morón, MA. 1998. Distribución, diversidad e importancia de las especies de *Phyllophaga* Harris en Costa Rica (Coleoptera:Melolonthidae). In: Morón, MA. y Aragón, A. (Eds.). Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros edafícolas americanos. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. Puebla, México. p. 19-28.

- Southwood, TRE. 1978. Ecological methods with particular reference to the study of insect populations. Chapman and Hall. London. 524 pp.
- Velásquez, M. 1996. Incidencia y control del complejo *Phyllophaga spp.* en Guatemala. In: Shannon, P y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 1-5
- Vieira, S. R., J. L. Hatfield, D. R. Nielsen and J. W. Biggar. 1983. Geostatistical Theory and application to variability of some agronomical properties. *Hilgardia* 51(3):1-75.
- Villalobos, FJ., Lavalle, P. 1990. The soil Coleoptera community of a tropical grassland from Laguna Verde, Veracruz (México). *Revista Ecología Biológica* 27(1): 73-93.
- Villalobos, FJ. 1991. The community structure of soil Coleoptera (Melolonthidae) from a tropical grassland in Veracruz, Mexico. *Pedobiologia* 35: 225-238.
- Villalobos, FJ. 1995. El manejo sostenible de plagas del suelo: el caso las larvas de Melolonthidae. Aragón, A. (Ed.). *Métodos alternativos al químico para el control de plagas. Publicación especial de la Sociedad Mexicana de Entomología*, Puebla, Puebla. México. p. 69-89.
- Villalobos, FJ. 1999. The sustainable management of white grubs (Coleoptera:Melolonthidae) pest of corn in "El Cielo" Biosphere Reserve, Tamaulipas, Mexico. *Journal of Sustainable Agriculture* 14(1): 5-29.
- Williams, L., Schotzko, DJ., McCaffrey, JP. 1992. Geostatistical description of the spatial distribution of *Limonius californicus* (Coleoptera:Elateridae) wireworms in the Northwestern United States, with comments on sampling. *Environmental Entomology*. 21(5): 982-995.
- Zúñiga, JA., Barrera, JF., Williams, T., Valle-Mora, J. 2001. Estimación del chacuatete a través de captura-recaptura. In Barrera, JF. (Ed.). *Tres plagas de café en Chiapas. El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, México.* p. 69-78.

Artículo I

1.- Patrón de vuelo de *Phyllophaga elenans* en función del guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como fuente de alimentación en caña de azúcar

1.1. Introducción

En América Central, varias especies de coleópteros rizófagos de la familia Melolonthidae son plagas agrícolas. Pertenecen a los géneros *Phyllophaga*, *Anomala*, *Cyclocephala* y *Bothymus*, de los cuales predominan los dos primeros, con 17 y 12 especies respectivamente (King, 1996; Saunders *et al.* 1998).

El territorio que ocupa Costa Rica ofrece una gran cantidad de ambientes de montaña que son aptos para el desarrollo de grupos de especies originados en las cordilleras de la zona de transición Mexicana o en los Andes. Como parte de la entomofauna costarricense con amplia distribución ecológica y geográfica que se supone que evolucionó en los territorios septentrionales, se encuentren los miembros del género *Phyllophaga*. Los adultos se conocen localmente con el nombre popular de “abejones de mayo” y a sus larvas se les llama “jobotos” (Solís y Morón, 1998). La limitada información sobre el comportamiento de *Phyllophaga* ha dificultado el desarrollo de estrategias eficaces para el manejo de la plaga. El patrón de distribución en parches de las larvas en los campos de cultivo es un hecho bien conocido; sin embargo, se desconocen los factores que inducen este comportamiento. La presencia de árboles o vegetación hospedante del estadio adulto de este género se ha mencionado como un factor que favorece el incremento de las poblaciones de larvas en los campos adyacentes (Glogoza *et al.* 1998), pero no existen datos convincentes que lo demuestren. La posibilidad de predecir zonas con proporción a altas infestaciones de larvas serían una valiosa herramienta para priorizar la aplicación de medidas de control. En este sentido se hace necesario determinar el papel de la vegetación hospedante sobre la distribución y abundancia de las larvas.

Una forma para determinar esta relación es el uso de técnicas de captura, marcado, liberación y recaptura de adultos. Se ha observado que las poblaciones de insectos de una localidad dada fluctúan durante el año. Con el uso de trampas de luz en algún lugar determinado, se pueden hacer estimaciones relativas de las poblaciones y sus dinámicas (Arellano, 1983). Dada la importancia que juega la vegetación circundante a los cultivos adyacentes, el objetivo de este trabajo fue estimar distancias de vuelo de los adultos de *Phyllophaga elenans* utilizando trampas de luz en caña de azúcar y determinar tasas de captura en función de la fecha de captura cerca y a diferentes distancias de los árboles hospedantes.

1.2 Materiales y Métodos

1.2.1 Descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Hacienda “El Palmar”, ubicada en Miramar, Provincia de Puntarenas, a $10^{\circ} 08' 12''$ N y $84^{\circ} 44' 07''$ O (Figura 1.1). Este lugar se constituye geológicamente por materiales de los períodos Terciario y Cuaternario. Los tipos de suelo que se encuentran en la hacienda son: arenosos, francos y arcillosos. El sistema fluvial corresponde a la vertiente del Pacífico, el cual pertenece a las cuencas de los ríos Abangares y Barranca. La zona de estudio se encuentra a 30-40 msnm. Presenta una precipitación promedio anual de 3,089.5 mm, con una temperatura promedio anual de 26°C (Chinchilla, 1987).

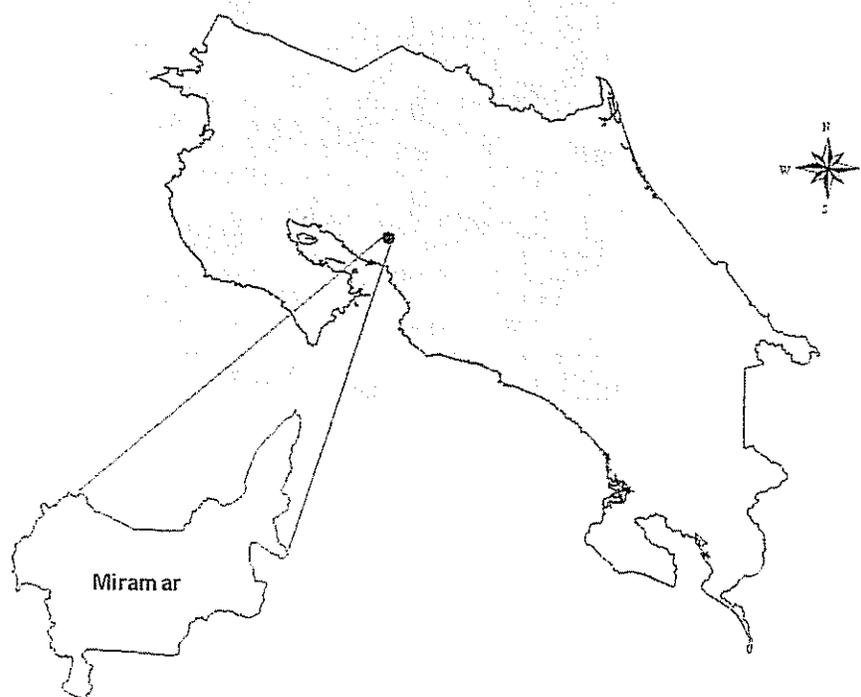


Figura 1.1 Localización del área de estudio.

1.2.2 Metodología

1.2.2.1 Captura-marcado-recaptura de adultos de *P. elenans* con trampas de luz

Para la captura de los adultos se utilizaron trampas de luz tipo Luis Queiros modificadas (por el autor) durante el periodo de cópula (Figura 1.2) entre el 27 de mayo y el 6 de junio del 2002. Se realizaron capturas diarias encendiendo las trampas entre las 18:30 a 19:30 h. De la recolección diaria se marcaban 500 individuos utilizando esmalte de colores, tempera blanca y marcadores permanentes (Favila, 1988; Hagler y Jackson, 2001; Zúñiga *et al.* 2001).

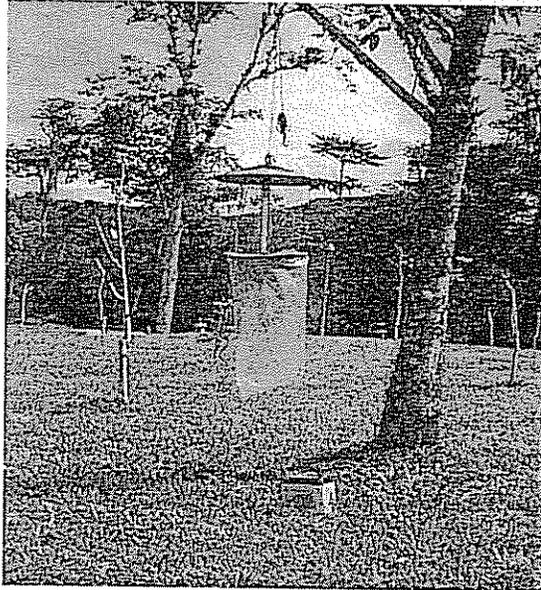


Figura 1.2 Trampa de luz tipo Luis Queiros modificada por el autor para la colecta de adultos de *P. elenans*.

Los insectos marcados se liberaron en la zona de colecta durante la misma noche de captura. Se realizaron un total de cuatro días de captura y marcaje utilizando sitios diferentes sobre el insecto para distinguir entre fechas de captura y colores para distinguir entre sitios (Figura 1.3 y 1.4). La recaptura de los insectos liberados se inició a partir del segundo día de recolecta hasta completar diez días consecutivos, colocando trampas de luz a 50, 150, 250, 350 y 450 m de separación del sitio de colecta y liberación, el cual se ubicó bajo la línea de árboles hospedantes. Cada una de las cinco distancias de recaptura correspondió a un sitio distinto con suficiente separación entre sí para no causar interferencia entre trampas.

Se contabilizó el número de adultos recapturados con marcas a diferentes distancias, el número de adultos capturados bajo los árboles hospedantes y el número de adultos capturados en las trampas de luz ubicadas en diferentes distancias.

Con los datos se estimó la curva de captura y recaptura en función de la distancia de las trampas y la fecha captura.

tu, entre las 18:30 y 19:00 h se realizaban las observaciones y marcaje de todos los adultos, posteriormente se liberaban y al día siguiente se hacían las observaciones correspondientes. Se evaluó la recaptura de insectos marcados durante tres días consecutivos.

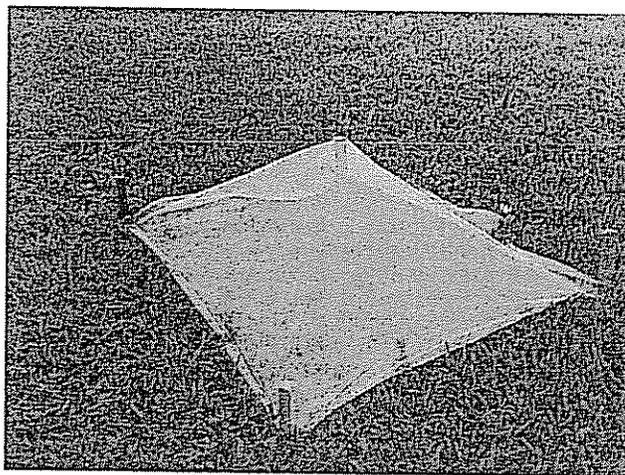


Figura 1.4 Trampa tul para captura de adultos de *P. elenans*.

1.3 Resultados y discusión.

1.3.1 Captura, marcado, liberación y recaptura de adultos

De un total de 9572 adultos marcados y liberados en las cinco trampas ubicadas a diferentes distancias únicamente el 0.05% fueron recapturados. Debido al número reducido de individuos recapturados en las diferentes distancias en función de los árboles de guácimo esto no permitió determinar un patrón de vuelo definido. Los adultos marcados recapturados fueron encontrados en la trampa ubicada a 250 m y 450 m. No se recapturó ningún adulto marcado en la trampa ubicada a 50 m. (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1. Total de individuos marcados, capturados y recapturados con trampas de luz en el Ingenio El Palmar, Puntarenas, Costa Rica.

Distancia de las trampas (m)	Marcados	Recapturados	Capturados
50	1572	0	1572
150	2000	1	3083
250	2000	0	2948
350	2000	3	2440
450	2000	1	3794

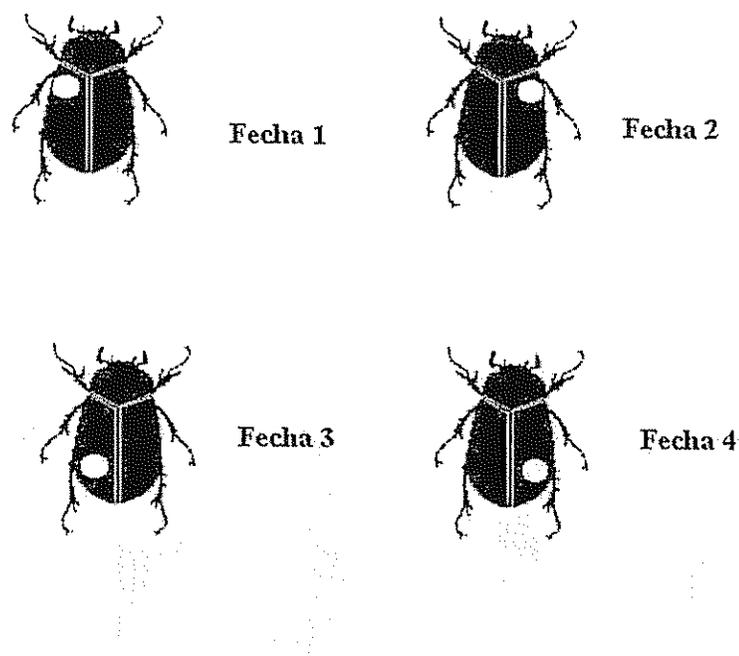


Figura 1.3 Diagrama para el marcado de adultos de *P. elenans* para diferenciar fecha de captura.

1.2.2.2 Relación del sitio de emergencia y oviposición de los adultos

Se establecieron dos pruebas para determinar si los adultos tienden a regresar al área de donde emergieron para ovipositar.

1.2.2.2.1 Captura de adultos con trampa de luz

Grupos de 500 adultos fueron capturados en cinco sitios utilizando trampas de luz colocadas a 50, 150, 250, 350 y 450 m de la línea de árboles hospedantes (cada distancia correspondió a uno de los sitios). Los insectos fueron marcados con esmalte para uñas, tempera blanca y marcadores permanentes y fueron liberados la misma noche bajo los árboles hospedantes, para observar si regresaban hasta las trampas de luz en donde fueron capturados originalmente. Se evaluó la recaptura de insectos marcados durante tres días consecutivos.

1.2.2.2.2 Captura de adultos con trampa de tul

Se colocaron tres trampas de tul de 1 m² en el suelo (Figura 1.4), dichas trampas se ubicaron a 50, 100 y 150 m de la línea de árboles hospedantes. A partir de las 16:00 h se colocaba la tela sobre el suelo sujeta con estacas de madera para sellar completamente la superficie del suelo con la tela

La captura inicial de adultos bajo los árboles hospedantes fue fluctuante en cada sitio para las diferentes fechas y muy variable entre sitios. El promedio de captura fue de 554 adultos/trampa/noche, con un ámbito de 387 a 1140 adultos (Figura 1.5).

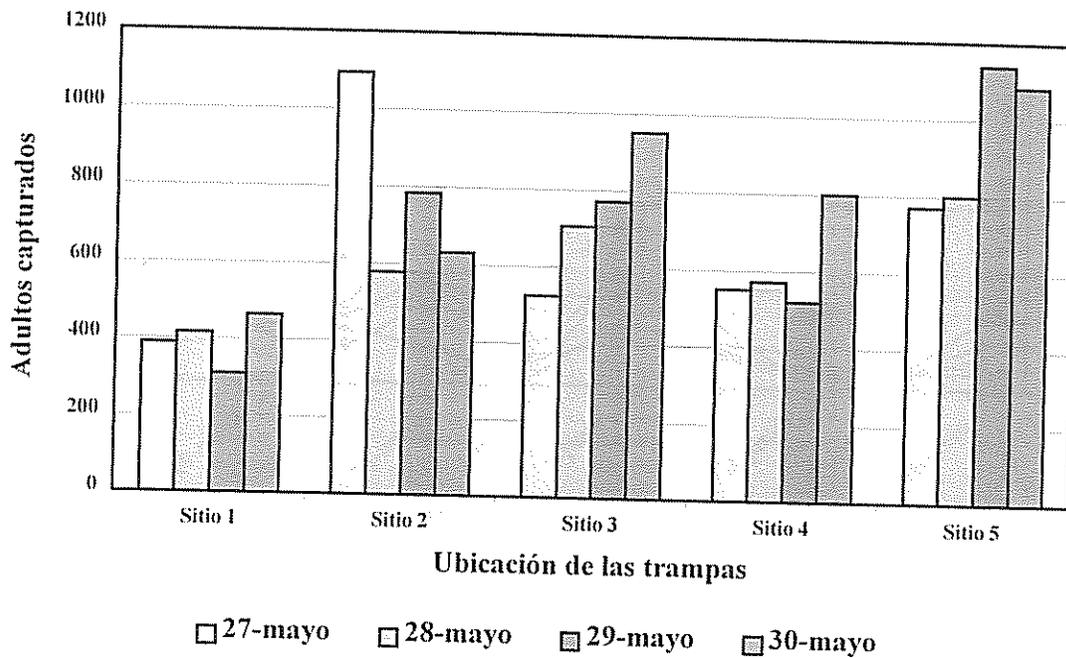


Figura 1.5 Total diario de adultos de *Phyllophaga elenans* capturados con trampa de luz en el punto de captura y liberación bajo los árboles hospedantes, en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica

La tasa de captura en las diferentes distancias también fue variable y disminuyó rápidamente al transcurrir el estudio. El mayor número de adultos fue colectado a los 250 m durante la primera fecha de colecta, disminuyendo a capturas similares a las observadas en las otras distancias al avanzar el estudio. Contrario a lo esperado, la menor tasa de captura se obtuvo en la trampa ubicada a 50 m de los árboles hospedantes (Figura 1.6).

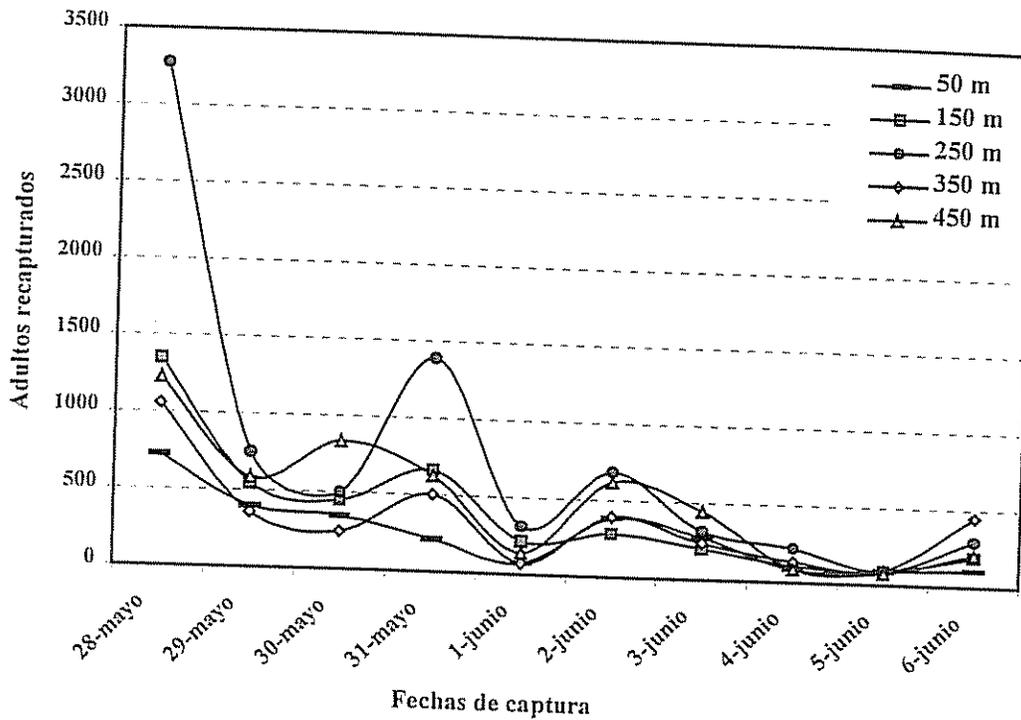


Figura 1.6 Total de adultos capturados por día, con trampas de luz a diferentes distancias de árboles de guácimo en caña de azúcar en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica

Hubo diferencia en cuanto al promedio y a los valores mínimos y máximos de captura obtenidos en este estudio y los reportados por Badilla *et al.* (1999) quienes indican que en CATSA, Guanacaste capturaron en promedio 2648 adultos/trampa/noche, con valores de 26 hasta 5415 adultos. Esta diferencia se puede atribuir a factores como el tamaño de la trampa, población de adultos en cada sitio y el intervalo de captura por noche. Morón *et al.* (1996) reportan un promedio de 2170 adultos de *Phyllophaga* spp. por noche de trampeo en diferentes localidades cañeras de Tepic, Nayarit, México durante 1994-1996; en cinco noches de captura obtuvieron un promedio de 124 y 806 adultos de *Phyllophaga*, lo que concuerda con los datos obtenidos en esta investigación. Sin embargo, Hilje (1996) reporta capturas entre 38 y 212 adultos, poniendo de manifiesto el posible efecto de los factores anteriormente mencionados sobre la eficiencia de la captura.

Los adultos marcados recapturados fueron encontrados entre 250 m y 450 m. No se recapturó ningún adulto marcado en la trampa ubicada a 50 m. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Argüello *et al.* (1999) quienes indican que no capturaron adultos marcados de *Phyllophaga* en las trampas de luz a distancias entre 5 y 25 m. Morón *et al.* (2000) indican que algunas especies, como *P. martinezpalaciosi* se encontraron alimentándose a menos de 20 m de una trampa de luz; sin embargo, en nuestra investigación no se logró capturar ningún adulto marcado en los puntos más cercanos al sitio de liberación (50 y 150 m).

1.3.2 Relación del sitio de emergencia y oviposición de los adultos

1.3.2.1 Captura de adultos a través de trampa de luz y tul.

Con la utilización de las trampas de luz de un total de 7500 adultos marcados y liberados en la zona de árboles hospedantes ninguno de éstos adultos fueron capturados en las diferentes distancias (50 hasta 450 metros), esto parece indicar que los adultos no emergen todos los días. Sin embargo, Moron *et al* (1999) reportan que los adultos de *Phyllophaga* vuelan hacia los árboles recorriendo distancias muy variadas que, según las observaciones directas en Nayarit, México pueden acercarse a los 1000 m en una primera etapa de vuelo y continuar si es necesario por otra distancia similar o superior en una segunda etapa. Sin embargo, se ha observado que bajo condiciones controladas de laboratorio la actividad de vuelo, cópula y alimentación es continua para *P. elenans* y otras especies congénères (Hidalgo, 2002 Comp. Pers.).

La tasa de captura a través de trampas de tul evidenció que de un total de 17 adultos capturados durante tres días consecutivos únicamente un solo individuo fue recapturado en el mismo sitio de emergencia (Cuadro 1.2). Según las observaciones realizadas estos adultos no retornan al mismo lugar de emergencia, siempre buscan los árboles de *Guazuma ulmifolia* para alimentarse y pueden copular a nivel del suelo, en hierbas o arbustos. Estas observaciones concuerdan con lo reportado por Coto (2000); Hilje *et al.* (1993); quienes indican que los vuelos y apareamientos se dan al atardecer, ambos sexos son atraídos hacia las plantas y árboles de hoja ancha, en los cuales se alimentan.

Cuadro 1.2. Total de individuos capturados y recapturados a través de trampas de tul en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica.

Distancia de las trampas (m)	Capturados y marcados	Recapturados
50	7	0
100	2	0
150	8	1

De los resultados obtenidos durante la captura, se observó un número reducido de adultos durante el segundo día de captura, esto apoya la idea que algunos adultos vuelven a emerger al siguiente día; sin embargo, éstos datos no son contundentes para afirmar tal situación más bien se apoya la propuesta de Morón (1985) quien argumenta que la población de adultos de gallina ciega observadas en México aparentemente no es la misma cada día en un mismo sitio determinado. Esta variación podría ser una respuesta a variaciones en las condiciones ambientales (Sweetman, 1931; Fluke *et al.* 1932; Shorey *et al.* 1960).

1.4 Conclusiones

- La tasa de captura de adultos a diferentes distancias de la línea de árboles hospedantes mostró que la plaga tiene una distribución muy heterogénea.
- A mayor distancia (450 m) se obtuvieron tasas de captura altas, lo que sugiere que los adultos pueden volar distancias largas en busca de alimento o condiciones idóneas para la oviposición.
- El número reducido de individuos recapturados en las diferentes distancias no permitió determinar un patrón de vuelo definido en los campos cañeros del Ingenio El Palmar, Puntarenas.
- Las trampas de luz y tul son herramientas útiles para realizar estimaciones relativas de las poblaciones de *Phyllophaga elenans* en la zona de estudio.

1.5 Recomendaciones

- Continuar con la generación de experiencias sobre el procedimiento de captura-marcado-recaptura de adultos de *Phyllophaga elenans* considerando nuevas técnicas que permitan aumentar el número de adultos marcados, debido a la alta tasa de emergencia en la zona de estudio.

1.6 Literatura Citada

- Arellano Dávila, E. 1983. Dinámica poblacional de *Phyllophaga crinita* (Burmeister) capturadas con lámpara trampa. Marín, Nuevo León. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. 62 pp.
- Arguello, H., Cáceres, O., Monzón, A. 1999. Validación de trampas de luz artesanal para controlar adultos de gallina ciega (*Phyllophaga* spp.) en Estelí, Nicaragua. Revista Nicaragüense de Entomología 48: 1-13.
- Badilla, F., Chacón, M; Sáenz, C. 1999. Utilización de trampas de luz para la captura de adultos de *Phyllophaga* spp. en caña de azúcar, en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 51: 59-65.

- Chinchilla V., E. 1987. Atlas de Costa Rica. Instituto de Fomento y Asesoría Municipal. San José, Costa Rica. 396 pp.
- Coto, D. 2000. Gallinas ciegas como plagas de cultivos anuales y perennes. Manejo Integrado de Plagas 32: i-iv. Hoja Técnica.
- Favila, ME. 1988. Un método sencillo para marcar escarabajos. Folia Entomológica Mexicana 75: 117-118.
- Fluke, CL., Graber, LF., Koch, K. 1932. Populations of white grubs in pastures with relation to the environment. Ecology 13(1):43-50.
- Glozoa, PA., Weiss, MJ., Rao, MB. 1998. Spatial distribution of *Phyllophaga implicita* (Horn) (Coleoptera:Scarabaeidae) larvae in relation to distance from the adult food source. Journal of Economic Entomology 91(2): 457-463.
- Hagler, JR., Jackson, ChG. 2001. Methods for marking insects: Current techniques and future prospects. Annual Review Entomological 46: 511-543.
- Hilje, L., Shannon, PJ., Coto, D. 1993. Insectos asociados con *Erythrina* spp. en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 28:36-42.
- Hilje, L. 1996. Estacionalidad de adultos de Scarabaeidae (Coleoptera) en Barva, Costa Rica. Revista Biología Tropical 44(2):719-729.
- King, ABS. 1996. Biología e identificación de *Phyllophaga* de importancia económica en América Central. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). Biología y Control de *Phyllophaga* spp. CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 33-43.
- Morón, MA. 1986. El género *Phyllophaga* en México: morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). Instituto de Ecología. México. Publicación 20. 341 pp.
- Morón, MA., Hernández, S., Ramírez, A. 1996. El Complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) asociado con la caña de azúcar en Nayarit, México. Folia Entomológica Mexicana 98:1-44.

- Morón, MA., Tapia-Rojas, AM., Rojas-García, R. 2000. Coleoptera Lamellicornia de la Sierra del Tentzo, Puebla, México. *Acta Zoológica Mexicana (Nueva Serie)*. 79: 77-102.
- Saunders, JL.; Coto, D.; King, ABS. 1998. Las plagas invertebradas de cultivos alimenticios anuales en América Central. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 306 pp.
- Shorey, HH., Burrage, RH., Gyrisco, GG. 1960. The relationship between several environmental factors and the density of european chafer larvae in permanent pasture sod. *Ecology* 41(2): 253-258.
- Solís, A., Morón, MA. 1998. Distribución, diversidad e importancia de las especies de *Phyllophaga* Harris en Costa Rica (Coleoptera:Melolonthidae). In: Morón, MA.; Aragón, A. (Eds.). *Avances en el estudio de la diversidad, importancia y manejo de los coleópteros edafícolas americanos*. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. Puebla, México. p. 19-28.
- Sweeten, HL. 1931. Preliminary report on the physical ecology of certain *Phyllophaga* (Scarabaeidae: Coleoptera). *Ecology* 22(2): 401-422.
- Zúñiga, JA., Barrera, JF., Williams, T.; Valle-Mora, J. 2001. Estimación del chacuatete a través de captura-recaptura. In Barrera, JF. (Ed.). *Tres plagas de café en Chiapas*. El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, México. p. 69-78.

Artículo II

2.- Distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* (Coleoptera:Melolonthidae) en función del guácimo (*Guazuma ulmifolia*) en caña de azúcar

2.1 Introducción

La presencia de plagas es una de las principales causas de los bajos rendimientos de los cultivos, y pese a que existe conocimiento de cuales especies de insectos, u otros artrópodos, son las que están actuando como plaga en los diferentes cultivos, la forma de enfrentar este problema por parte de los productores ha sido a través de la aplicación de insecticidas que cada vez se hace con mayor intensidad, y pocas veces con prácticas de manejo acordes con las necesidades de los agricultores en pro del ambiente. El deterioro ambiental asociado con el uso de los productos químicos y su efecto nocivo en la salud humana hacen indispensable la búsqueda de métodos alternativos para el manejo de plagas. En el cultivo de caña de azúcar, en casi todos los países del continente americano, las diferentes especies del género *Phyllophaga* se encuentran presentes causando pérdidas cuantiosas, ya que las larvas destruyen el sistema radicular provocando amarillamiento en las hojas, crecimiento raquítico y acame de las plantas. En Costa Rica el área afectada es de 6,580 ha aproximadamente el 15% del área cultivada (Badilla, 1995; Badilla *et al.* 1999).

No obstante la importancia que tiene la "gallina ciega" como plaga de muchos cultivos en América Tropical, se carece aún de mucha información importante para entender sus dinámicas, precisar la identidad y hábitos de las especies presentes en cada complejo, así como las condiciones físico ambientales y las actividades agrícolas que determinan la composición de los distintos complejos y sus densidades poblacionales (Morón, 1996; King, 1996).

Muchas de las investigaciones recientes se han enfocado en la búsqueda de alternativas de manejo de la plaga: Dos de las principales dificultades para desarrollar estrategias eficientes de combate, han sido su hábito subterráneo y su patrón de ataque en "parches".

El conocimiento sobre el comportamiento del complejo "gallina ciega" generado hasta el momento, no permite la identificación de áreas de cultivo con alto riesgo de infestación, sobre las cuales se debería concentrar las tácticas de manejo de la plaga. En este trabajo se evalúa la presencia de árboles hospedantes del estado adulto de *Phyllophaga elenans* como un posible factor que podría aumentar la incidencia de larvas en las áreas de cultivos adyacentes.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Hacienda "El Palmar", ubicada en Miramar, Provincia de Puntarenas, a $10^{\circ} 08' 12''$ N y $84^{\circ} 44' 07''$ O (Figura 2.1). Este lugar se constituye geológicamente por materiales de los períodos Terciario y Cuaternario. Los tipos de suelo que se encuentran en la hacienda son: arenosos, francos y arcillosos. El sistema fluvial corresponde a la vertiente del Pacífico, el cual pertenece a las cuencas de los ríos Abangares y Barranca. La zona de estudio se encuentra a 30-40 msnm. Presenta una precipitación promedio anual de 3,089.5 mm, con una temperatura promedio anual de 26°C (Chinchilla, 1987).

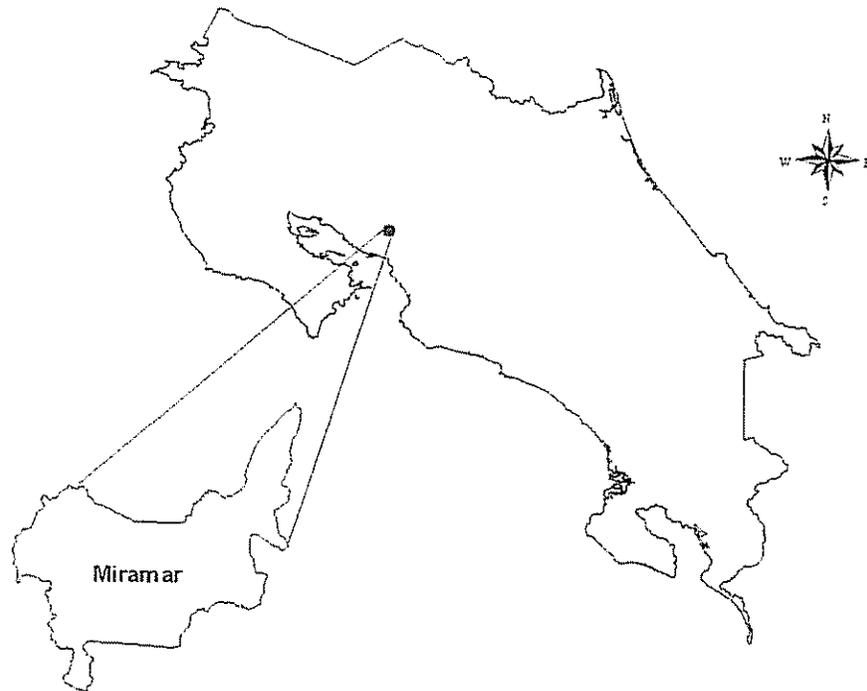
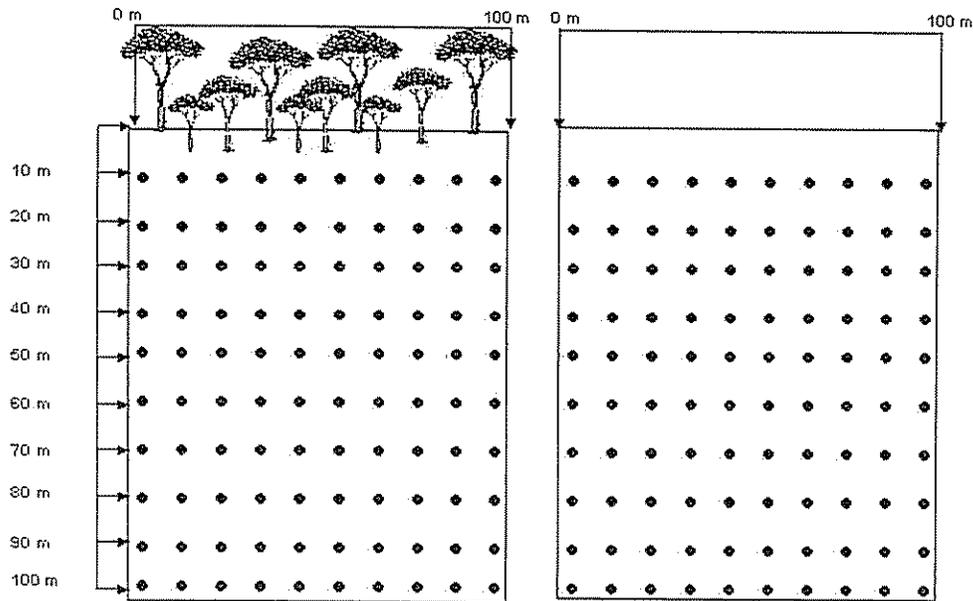


Figura 2.1 Localización del área de estudio

2.2.2 Diseño del estudio

Mediante recorridos en la zona de estudio se seleccionaron las parcelas que cumplieron con las condiciones idóneas en cuanto a tipo de suelo y vegetación para establecer las parcelas experimentales. Se seleccionaron seis parcelas: tres parcelas con árboles hospedantes (*Guazuma ulmifolia*) de los adultos de *Phyllophaga elenans* en la orilla del cultivo de caña de azúcar y las restantes sin presencia del hospedantes (Figura 2.2).



● Indica el punto de muestreo

Figura 2.2 Arreglo espacial de las parcelas con (izquierda) y sin árboles hospedantes (derecha) para el muestreo de larvas de *Phyllophaga elenans*

Para determinar la densidad de larvas y su distribución espacial, se realizó un solo muestreo a finales de agosto del 2002. Cada unidad muestral consistió en un área de 30 x 30 cm y 30 cm de profundidad (Burrage y Grisco, 1954; Romero-Parra, 1978, Allsopp, 1989). Se obtuvo una unidad muestral a intervalos de 10 m en una retícula de 100 x 100 m para obtener un total de 100 unidades en cada parcela. El suelo obtenido de cada unidad muestral se revisó minuciosamente en el campo y cada larva encontrada se colocó en bandejas para cubos de hielo para posterior identificación.

2.2.3 Diseño experimental

La información obtenida se analizó como un experimento con un arreglo de diseño irrestricto al azar que constó de dos tratamientos representados por las parcelas con y sin árboles hospedantes. El modelo matemático fue el siguiente:

$$\hat{Y}_{ijkl} = \mu + T_i + \varepsilon_{k(j)} + D_j + (DT)_{ij} + b(X_{ijk} - \bar{X}) + \varepsilon_{k(ij)} + \varepsilon_{k(ijl)}$$

donde:

$i = 1,2$ ----- Tratamientos

$j = 1,2,3$ -----Repeticiones

Y_{ijkl} = Es la densidad de larvas para cada tratamiento.

μ = Media poblacional de las larvas colectadas en las parcelas evaluadas.

T_j = Es el efecto o influencia del tratamiento sobre la densidad de larvas.

D_j = Distancia de las muestras.

$\varepsilon_{k(j)}$ = Error correspondiente a la posición de la muestra.

$\varepsilon_{k(ij)}$ = Error correspondiente a la distancia de la muestra.

$\varepsilon_{k(ijl)}$ = Es el elemento aleatorio de variación generado en el experimento.

En el análisis estadístico se realizó un ANDEVA mediante el sistema SAS- procedimiento GLM (Generalized Linear Models). Se estimó la curva de respuesta de la densidad de larvas en función de la distancia de acuerdo a la significancia de las fuentes de variación del diseño experimental. Se generaron mapas de isolíneas a través del método de interpolación lineal Kriging (Isaaks y Srivastava, 1989).

2.2.4 Variable de respuesta

Se contabilizó el número de larvas/m² en una gradiente de distancia con incremento de 10 m hasta 100 m, a partir de un punto de inicio definido por la franja de árboles hospedantes de *P. elenans* o el borde de la parcela sin hospedantes.

2.3 Resultados y discusión

La densidad larval registrada en parcelas con y sin árboles hospedantes no mostraron diferencias significativas. El comportamiento de la densidad larval fue muy similar en ambas condiciones. Sin

embargo, se encontró diferencias altamente significativas entre las medias de las distancias de muestreo para las parcelas con árboles de *Guazuma ulmifolia* ($F = 13.49$, $gl = 9$, $P < 0.0079$). El análisis de regresión cuadrática para la densidad larval de *Phyllophaga elenans* registrada en intervalos de 10 m en función de árboles hospedantes, reveló que la densidad larval disminuye significativamente conforme aumenta la distancia entre el punto de muestreo y la línea de árboles (Figura 2.3), hasta llegar al punto de cambio a los 64 m. La respuesta del tratamiento es importante a considerarse; ya que conforme aumenta un metro de distancia en función de los árboles se tiene un aumento en larvas de 2.3 y cuando se llega al punto de cambio de la densidad larval por cada metro muestreado se tiene una disminución de 0.014 larvas. Registrándose una densidad larval promedio de 44 larvas/m² en parcelas con árboles de guácimo (Cuadro 1.1).

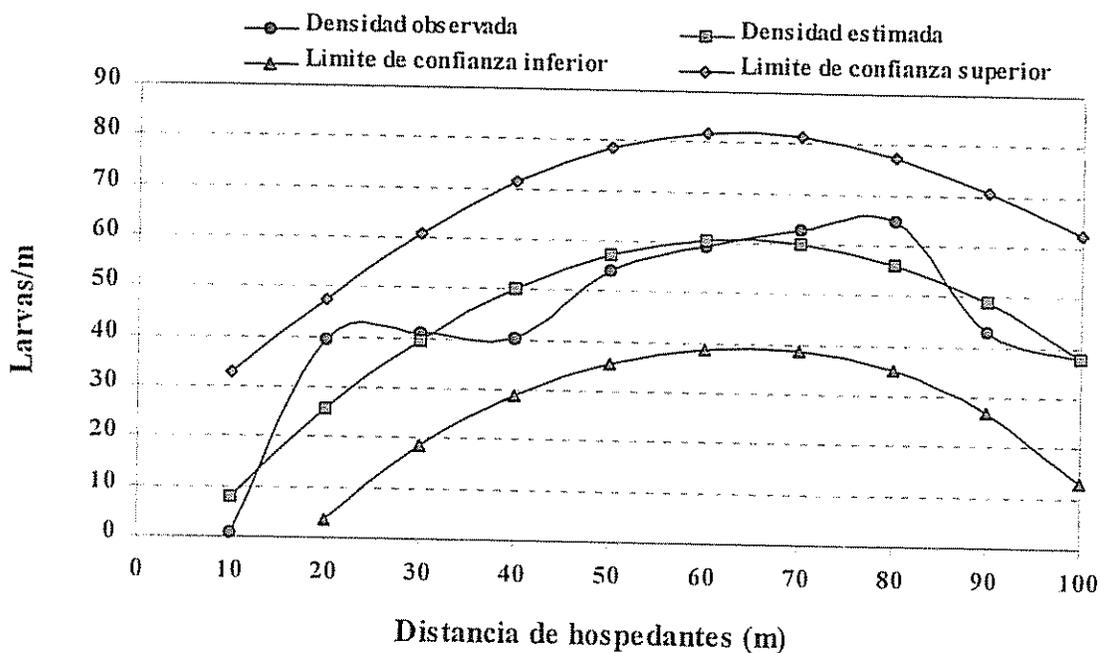


Figura 2.3 Densidad promedio de larvas de *Phyllophaga elenans* en caña de azúcar en función de los árboles hospedantes en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica

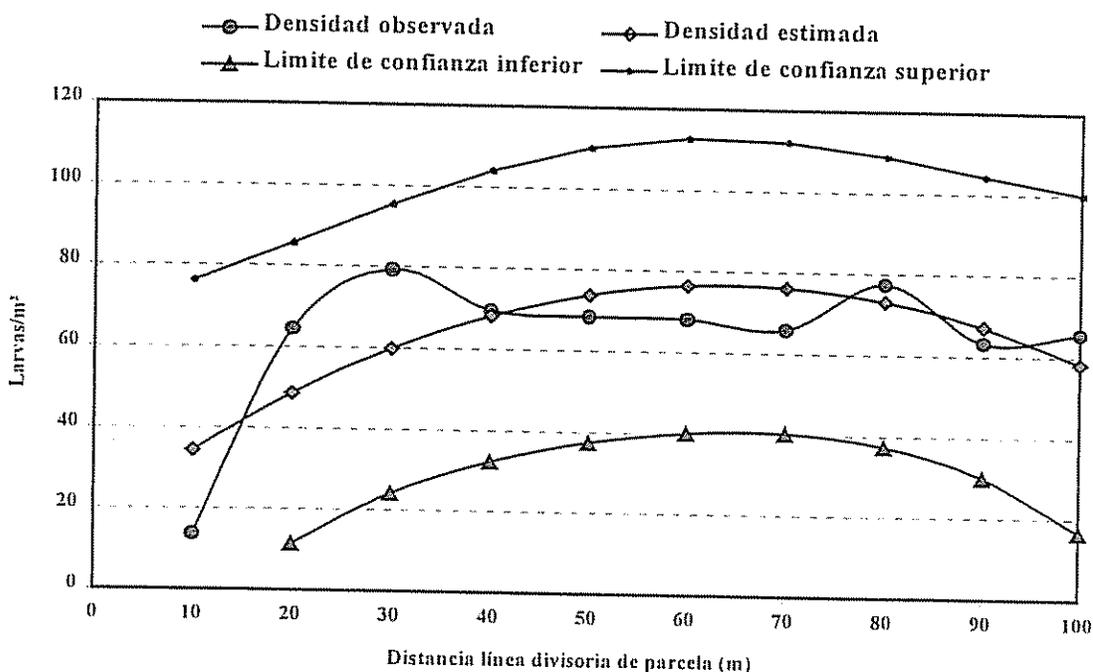


Figura 2.4 Densidad promedio de larvas de *Phyllophaga elenans* en caña de azúcar en ausencia de árboles hospedantes en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica

Los valores de larvas/m² obtenidos en las parcelas sin árboles hospedantes mostraron diferencias significativas en función de la distancia ($F = 7.32$, $g.l = 9$, $P < 0.0304$) y el promedio (63.59 larvas/m²) fue mayor al observado en las parcelas con árboles (44.37) (Cuadro 2.1). Sin embargo, los datos fueron más variables en los “parches” sin árboles hospedantes (Figura 2.4).

Cuadro 2.1. Parámetros estimados a través de una análisis de regresión para larvas de *Phyllophaga elenans*.

Parámetros	Parcelas			
	Con hospedantes		Sin hospedantes	
b_0 (Intercepto)	-13.31	t 0.21	t 17.41	0.32
b_1 (Distancia)	2.30	0.0007	1.84	0.03
b_2 (Distancia ²)	-0.018	0.0015	-0.014	0.04
R^2	0.84		0.55	
Punto de cambio de la densidad larval	63.88 m		65.71 m	
Promedio de larvas/m ²	44.37		63.59	

El análisis de regresión cuadrática señala que las larvas de *P. elenans* siguen un patrón de distribución espacial tipo agregada y el punto de cambio de la densidad larval ocurre a partir de los

65.7 m después de la línea divisoria de la parcela (Cuadro 2.1). La respuesta de las larvas a la ausencia de árboles hospedantes indica que por cada metro muestreado a partir de la línea divisoria de la parcela se incrementaba en 1.8 larvas hasta llegar al punto de cambio de densidad y cuando se llega al punto de cambio por cada metro muestreado se tiene una disminución de 0.018 larvas.

Los mapas de contorno generados con los datos de campo expresados como larvas/m² muestran una distribución muy heterogénea de los puntos de agregación tanto en parcelas con árboles hospedantes como en parcelas alejadas de la fuente de alimentación y cópula de los adultos (Figuras 2.5 y 2.6). Las tendencias hacia la mayor frecuencia de agregación entre 50 y 70 metros en parcelas con árboles en el borde, mostrados por el análisis estadístico, se deben a las altas densidades encontradas en la parcela B (Figura 2.5), que alcanzan valores mayores a las 300 larvas/m². Las parcelas A y C, en este tratamiento mostraron densidades larvales más bajas con máximos de 80 y 160 larvas/m² respectivamente.

Los puntos de agregación o “parches” están ubicados en forma muy variable sin marcar una tendencia reconocible entre las parcelas con y sin árboles hospedantes.

Aunque la población observada en las parcelas sin árboles hospedantes no supero las 260 larvas/m² en promedio fue mayor que las parcelas con árboles. El número y tamaño de los “parches” en parcelas sin árboles fue muy variable y a diferencia de las parcelas con árboles, las densidades máximas de larvas fueron similares en las tres parcelas (Figura 2.6 A, B y C).

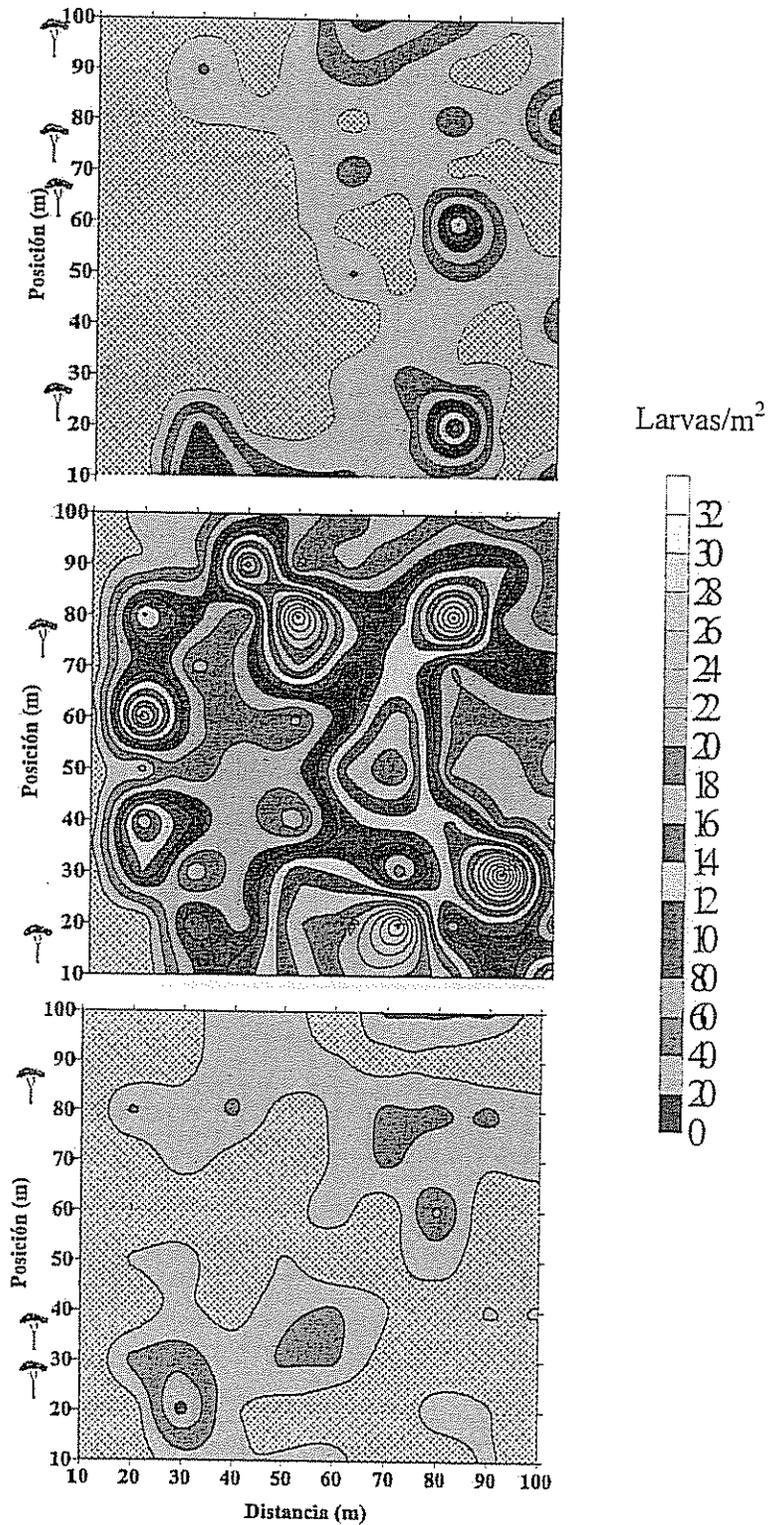


Figura 2.5 (A, B y C) Mapa de contorno mostrando la distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* en función árboles de *Guazuma ulmifolia* en caña de azúcar en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica

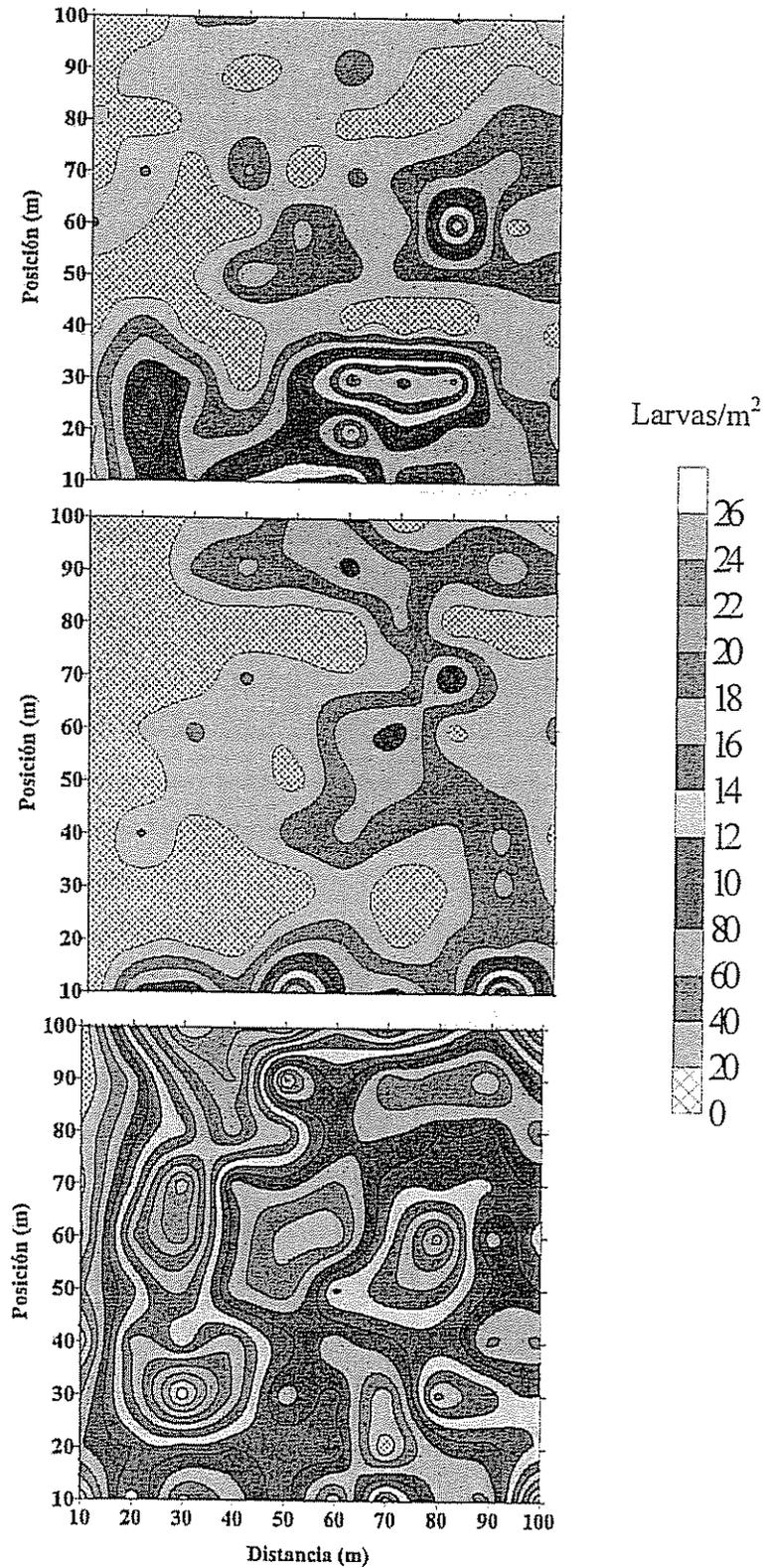


Figura 2.6 (A, B y C) Mapa de contorno mostrando la distribución espacial de larvas de *Phyllophaga elenans* en ausencia de árboles hospedantes en caña de azúcar en el Ingenio El Palmar, Miramar, Puntarenas, Costa Rica.

Los resultados confirman la característica de agregación de las larvas de *Phyllophaga elenans*; sin embargo, no muestran una tendencia clara en los patrones de distribución de la plaga ni una relación fuerte de la vegetación hospedantes con ella. Esto concuerda con lo reportado por Katovich *et al.* (1998) quienes indican que el entendimiento de la preferencia de hábitat en el suelo para los coleópteros es pobre no solamente para los gusanos blancos en general si no específicamente para la especies del género *Phyllophaga*.

A pesar de que el análisis estadístico de la densidad larval de *Phyllophaga elenans* mostró una tendencia a una mayor concentración de las larvas aproximadamente a los 15m a partir de los árboles hospedantes, mientras que en aquellas parcelas en ausencia de árboles hospedantes la densidad de las larvas fue más heterogénea. La representación gráfica de la distribución de la población mediante mapas de contorno no son concluyentes en este sentido, mostrando en su lugar mucha heterogeneidad en la distribución. Estos resultados difieren con los reportados por Glogoza *et al.* (1998) quienes señalaron que más del 90% de la densidad de *Phyllophaga implicita* fueron colectadas dentro de los 55 m, a partir de la faja de árboles en Dakota del Norte, también de los reporte de Shorey *et al.* (1952) quienes indican que las poblaciones de larvas del escarabajo europeo Melolonthidae en pasturas permanentes usualmente fueron encontradas en las área más cercanas a los árboles y en suelo con humedad y niveles de pH más bajos.

Carballo y Jiménez (1993) evaluaron la incidencia de *Phyllophaga sp.* en maíz cultivado en callejones de *E. poeppigiana*, observaron que las larvas de *Phyllophaga sp.* se ubican principalmente en las áreas más cercanas a árboles de poró que en el centro o zonas más alejadas. Los patrones de comportamiento parecen variar con las especies, condiciones geográficas y del cultivo. No obstante, se mantiene el común denominador de la agregación de larvas en "parches". Tanto el patrón de agregación como su heterogeneidad dentro y entre las parcelas en presencia o ausencia de árboles hospedantes, podría obedecer a características intrínsecas del sitio las cuales no pudieron ser determinadas. Posibles factores que podrían jugar un papel importante en este fenómeno son: el pH, el contenido de materia orgánica, temperatura y características edáficas así como la misma cobertura vegetal al momento de vuelo y oviposición de los adultos.

La distancia entre las altas concentraciones de larvas son distintas y no necesariamente se encuentran dirigidas hacia la fuente de alimentación lo que sugiere que los factores mencionados anteriormente pueden influir en la preferencia de hábitat para la oviposición y en la distribución espacial de las larvas en las parcelas.

La capacidad de representación gráfica utilizando mapas de contorno facilita la identificación de las áreas de agregación y posibilitan futuros estudios de estos sitios para determinar aquellos factores que influyen sobre la distribución espacial de larvas de esta plaga.

La presencia de árboles hospedantes en la orilla de las parcelas de caña de azúcar podría estar favoreciendo algunas condiciones ambientales que determinan los mejores microhábitats para la oviposición y establecimiento de las larvas; sin embargo, la geografía plana y la condición de monocultivo extensivo puede facilitar el vuelo de los adultos a mayores distancias como un mecanismo de supervivencia, tomando en cuenta la alta competencia derivada de las poblaciones elevadas de adultos en la zona durante el período de vuelo y cópula.

Los resultados de los muestreos confirman que las larvas pueden ser abundantes en cualquier parte de la plantación y la distribución de los “parches” sugiere que las hembras tienen preferencia por las condiciones edáficas dentro de las parcelas. Aunque se desconoce la capacidad de desplazamiento horizontal de las larvas, parece ser que se mueven en busca del sistema radicular de la caña ya que las grandes concentraciones de larvas ubicadas en los “parches” se mueven hacia las plantas vecinas al agotarse el alimento, para continuar nutriéndose hasta alcanzar su crecimiento individual óptimo, este mecanismo de supervivencia puede ocasionar que los “parches” sean de diferentes tamaños.

Otra teoría sobre el comportamiento de este insecto es que debido a la alta densidad de adultos, los árboles más cercanos a las parcelas de caña quedan defoliados, lo cual obliga a los escarabajos que siguen emergiendo a buscar árboles cada vez más alejados del sitio donde nacieron. Este movimiento quizás puede explicar porque aún en parcelas en ausencia de árboles de *Guazuma ulmifolia* ubicadas entre 450 y 600 m se encuentren densidades altas de larvas y en “parches” muy heterogéneos dentro de la misma parcela. Esto concuerda con los reportado por Morón *et al.* (1996) quienes indican que los adultos de *Phyllophaga lalanza* vuelan en busca de árboles hospedantes para alimentarse a distancias lejanas de su sitio de nacimiento, alcanzando distancias de vuelo desde 50 hasta 1000 m.

2.4 Conclusiones

- A pesar del efecto claro de atracción del guácimo como fuente de alimentación para los adultos de *P. elenans* su influencia sobre la distribución espacial de las larvas no fue significativa.
- Las larvas de *P. elenans* tienden a distribuirse espacialmente en forma agregada formando “parches” en distintas áreas de las parcelas; sin embargo, la densidad larval no es directamente proporcional a la cercanía de los árboles hospedantes.
- La distribución espacial de los “parches” son más heterogéneos en las parcelas en ausencia de árboles hospedantes con una mayor concentración de larvas en la parte central de la parcela.

2.5 Recomendaciones

- Relacionar la distribución espacial de larvas de la especie en cuestión con otras variables físico-bióticas, tales como: cobertura vegetal en los puntos de muestro, porcentaje de humedad y temperatura del suelo, entre otras.

2.6 Literatura citada

- Allsopp, PG., Bull, RM. 1989. Spatial pattern and sequential sampling plans for melolonthine larvae (Coleoptera:Scarabaeidae) in southern Queensland sugarcane. Bulletin Entomological Research 79: 251-258.
- Badilla, F. 1995. Manejo Integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 37: 26-33.
- Badilla, F., Chacón, M., Sáenz, C. 1999. Utilización de trampas de luz para la captura de adultos de *Phyllophaga* spp. en caña de azúcar, en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 51: 59-65.
- Burrage, HB. y Grysko, GG. 1954. Distribution of third instar larvae of the European chafer and their efficiency of various sampling units for estimating their population. Journal of Economic Entomology 47(6): 1009-1014.
- Carballo, M., Jiménez, J. 1993. Evaluación del ataque de *Phyllophaga* sp. en maíz cultivado en callejones de *Erythina poeppigiana*. Turrialba, CATIE. (documento interno) Inédito.
- Chinchilla V., E. 1987. Atlas de Costa Rica. Instituto de Fomento y Asesoría Municipal. San José, Costa Rica. 396 pp.
- Glogoza, PA., Weiss, MJ., Rao, MB. 1998. Spatial distribution of *Phyllophaga implicita* (Horn) (Coleoptera:Scarabaeidae) larvae in relation to distance from the adult food source. Journal of Economic Entomology 91(2): 457-463.
- Isaaks, EH. y Srivastava, SR. 1989. An introduction to applied geostatistics. Ed. Oxford University press. New York. p. 278-416.

- Katovich, K., Levine, S.J., Young, D.K. 1998. Characterization and usefulness of soil-habitat preferences in identification of *Phyllophaga* (Coleoptera:Scarabaeidae) larvae. *Annals of the Entomological Society of America* 91(3): 288-297.
- King, ABS. 1996. Biología e identificación de *Phyllophaga* de importancia económica en América Central. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. pp. 33-43.
- King, ABS. 1996. Biología e identificación de *Phyllophaga* de importancia económica en América Central. In: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga spp.* CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. pp. 33-43.
- Morón, MA.; Hernández, S., Ramírez, A. 1996. El Complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) asociado con la caña de azúcar en Nayarit, México. *Folia Entomológica Mexicana* 98:1-44.
- Romero-Parra, S. 1978. Diferentes formas de muestrear los insectos del suelo. In: Reyes-Castillo, P., . Martínez, R.P., Vélez, J.R. y Colín, A.S. (Eds.). *Mesa Redonda Plagas del suelo.* Sociedad Mexicana de Entomología. Guadalajara, Jalisco, México. pp. 15-20.
- Shorey, H.H., Burrage, R.H., Gyrisco, G.G. 1952. The relationship between several environmental factors and the density of European chafer larvae in permanent pasture sod. *Ecology* 41(2): 253-258.

Artículo III

3.- Evaluación de adultos de *Phyllophaga elenans* como agentes dispersores de *Metarhizium anisopliae* bajo condiciones de invernadero

3.1 Introducción

Las enfermedades fungosas en los insectos son comunes y frecuentes, y muchas veces logran reducir las poblaciones de insectos por epizootias significativas y virtualmente todos los insectos son susceptibles a estas enfermedades. Muchos hongos entomopatógenos pueden ser utilizados para el control de coleópteros, ya que las enfermedades virales y bacterianas son raras en los escarabajos (Hajek y Lager, 1994). Durante las últimas dos décadas se dio una explosión de interés e investigación en el campo del control microbiano, y los escarabeidos siendo plagas del suelo, suponían ser blancos óptimos para esta estrategia de control, ya que viven en un medio con temperaturas estables y alta humedad relativa, condiciones ideales para la germinación y desarrollo de la mayoría de los hongos entomopatógenos. El suelo también protege las conidias de la exposición a la radiación solar evitando la pérdida de viabilidad causada por los rayos ultravioleta. En la mayoría de las estrategias de aplicación, los microorganismos son ubicados en el suelo y la infección se logra después del contacto aleatorio entre el microorganismo y la larva (Jackson, 1993; Shannon, 1996). Una vez que un hongo entomopatógeno se ha establecido en un sitio con problemas de infestación de *Phyllophaga*, entrará a formar parte de los factores de mortalidad de la plaga que ayudan a mantener las poblaciones en niveles bajos (Hidalgo, 2001). La eficacia de esta aplicación podría ser mejorada si el inóculo fuese depositado en forma dirigida en los sitios en donde se localizan los huevos o larvas de la plaga, aumentando la posibilidad de infección. El uso de insectos para dispersar agentes de control microbiano es una posibilidad ya explorada por algunos autores (De Gusmao *et al.* 1999); sin embargo, para el caso específico de *Phyllophaga* sp., es necesario estudiar la factibilidad de esta práctica. Ante esta situación el estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial del uso de los hábitos de vuelo y oviposición de los adultos de *Phyllophaga elenans* como herramienta para la diseminación del hongo *Metarhizium anisopliae* para el control de sus larvas.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Descripción del área de estudio

La investigación se realizó en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), ubicado en el Cantón Turrialba, Costa Rica, localizado en las coordenadas geográficas 9° 55' 22" N y 83° 39' 40" O. Se encuentra a una altitud promedio de 602 msnm. Presenta una precipitación anual promedio de 2065 mm, la temperatura promedio anual es de 21.7 °C. Se presenta un 87% de humedad relativa (Tosi, 1969).

3.2.2 Porcentaje de mortalidad de adultos y producción de conidias sobre sus cadáveres

3.2.2.1 Metodología

Grupos de 10 adultos divididos por sexo fueron inoculados con tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (RCP-2, 340 y 281) mediante la agitación de los insectos sobre conidios en polvo para asegurar una dosis elevada por insecto. Esta prueba se denominó “prueba máxima”. Posteriormente los adultos fueron depositados en los baldes con suelo estéril húmedo; y follaje de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como alimento, el cual se reemplazó cada dos días. Posterior a los ocho días de la inoculación se evaluó el porcentaje de mortalidad y la producción de hongo por adulto muerto. La determinación de producción de conidios se realizó mediante el lavado individual de los adultos esporulados. Estos se colocaron en viales con 15 ml de agua con tween 80 al 1% , posteriormente se ultrasonificaron dos veces durante 1 minuto para desprender las conidias del cadáver. Para realizar los conteos se diluyeron 100 microlitros de la suspensión de esporas obtenidas del adulto en 900 microlitros de agua destilada con tween 80.

La determinación de la concentración se realizó utilizando una cámara de Neubauer y realizando 12 conteos por adulto.

3.2.2.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar con arreglo factorial 3 x 2 con cuatro repeticiones. Los factores fueron los diferentes aislamientos de *M. anisopliae* y el sexo del insecto. El modelo matemático fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Donde:}$$

Y_{ijk} = k iésimo valor observado en el nivel i del factor A y el nivel j del factor B.

μ = Media poblacional.

α_i = Efecto de A (Diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae*).

β_j = Efecto de B (Sexo).

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de interacciones (A y B).

ε_{ijk} = Error experimental.

En el análisis estadístico se realizó un ANDEVA mediante el sistema SAS- procedimiento GLM (Generalized Linear Models). Como se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó una prueba de comparación de medias (Duncan).

3.2.2.3 Variable de respuesta

Porcentaje de mortalidad y producción de conidias por individuo de *Phyllophaga elenans*.

3.2.3. Diseminación cruzada entre adultos de *P. elenans* inoculados con *M. anisopliae*

3.2.3.1 Metodología

Se inocularon grupos de cinco adultos hembras con tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (RCP-2, 340 y 281) mediante lo que se denominó “prueba máxima”; también se ubicaron otros cinco grupos de machos no inoculados. Posteriormente los grupos de adultos fueron depositados en los baldes con suelo estéril húmedo; y follaje de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como alimento, el cual se reemplazó cada dos días. Este procedimiento fue replicado inoculando únicamente machos. Posterior a los ocho días de la inoculación se evaluó el porcentaje de mortalidad de adultos no inoculados de ambos sexos.

3.2.3.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar con arreglo factorial 3 x 2 con cuatro repeticiones. Los factores fueron los tres aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y el sexo del insecto.

El modelo matemático fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Donde:}$$

Y_{ijk} = k iésimo valor observado en el nivel i del factor A y el nivel j del factor B.

μ = Media poblacional.

α_i = Efecto de A (Diferentes cepas de *Metarhizium anisopliae*).

β_j = Efecto de B (Sexo).

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de interacciones (A y B).

ε_{ijk} = Error experimental.

En el análisis estadístico se realizó un ANDEVA mediante el sistema SAS- procedimiento GLM (Generalized Linear Models). Como se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó una prueba de comparación de medias (Duncan).

3.2.3.3 Variable de respuesta

Porcentaje de mortalidad de adultos de *Phyllophaga elenans* hembras y machos no inoculados.

3.2.4 Sobrevivencia de larvas provenientes de adultos de *Phyllophaga elenans* inoculados con *Metarhizium anisopliae*

3.2.4.1 Metodología

Grupos de 20 adultos (10 hembras y 10 machos) fueron inoculados con conidios de tres aislamientos de *M. anisopliae* (RCP-2, 340 y 281) mediante lo que se denominó “prueba máxima”. Después de inoculados, los adultos fueron colocados en baldes plásticos de 20 litros de capacidad con aproximadamente siete litros de suelo húmedo y follaje de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) como alimento. La incubación se llevó a cabo durante 43 días para permitir la cópula, oviposición, muerte de los adultos y la eclosión de los huevos.

Las larvas sobrevivientes fueron incubadas individualmente por siete días en bandeja para hielo con suelo y raíces de maíz para detectar casos de infección por hongo que no se hubiese manifestado al momento de la evaluación.

3.2.4.2 Diseño experimental

El experimento constó de cuatro tratamientos representados por las diferentes cepas de *M. anisopliae*. Los tratamientos estuvieron arreglados en un diseño irrestricto al azar. El modelo matemático fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Donde:}$$

$i = 1,2,3,4$ ----- Tratamientos

$j = 1,2,3,4,5$ ----- Repeticiones

Y_{ij} = Porcentaje de sobrevivencia de larvas.

μ = Media poblacional.

τ_i = Efecto de las cepas de hongos sobre las larvas.

ε_{ij} = Es el elemento aleatorio de variación generado en el experimento.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SAS, procedimiento GLM (Generalized Linear Models). Como se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó una prueba de comparación de medias (Duncan).

3.2.4.3 Variable de respuesta

Número de larvas sobrevivientes en los baldes.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Porcentaje de mortalidad de adultos y producción de conidias sobre sus cadáveres

A los 9 días después de la inoculación la mortalidad de adultos en los tratamientos RCP-2, 281 y 340 fue de 75, 58 y 60% respectivamente, mientras que en el testigo no hubo ningún adulto muerto por efecto del hongo, mostrando una diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo ($F = 43.91$, $gl = 3$, $P < 0.0001$). Todos los adultos muertos fueron incubados en cámara húmeda para detectar síntomas de infección. Se evidenció un desarrollo externo del hongo en un elevado porcentaje de los insectos tratados; mientras que en el testigo no se detectó la presencia del hongo (Figura 3.1).

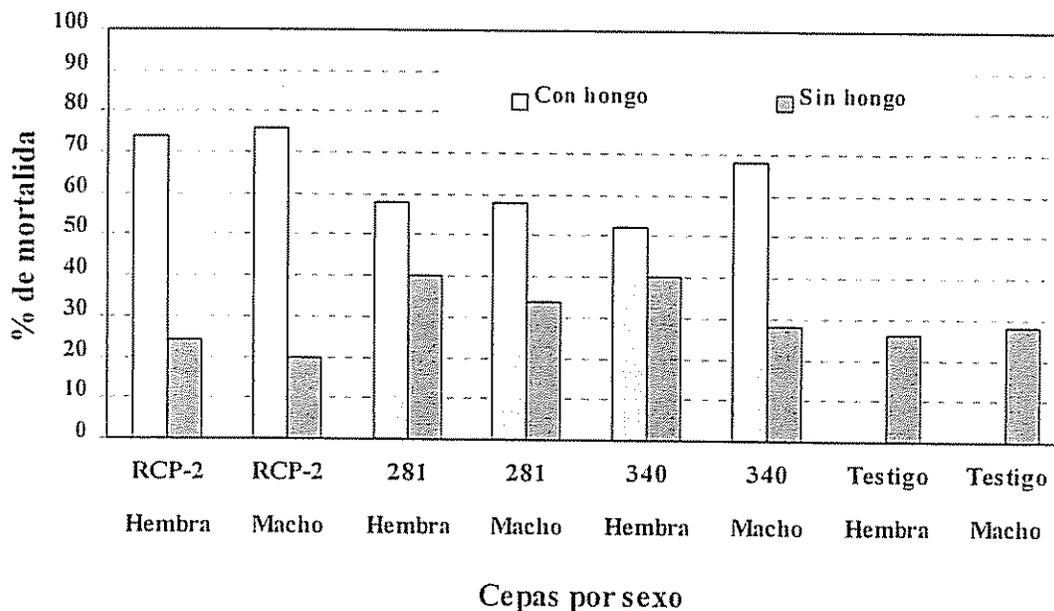


Figura 3.1 Porcentaje de mortalidad de adultos de *Phyllophaga elenans* ocasionados por cepas de *Metarhizium amisopliae*

Las hembras y machos produjeron igual cantidad de conidias de *M. amisopliae* lo que indica que no hubo diferencias significativas entre sexos; sin embargo, el análisis estadísticos arrojó diferencias

significativas entre cepas ($F = 6.50$, $gl = 2$, $P < 0.0053$), destacándose con una mayor producción de conidias la cepa RCP-2 (7.6×10^8), seguida por la cepa 340 (4.3×10^8) (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Número de conidias de tres cepas de *Metarhizium anisopliae* producidos sobre adultos de *Phyllophaga eleanans* bajo condiciones de invernadero en CATIE.

Sexo	Cepa	* Número de conidias por adultos
Hembras	340	4.3×10^8
	RCP-2	5.4×10^8
	281	1.3×10^8
Machos	340	3.7×10^8
	RCP-2	7.6×10^8
	281	9.4×10^7

* Promedio de 31 adultos machos y hembras procesados

3.3.2 Diseminación cruzada entre adultos de *Phyllophaga eleanans* inoculados con *Metarhizium anisopliae*

Los valores de mortalidad por micosis alcanzados en los machos al inocular solamente a las hembras de la población, muestra que existe una baja transmisión del inóculo hacia los machos durante la cópula (Figura 3.2) mostrando diferencias de mortalidad altamente significativa entre sexo y cepas ($F = 6.44$, $gl = 3$, $Pr < 0.0046$, $F = 41.80$, $gl = 1$, $P < 0.0001$) respectivamente.

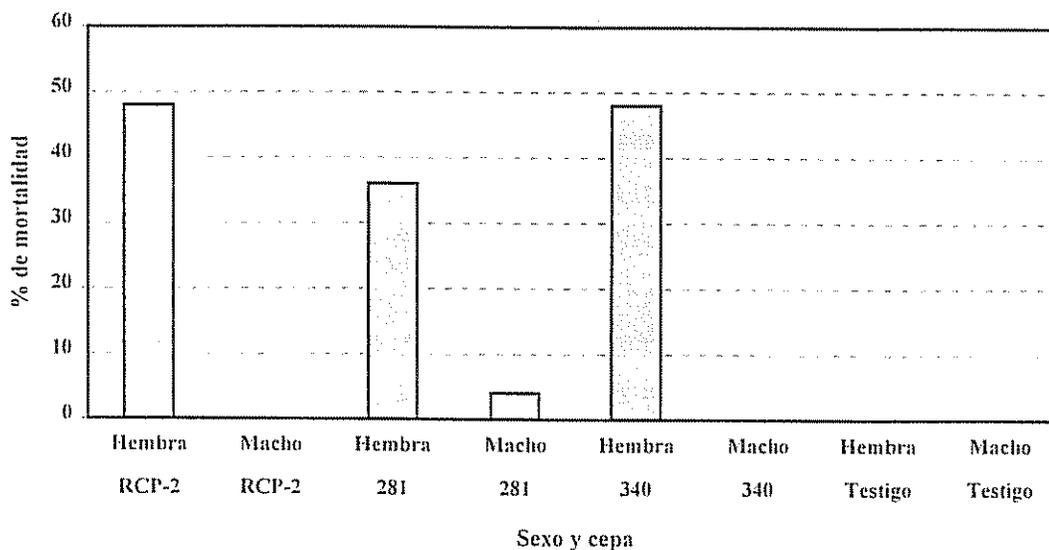


Figura 3.2 Porcentaje de mortalidad inoculando únicamente hembras de *Phyllophaga eleanans* bajo condiciones de invernadero en CATIE

El porcentaje de mortalidad registrado a los ocho días donde se inoculan únicamente machos evidenció diferencias significativas en cuanto al efecto de las cepas ($F = 3.31$, $gl = 3$, $P < 0.0472$), pero no hubo diferencias en cuanto al sexo (Figura 3.3). A pesar de no registrarse diferencias en el porcentaje de mortalidad por sexo, se muestra una mayor tendencia a la diseminación del hongo a través de los machos, ya que el porcentaje de mortalidad de hembras no inoculadas con el aislamiento “340” fue mayor que el de los machos.

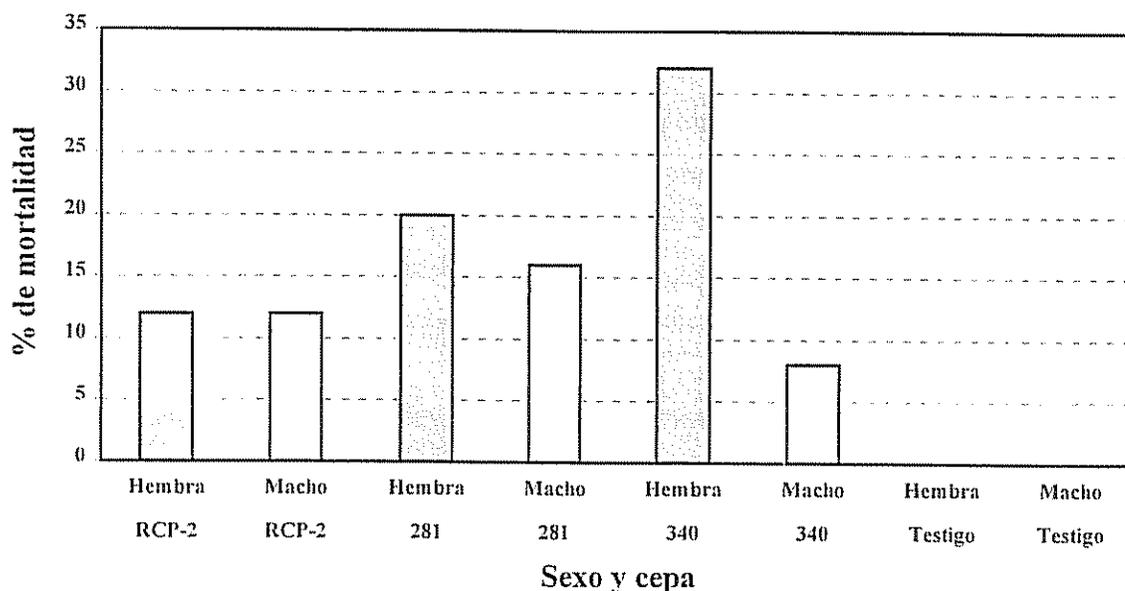


Figura 3.3 Porcentaje de mortalidad inoculando únicamente machos de *Phyllophaga elenans* bajo condiciones de invernadero en CATIE

La eficacia del control de plagas mediante entomopatógenos depende del contacto entre el insecto o larva y el hongo, por lo cual la calidad y cantidad de inóculo dispersado es un factor clave.

Los resultados confirman la efectividad de *Metarhizium anisopliae* sobre los adultos de la familia Melolonthidae, lo cual coincide con lo reportado en estudios sobre larvas y adultos de esta misma familia por Lozano-Tovar *et al.* (2000). Además se ha reportado la eficiencia de la patogenicidad de una cepa de *Metarhizium* sp. para el control de *Phyllophaga* sp. en el cultivo de caña en Guatemala (Velásquez, 1996).

Basado en el conteo de cadáveres esporulados, el aislamiento RCP-2 fue más efectivo con un 75% de micosis a los 8 días después de la inoculación; mientras que en estudio realizado en Zimbabwe reportan que el aislamiento de hongo granulado ZBW 9501 fue más efectivo contra *Heteronychus* con un 35% de micosis a las 22 semanas después de inoculados (Mazodze y Zvoutete, 1999), otro estudio realizado en Colombia indica que a los 30 días después de la inoculación, el género *Serica* mostró un 75% de mortalidad (Lozano-Tovar *et al.* 2000). La respuesta diferencial de los aislamientos podría deberse a la especificidad presentada por distintas cepas de *Metarhizium*. Las

diferencias en virulencia de las distintas cepas está relacionada tanto con la variabilidad en la capacidad de adherencia y penetración de la conidia en el integumento, a su actividad toxicogénica; así como, por la capacidad de defensa del insecto.

Los resultados indican que las tres cepas son promisorias para el control de *Phyllophaga elenans* y constituye una alternativa viable para su incorporación en programas de manejo integrado de plaga, ya que los adultos inoculados que esporulan son fuente de inóculo y logran que el entomopatógeno persista en el suelo infectando otros adultos y a su prole en los primeros estadios. Como algunos autores señalan, que la persistencia de *Metarhizium anisopliae* en el suelo puede ser de dos años después de la aplicación, además se reportan 20 veces más propágulo de la colonia en suelos tratados con el hongo que en los no tratados (Higuera, 1995; Keller y Zimmermann, 1989).

Consideraciones importantes al momento de la aplicación del entomopatógeno en los campos, es mantener un adecuado nivel de materia orgánica en el suelo y evitar el uso de plaguicidas químicos, para asegurar la sobrevivencia del inóculo y por ende un eficiente control de la plaga (Romero *et al.* 1997; Gerding *et al.* 2000).

Según los resultados obtenidos, en promedio, un adulto de *Phyllophaga elenans* puede producir entre 9.4×10^7 hasta 7.6×10^8 conidias, estos resultados concuerdan con los reportados por Mazodze y Zvoutete (2000), quienes registraron producciones en un rango entre 9.5×10^6 hasta 1.2×10^8 conidias por adultos. Se ha recomendado la aplicación de suspensiones en campo de 10^{12} y 10^{13} conidias/ha (Mendonca, 1992, Monzón, 2001), de acuerdo con los resultados obtenidos en promedio se tendrían que aplicar hongo por lo menos a 4500 adultos de *Phyllophaga elenans* por hectárea y según los datos de captura de adultos para la zona se podría lograr fácilmente utilizando dos trampas de luz durante dos días, debido a que la tasa de captura para la región es de 1990 adultos por trampa por noche (Badilla *et al.* 1999). Aún cuando se conoce poco a cerca de los mecanismos de dispersión de estos agentes biológicos en el agroecosistema caña de azúcar, este estudio demuestra que puede existir mayor permanencia del hongo en las zonas de oviposición y como estos organismos tienen un patrón de distribución agregado, esto contribuye a su diseminación y acción sobre otras poblaciones de larvas presentes en el cultivo en cuestión.

3.3.3 Sobrevivencia de larvas provenientes de adultos de *Phyllophaga elenans* inoculados con *Metarhizium anisopliae*.

El número de huevos y larvas observados infectados con hongos en todos los tratamientos después de 43 días de incubación fue mucho menor que en el testigo ($F= 16.12$, $gl= 3$ $P < 0.0001$) (Figura 3.4). Aunque no hubo diferencia estadística entre las cepas, se obtuvo una mayor disminución de la población final de larvas con el aislamiento 281.

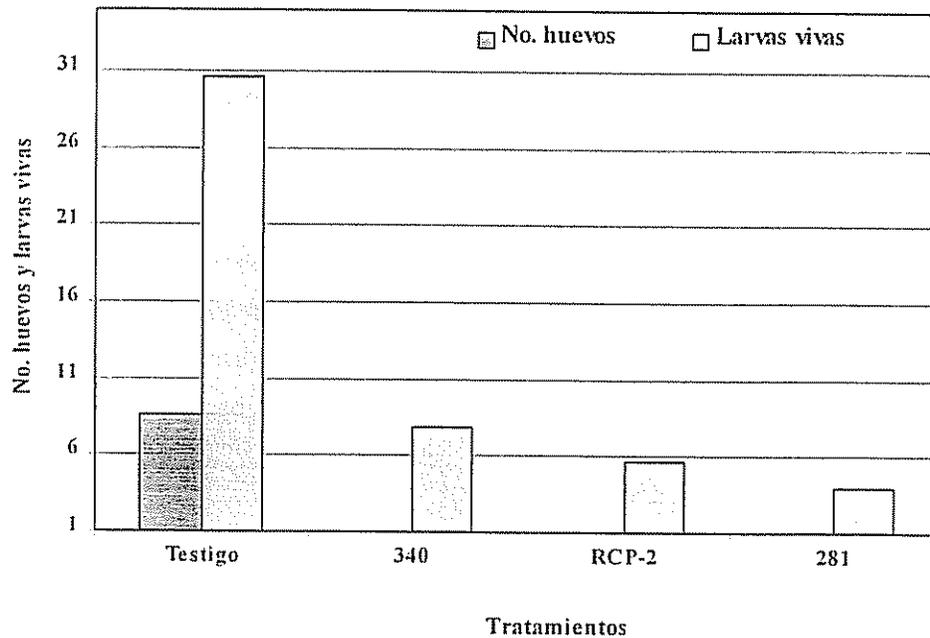


Figura 3.4 Sobrevivencia de huevo y larvas de *Phyllophaga elenans* provenientes de adultos inoculados con *Metarhizium anisopliae*

A pesar de que los aislamientos utilizados en este estudio fueron originalmente seleccionados por su actividad a nivel de larva en esta misma especie (Shannon *et al.* 1993), éstos presentaron un gran potencial para controlar o infectar adultos y transmitirse luego a las larvas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Shannon *et al.* (1993), quienes indican que los aislamientos más virulentos provienen de zonas infestadas con la plaga, pero no necesariamente de la misma especie. Es importante destacar que los aislamientos que resultaron patogénicos para la especie, no siempre causaran mortalidad en otra plaga, lo que nos permite sugerir la existencia de especificidad en las distintas cepas, justificando la realización de pruebas preliminares y prospecciones en busca del aislamiento más efectivo para determinada plaga. La especificidad es causada por variabilidad en cuanto a la capacidad de adherencia y penetración de la conidia en el integumento, además de su actividad toxicogénica; ya que la primera barrera que opone el insecto a la penetración del patógeno es la cutícula, la cual difiere marcadamente entre el estadio larval o el adulto, por lo cual no necesariamente un buen aislamiento del entomopatógeno para el adulto va a ser igualmente efectivo para la larva (France *et al.* 2000). Este diferencia deberá tenerse presente en futuras evaluaciones de susceptibilidad de especies de insecto.

El potencial demostrado con los resultados de este trabajo con la captura e inoculación de adultos para la dispersión de hongos entomopatógenos, señala a esta práctica como una herramienta interesante para el manejo temprano de *Phyllophaga*, ya que como indican Morón y Terrón (1988) y Lozano-Tovar *et al.* (2000) en general los géneros de la familia Melolonthidae poseen ciclos

biológicos largos y los insectos con este tipo de ciclos son menos susceptibles a patógenos en los últimos estadios.

3.4 Conclusiones

- Las cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* aisladas de especímenes de *Phyllophaga* o de suelo proveniente la misma región constituye una alternativa para el manejo de adultos y larvas de este género, debido a su especialización para superar los mecanismos de defensa del insecto hospedante; y a la adaptabilidad que tiene a las condiciones ecológicas de la zona productora de caña de azúcar en Puntarenas.
- El uso de cepas nativas de *Metharizium anisopliae* constituye una herramienta promisoría dentro de una estrategia de manejo integrado tanto de larvas como de adultos de *Phyllophaga elenans*, debido a que tanto los adultos hembras y machos tienen la capacidad de diseminar el entomopatógeno en zonas de oviposición de la plaga.

3.5 Recomendaciones

- Diseñar un mecanismo para adaptar a la trampa de luz un dispositivo que permita mantener un recipiente que contenga el hongo entomopatógeno para que durante la captura, los adultos se impregnen y puedan diseminar el hongo en la zona de oviposición.

Evaluar, a nivel de campo y por varios ciclos, el efecto de la inoculación de adultos con cepas de *Metarhizium anisopliae* utilizadas en este estudio, sobre la incidencia de larvas en el cultivo de caña de azúcar.

3.6 Literatura citada

Badilla, F., Chacón, M. y Sáenz, C. 1999. Utilización de trampas de luz para la captura de adultos de *Phyllophaga* spp. en caña de azúcar, en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 51: 59-65.

De Gusmao, L., Castiglioni, EA., Alves, SB. 1999. Diseminación de *Beauveria bassiana* entre operarios de *Heterotermes tenuis*. Manejo Integrado de Plagas 52: 89-92.

- France I., A., Gerding G., M., Gerding P., M., Sandoval V., A. 2000. Patogenicidad de una colección de cepas nativas de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. en *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. Agricultura Técnica de Chile 60(3): 205-215.
- Gerding G., M., France I., A., Cisternas A., E. 2000. Evaluación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* sobre *Otiorhynchus sulcatus* Fab. (Coleoptera: Curculionidae). Agricultura Técnica de Chile 60 (3): 216-223.
- Hajek, AE; Leger, ST. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. Annual Review of Entomology 39: 293-322.
- Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga* spp. Manejo Integrado de Plagas. No. 60. pp. i-iv. Hoja Técnica
- Higuera, J. 1995. Persistencia del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) (Sorokin) en suelos tratados para el control de chisas (Coleoptera:Scarabaeidae). Medellín, Universidad Nacional de Colombia.
- Jackson, TA. 1993. Developing microbial controls for scarab pest. In: Diversidad y Manejo de plagas subterráneas . Morón, MA. (Ed.). Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. pp. 183-192.
- King, ABS. 1985. Factors affecting infection by larvae of *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) in Costa Rica. Bulletin Entomological Research 5:417-427.
- Kéller, S., Zimmermann, G. 1989. Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N; Collins, NM; Hammond, PM., Weber, JF. (Eds.). Insects-fungus interactions. Academic Press, London, p. 239-270.
- Lozano-Tovar, MD., Rodríguez S., MN., Vásquez A., NC., Sánchez G., G. 2000. Efecto de *Metarhizium anisopliae* sobre plagas rizófagas de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) en Colombia. Manejo Integrado de Plagas 56: 58- 64.

- Mendonca, AF. 1992. Producción, formulación y aplicación del hongo *Metarhizium anisopliae*. In: 4^o Congreso Internacional Manejo Integrado de Plagas. Zamorano y Secretaria de Recursos Naturales. Zamorano, Honduras. pp. 55.
- Mazodze, R., Zvoutete, P. 1999. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* against *Heteronychus licas* (Scarabaeidae: Dynastinae) in sugarcane in Zimbabwe. *Crop Protection* 18: 571-575.
- Milner, RJ., Samson, PR. 2000. The development of *Metarhizium* based biopesticides for use against sugar cane white grubs in Australia. *Scarab Biocontrol News*. No. 5. New Zealand. p. 11.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas* 63: 95-103.
- Morón, MA. y R. Terrón. 1988. *Entomología Práctica*. Instituto de Ecología, A.C. México. 504 pp.
- Romero, M., Estrada, ME., Castañeda, RF., Luján, M. 1997. Caracterización morfológica y patogénica de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Caña de azúcar* 15(1): 17-25.
- Shannon, PJ; Smith, SM; Hidalgo, E. 1993. Evaluación en el laboratorio de aislamientos costarricenses y exóticos de *Metarhizium* spp y *Beauveria* spp. contra larvas de *Phyllophaga* spp (Coleoptera: Scarabaeidae). In *Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas*. Veracruz, México, Sociedad Mexicana de Entomología, Instituto de Ecología. p. 203-215.
- Shannon, PJ. 1996. Control microbiano de *Phyllophaga* spp. (Col: Melolonthidae). In Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga* spp. CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. p. 80-93.
- Tosi, JA: 1969. Mapa ecológico según la clasificación de zonas de vida del mundo de L.R. Holdridge. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 1 hoja.
- Velásquez, M. 1996. Incidencia y control del complejo *Phyllophaga* spp. en Guatemala. En: Shannon, P. y Carballo, M. (Eds.). *Biología y Control de Phyllophaga* spp. CATIE-PRIAG. Turrialba, Costa Rica. pp. 1-5.