

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por el Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación y la Escuela de Posgrado del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del Estudiante como requisito parcial para optar por el grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

FIRMANTES:

Luko Hilje, Ph.D.
Consejero Principal

Carlos Navarro, Ph.D.
Miembro del Comité Consejero

Lilliana Gonzales, MS.c.
Miembro del Comité Consejero

Manuel Carballo, MSc.
Miembro del Comité Consejero

Glenn Galloway, Ph.D.
**Director del Programa de Educación y Decano de la
Escuela de Posgrado**

Isis Massiel Pinto Alvarez
Candidata

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad y la fortaleza para continuar mis estudios.

A mi esposo Luigi Franceschi por creer en mí y ser mi apoyo cuando más lo necesité.

A mis padres Mariantonia Álvarez, Oscar Pinto, y a mi hermano Elliott Moisés por su comprensión y por ser la principal motivación que me indujo a seguir adelante.

A mis demás familiares por sus lindas oraciones

Isis Massiel

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor asesor, Dr. Luko Hilje, por su apoyo, dedicación y enseñanza.

A los miembros de mi Comité de Tesis, Manuel Carballo, Lilliana González y, en especial, al Dr. Carlos Navarro, por sus consejos.

A la empresa ChemTica International (Costa Rica), por aportar las sustancias evaluadas y también sus conocimientos sobre ellas.

Al proyecto “Domesticación de caoba y cedro español en Mesoamérica: colección de germoplasma, selección genética y desarrollo de técnicas para plantaciones silviculturales” (USDA-CATIE), por permitirme trabajar en sus parcelas.

Al personal del Laboratorio de Entomología, Guido Sanabria y en especial a Arturo Ramírez, por ser una persona maravillosa siempre dispuesta para colaborar con los estudiantes.

Al colega Francisco Soto (Proyecto CERBASTAN, CATIE-ECOS), por permitirme trabajar en su túnel de vuelo durante el desarrollo del anteproyecto de tesis.

Al Dr. Francisco Jiménez, Mario Álvarez y Patricia Leandro (CATIE), así como a la agencia UIPRE (Instituto Costarricense de Electricidad, ICE), por su apoyo logístico.

Al Dr. Fernando Casanoves y Gustavo López M.Sc. (CATIE), por la orientación en el análisis estadístico de los datos.

A la Organización de las Naciones Unidas (OEA), por haber financiado mis estudios.

A los doctores Raúl Carranza, Aníbal Taymes, Carlos Chena, Richard Condit y Adriana Sautú, por apoyarme para entrar a la maestría y obtener la beca.

A mis amigos y excelentes compañeros Guillermo Flores y William Salas, quienes siempre me acompañaron, sobre todo en los momentos difíciles.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE GENERAL.....	iv
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
Objetivos generales.....	3
Objetivos específicos.....	3
3. HIPOTESIS.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Importancia económica de <i>Cedrela odorata</i>	4
4.2 Importancia económica de <i>H. grandella</i> (Lepidoptera: Pyralidae).....	5
4.3 Aspectos bioecológicos de <i>H. grandella</i>	7
4.4 Aspectos etológicos de <i>H. grandella</i>	8
4.5 Antecedentes sobre el manejo de la plaga.....	11
4.6 Potencial de manejo mediante sustancias semioquímicas.....	13
4.7 Propiedades de las meliáceas.....	18
4.8 Sustancias repelentes.....	20
4.9 Componentes feromonales.....	23
5. MATERIALES y MÉTODOS.....	30
5.1 LOCALIZACIÓN.....	30

5.2 COMPUESTOS EVALUADOS.....	30
5.2.1 Repelentes	30
5.2.2 Feromonas	31
5.3 EXPERIMENTOS CON REPELENTES.....	33
5.3.1 Campo.....	33
5.3.2 Laboratorio	34
5.4 EXPERIMENTOS CON FEROMONAS.....	42
6. RESULTADOS.....	46
6.1 EVALUACIÓN DE REPELENTES EN EL CAMPO	46
6.2 EVALUACIÓN DE REPELENTES EN EL TUNEL DE VUELO	64
7. DISCUSION	73
8. CONCLUSIONES	85
9. RECOMENDACIONES.....	86
10. LITERATURA CITADA.....	88
11. ANEXOS	107

Pinto, I. 2003. Evaluación de la repelencia de sustancias puras y de la atracción de combinaciones binarias de compuestos feromonales sobre *Hypsipyla grandella* (Zeller), en Costa Rica.

Palabras claves: *Hypsipyla grandella*, túnel de vuelo, repelentes, atrayentes, feromonas.

RESUMEN

El establecimiento de plantaciones de cedro y caoba en el continente americano ha fracasado de manera reiterada, históricamente, debido al ataque de *Hypsipyla grandella*, cuya distribución comprende casi todo el continente. Su larva perfora el brote principal, el cual se deforma o ramifica, reduciéndose así el valor comercial del árbol afectado. Puesto que el nivel de tolerancia o umbral de daño es muy bajo, ya que una sola larva es suficiente para dañar un árbol, es necesario recurrir a un enfoque de tipo preventivo. Este podría basarse en sustancias que impidan la localización del árbol hospedante o el consumo de sus brotes, como repelentes o atrayentes.

Por tanto, se evaluaron en el campo y el laboratorio (túnel de vuelo) nueve sustancias puras de origen vegetal, que pueden repeler a otras especies de insectos, las cuales comprendieron alcoholes (alcohol bencílico, 1-hexanol y lavándula), aldehídos (benzaldehído, cinamaldehído y perialdehído) y otros grupos químicos (verbenona, eugenol y salicilato de metilo). Esto se hizo en una plantación de cedro en los predios del CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Dichas sustancias (suplicadas por la empresa ChemTica International) estaban formuladas en dispensadores de liberación controlada.

Estos se colocaron en brotes tiernos de árboles seleccionados al azar y se evaluó la presencia o ausencia de daño en el brote tratado. Asimismo, en el laboratorio se probaron solamente aquellas sustancias cuyos brotes no habían sido muy atacados en campo, como fueron: alcohol bencílico, lavándula, cinamaldehído y salicilato de metilo. Para ello, en un túnel de vuelo se colocó una plántula de cedro con el dispensador y se liberaron hembras grávidas, y se contó el número de huevos colocados y la cantidad de adultos posados en la planta.

En cuanto a atrayentes, se evaluaron seis combinaciones binarias de los siguientes cuatro compuestos feromonales presentes en *H. grandella*: (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol acetato, (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol, (Z)-9-tetradecen-1-ol acetato y (Z)-9-tetradecen-1-ol. Esto se hizo en una parcela de caoba, donde los dispensadores que contenían estas combinaciones (también suplicadas por ChemTica International) fueron colocados en dos tipos de trampas (Unitrap y Wingtrap) y se registró el número de machos capturados en las trampas.

En ninguno de los experimentos con repelentes (campo ni laboratorio) hubo diferencias significativas entre los tratamientos, pero se desconoce si por razones biológicas o logísticas de los experimentos. Aunque según los primeros, algunas sustancias parecían ejercer alguna acción repelente, esto fue descartado cuando se evaluaron en el túnel de vuelo, lo que indica que ninguna puede repeler a las hembras de *H. grandella* y, por lo tanto, los brotes resultan atacados. Por otra parte, en los experimentos con feromonas, las combinaciones binarias no resultaron ser eficaces, ya que no se capturaron machos, por lo que tampoco se pudo comparar si el tipo de trampa influye en la eficiencia de las capturas.

Pinto, I. 2003. Evaluation of the repellence of pure substances and the attraction of binary combinations of pheromone compounds on *Hypsipyla grandella* (Zeller), in Costa Rica.

Key Words: *Hypsipyla grandella*, wind tunnel, repellents, attractants, pheromones.

ABSTRACT

The establishment of mahogany and cedar plantations in Latin America has failed repeatedly. Historically, this is due to damage caused by the shootborer *Hypsipyla grandella*, which is distributed throughout Latin America. The larvae bore into the terminal shoots, which results in excessive production of lateral branches, reducing the commercial timber value of the affected tree. A preventative approach is required because there is a low damage threshold, and a single larva can damage a tree. This approach could be based on substances such as repellents or attractants that inhibit the location of host trees or the consumption of the shoots.

Therefore, in this study nine pure substances of vegetable origin that can repel other insect species were evaluated in the field and laboratory (wind tunnel). These included alcohols (benzyl alcohol, 1-hexanol and lavandula), aldehydes (benzaldehyde, cinnamaldehyde and perialdehyde) and other chemical groups (verbenone, eugenol and methyl salicylate). This work was conducted in a cedar plantation in CATIE, Turrialba, Costa Rica. The substances (supplied by ChemTica International) were prepared in controlled-release dispensers.

The dispensers were located on randomly selected young shoots, and the presence or absence of damage in the treated shoots was evaluated. In the laboratory, were evaluated those substances whose shoots had minor damage by *H. grandella* in the field, such as: benzyl alcohol, lavandula, cinnamaldehyde and methyl salicylate. To evaluate these substances, a cedar plant with dispensers and gravid females were placed in a wind tunnel and the number of eggs and adults in each plant were recorded.

The attractants were evaluated in six binary combinations of four pheromone compounds present in *H. grandella*: (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol acetate, (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol, (Z)-9-tetradecen-1-ol acetate, and (Z)-9-tetradecen-1-ol. This work was conducted in a mahogany plantation where the dispensers that contain these combinations (supplied by ChemTica International) were located in two traps (Unitrap and WingTrap). The number of males captured in the traps were recorded.

There were no significant differences between treatments in any of the experiments (in the field or laboratory), but it is unknown whether these results were due to biological or logistical reasons. At first, some substances seemed to have some repellent action, but this was discarded when they were evaluated in the wind tunnel. This indicated that none of these substances can repel *H. grandella* females, thus the shoots were attacked. Furthermore, in the pheromone experiments, the binary combinations were not efficient because males were not captured. This made it impossible to compare if the trap designs influenced the efficiency of the captures.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Número acumulativo de árboles de cedro dañados semanalmente en los brotes tratados con cada sustancia. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.	47
Cuadro 2. Número acumulativo de árboles de cedro dañados semanalmente en los brotes tratados con cada sustancia. Experimento II. Julio-septiembre, 2003.	56
Cuadro 3. Valores reales del número de adultos de <i>H. grandella</i> incluidos en cada repetición y el número de huevos colocados en experimentos de túnel de vuelo para cada tratamiento.	65
Cuadro 4. Promedios de los números de hembras presentes y de huevos depositados para cada tratamiento, en el túnel de vuelo.	67

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Dispensador de membrana plástica, manufacturada por ChemTica Inc.,
conteniendo una de las sustancias puras evaluadas.32
- Fig. 2. Septa de hule (en el ángulo inferior izquierdo) con la combinación binaria de los
compuestos feromonales de *H. grandella*., así como empaques herméticos en que se
mantuvieron los compuestos.....32
- Fig. 3. Brote tratado con el dispensador de la sustancia evaluada (izquierda) y brote
testigo (derecha).34
- Fig. 4. Procedimiento para la evaluación semanal de los brotes de cedro en el
experimento con repelentes.34
- Fig. 5. Cámaras bioclimáticas utilizadas para el desarrollo de las larvas y las pupas de *H.*
grandella en el Laboratorio de Entomología del CATIE.....36
- Fig. 6. Jaula de malín para la cópula y oviposición de los adultos de *H. grandella*,
mantenida en el invernadero de Entomología del CATIE.....36
- Fig. 7. Jaulas de malín individuales para hembras (izquierda) y machos (derecha) en las
que se colocaron las pupas sexadas para que emergieran los adultos, para luego
transferirlos a la jaula de cópula.37
- Fig. 8. Esquema del túnel de vuelo utilizado en los experimentos (Miller y Roelofs 1977).
.....37
- Fig. 9. Vista del extremo superior del túnel de vuelo, mostrando los bombillos rojos en la
parte superior y las puertas laterales.38
- Fig. 10. Vista del extremo inferior del túnel de vuelo, mostrando el extractor que genera la
corriente de aire y las cajas petri con los adultos.38

Fig. 11. Planta de cedro (tratada) protegida por una malla de malín para facilitar el recuento de los huevos depositados y de los adultos posados.	41
Fig. 12. Evaluaciones en el campo de las trampas de feromonas modelo Unitrap.	44
Fig. 13. Evaluaciones en el campo de las trampas de feromonas modelo Wing Trap.....	45
Fig. 14 Porcentaje acumulativo del daño según el tratamiento. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.....	48
Fig. 15. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con alcoholes. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba....	50
Fig. 16. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con aldehídos. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba. ..	51
Fig. 17. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con otros grupos químicos. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.	52
Fig. 18. Porcentaje total de árboles de cedro, de distintas procedencias, que fueron atacados por <i>H. grandella</i> . Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.....	54
Fig. 19. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , según su procedencia. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.....	55
Fig. 20. Porcentaje acumulativo del daño según el tratamiento. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.....	57
Fig. 21. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con alcoholes. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.	59
Fig. 22. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con aldehídos. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.	60

Fig. 23. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , en brotes tratados con otros grupos químicos. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.	61
Fig. 24. Porcentaje total de árboles de cedro, de distintas procedencias, que fueron atacados por <i>H. grandella</i> . Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.. ..	62
Fig. 25. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por <i>H. grandella</i> , según su procedencia. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.....	63
Fig. 26. Promedios de oviposición por hembra para cada tratamiento y sus valores transformados.....	66
Fig. 27. Promedio de adultos que participaron en los diferentes períodos de observación para cada tratamiento: alcohol bencílico (A), cinamaldehído (B), lavándula (C), salicilato de metilo (D) y el testigo (E).	69
Fig. 28. Promedio de adultos posados en la malla que cubría la planta de cedro, en cada período de observación para cada tratamiento: alcohol bencílico (A), cinamaldehído (B), lavándula (C), salicilato de metilo (D) y el testigo (E).	70
Fig. 29. Promedio de adultos posados en la malla que cubría la plántula, para cada tratamiento.....	71
Fig. 30. Promedio del total de adultos posados en la malla que cubría la plántula de cedro en los diferentes periodos de evaluación... ..	72

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Croquis de la plantación de cedro en la Estación experimental “La Montaña”. CATIE, Turrialba, Costa Rica	¡Error! Marcador no definido.
Anexo 2. Croquis de la plantación de caoba en la estación experimental “La Montaña”. CATIE, Turrialba, Costa Rica.	109
Anexo 3. Estructuras químicas de los compuestos feromonales utilizados en la plantación de caoba en la estación experimental “La Montaña”. CATIE, Turrialba, Costa Rica.	110
Anexo 4. Análisis de la varianza para la variable huevos depositados por hembra, en los experimentos en el túnel de vuelo.....	111
Anexo 5. Análisis de la varianza para la variable transformada “huevos depositados por hembra”, en los experimentos en el túnel de vuelo.	111
Anexo 6. Prueba de Duncan (0.05) para la variable “huevos depositados por hembra”, en los experimentos en el túnel de vuelo.	112
Anexo 7. Análisis de la varianza para la variable adultos posados en la malla, en los experimentos de túnel de vuelo.....	112
Anexo 8. Prueba de LSD Fisher (0,05) para la variable “total de adultos posados” en cada tratamiento, en los experimentos en el túnel de vuelo.....	113
Anexo 9. Prueba de LSD Fisher (0,05) para la variable “total de adultos posados” en diferentes períodos, en los experimentos en el túnel de vuelo.	113
Anexo 10. Promedio de la humedad relativa (%) y de la temperatura (°C), de cada experimento en el túnel de vuelo.....	114

1. INTRODUCCIÓN

La fuerte deforestación de los bosques neotropicales ha provocado la sobreexplotación de maderas preciosas, como las derivadas de árboles de la familia Meliaceae, que incluyen especies de alto valor comercial como las caobas (*Swietenia* spp.) y los cedros (*Cedrela* spp.). Desde la época colonial los bosques de caoba han mermado en 84 y 62%, para Costa Rica y Mesoamérica, respectivamente, según un estudio reciente del Centro Científico Tropical (Barquero 2000). Esto ha causado la carencia de tan útil recurso para la industria maderera, así como la pérdida de valioso germoplasma (Patiño 1997), el cual podría permitir el desarrollo de programas para el mejoramiento genético de maderas preciosas.

Una opción para reducir la presión sobre los bosques naturales y, a la vez, suplir suficiente cantidad de estas maderas es el establecimiento de plantaciones comerciales. Sin embargo, en el continente americano dichos esfuerzos han fracasado de manera reiterada, históricamente, debido al ataque de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae), cuya distribución comprende casi todo el continente. Su larva perfora especialmente el brote principal, el cual se deforma o ramifica, reduciéndose o anulándose así el valor comercial del árbol afectado (Newton *et al.* 1993).

Se han investigado numerosas opciones para el manejo integrado (MIP) de esta plaga. La mayor iniciativa al respecto fue la del Grupo de Trabajo Interamericano sobre *Hypsipyla grandella*, con sede en el CATIE, en Turrialba, Costa Rica, en los años 70 (Grijpma 1973, Whitmore 1976). En años recientes se han retomado los esfuerzos, pero sus resultados aún son poco factibles en términos operativos y económicos (Newton *et al.* 1993, Hilje y Cornelius 2001). Por tanto, es necesario buscar otros enfoques para su manejo.

Puesto que el nivel de tolerancia o umbral de daño es muy bajo, ya que una sola larva es suficiente para dañar un árbol, es necesario recurrir a un enfoque de tipo preventivo. Este podría basarse en sustancias que impidan la localización del árbol hospedante o el consumo de sus brotes. Estas sustancias existen en el mundo vegetal, como lo demuestra la presencia de sustancias en extractos alcohólicos del hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae) y la ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae), las cuales son

fagodisuasivas de la larva de *H. grandella* (Mancebo *et al.* 2000, 2001). Sin embargo, es preferible utilizar fuertes repelentes que impidan a la hembra depositar sus huevos en los brotes de los árboles, evitando así el menor contacto del insecto con la plaga.

Aunque no se han identificado sustancias que repelan a *H. grandella*, se conoce que las hay de origen vegetal con actividad repelente sobre otros insectos, incluyendo a coleópteros (varias especies de Scolytidae), homópteros (varias especies de áfidos) y dípteros (*Musca domestica*) (Mwangi *et al.* 1992, Hardie *et al.* 1994, Wimalaratne *et al.* 1996, Jakus y Dudova 1999, Zhang *et al.* 1999, Huber *et al.* 2001).

Otra forma de manipulación de esta plaga es a través de atrayentes, principalmente con la feromona sexual de la hembra (Holsten y Gara 1974). De hecho, ya existen algunos avances al respecto (Borek *et al.* 1991, Effraim 1997, Hilje *et al.* 2002), pero aun no se ha podido determinar cuál o cuáles son los compuestos activos. No obstante, una vez que se conozca los componentes que ejercen una fuerte atracción sobre los machos, éstos podrían ser utilizados como una herramienta para monitoreo o también como método de combate directo.

En Costa Rica se cuenta con los recursos técnicos y económicos para la producción de estos repelentes y atrayentes, como sucede con la empresa ChemTica Internacional. Por tanto, es recomendable evaluarlas experimentalmente contra *H. grandella* y, de resultar eficaces, se podrían formular como productos de liberación controlada, para incrementar su vida útil en el campo.

Una vez evaluados y validados en el campo, se aplicarían solamente durante los primeros seis años, que es el período crítico para una plantación de caoba o cedro (Cibrián *et al.* 1995). Este sería un método innovador, que permitiría desarrollar una estrategia de manejo preventivo y ambientalmente benigno (Hilje 2001), posiblemente rentable para los productores forestales del continente americano.

2. OBJETIVOS

Objetivos generales

Evaluar la posible repelencia de sustancias puras sobre hembras de *Hypsipyla grandella*, como etapa previa para utilizarlos en programas de manejo integrado de dicha plaga.

Evaluar la posible atracción de compuestos binarios feromonales sintetizados como posibles candidatos de la feromona sexual de la hembra, sobre machos de *H. grandella*, como etapa previa para utilizarlos en programas de manejo integrado de plagas.

Objetivos específicos

- ?? Determinar si la aplicación de sustancias puras en una parcela de cedro evita que sus brotes sean atacados por *H. grandella*.

- ?? Determinar si las hembras de *H. grandella* frente a sustancias puras se alejan de la planta tratada y/o reprimen de manera adversa su oviposición, en un túnel de vuelo.

- ?? Determinar si los machos son atraídos por las combinaciones binarias feromonales y son capturados en trampas, en el campo.

- ?? Determinar si el diseño de la trampa influye en la captura de machos atraídos por los compuestos feromonales.

3. HIPOTESIS

- ?? Algunas de las sustancias puras evaluadas evitan que las hembras de *H. grandella* ovipositen en árboles de cedro, impidiendo que sus brotes sean dañados por dicha plaga.

- ?? Algunas de las sustancias puras evaluadas provocan reacciones de alejamiento y/o represión de la oviposición en las hembras de *H. grandella*, en experimentos de túnel de vuelo.

- ?? Algunas de las combinaciones binarias feromonales producen cierto grado de atracción en machos de *H. grandella*, en el campo.

- ?? El tipo de trampa con feromonas no afecta la respuesta de los machos de *H. grandella* atraídos, en el campo.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia económica de *Cedrela odorata*

El cedro amargo (*Cedrela odorata*) es una Meliaceae que posee una amplia distribución en América Latina, y es considerada de gran importancia económica por su alta demanda en el mercado mundial (Cintrón 1990). Su madera es utilizada para la confección de muebles finos, construcción de barcos, confección de cajas de habanos, etc. Esta incluida en el Apéndice III de la lista de especies prioritarias (CITES 2001), donde solo se autoriza el comercio internacional de especímenes de esta especie previa presentación de los permisos o certificados apropiados. Países como Perú y Colombia ya reglamentan el

comercio de dicha especie, que además esta incluida en las listas de especies amenazadas en Panamá y República Dominicana, y también es protegida por la FAO.

El cedro amargo ha jugado un papel importante en el comercio de la madera. Entre 1986 y 1987 tres especies, una de las cuales era *C. odorata*, representaron el 58% de la madera de aserradero producida en Belice (Harcourt y Sayer 1996). Es una de las maderas más explotadas en el norte de Costa Rica (Harcourt y Sayer 1996), donde es muy valiosa en el mercado, pero su comercio es interno (Arce 1998). Su alta calidad maderable ha permitido su exportación a los grandes centros de comercio. Por ejemplo, en 1994, Brasil exportó 97,000 m³ de *Cedrela* spp., vendiéndola a un precio promedio de US\$ 260/m³. En este mismo año, Honduras llegó a exportar troncos y madera aserrada de *C. odorata*, al igual que Perú y Colombia, que exportaron madera aserrada (ITTO 1995). En 1995, EE.UU. importó un total de 23,000 m³ de *Cedrela* spp. a un precio de \$ 474/m³, Además, Ecuador exportó 6000 m³ de madera aserrada de *C. odorata* a un precio promedio de \$ 584/m³; y también Perú y Trinidad y Tobago exportaron madera aserrada (ITTO 1997). Los valores de exportación de ciertas maderas duras de la familia Meliaceae (*Swietenia macrophylla* y *C. odorata*) pueden superar los U\$ 300/m³ (FRA 2000).

4.2 Importancia económica de *H. grandella* (Lepidoptera: Pyralidae)

El nombre de esta especie corresponde con la sinonimia de *Nephoteryx grandella* Zeller, *Hypsipyra cnabella* Dyar e *Hypsipyra grandella* (Zeller) (Becker 1976). Este insecto es quizás la principal plaga forestal en América Latina y el Caribe, debido a tres factores: bajo umbral de tolerancia, especificidad sobre especies de alto valor económico, y amplia distribución geográfica (Hilje y Cornelius 2001).

En realidad, el umbral de tolerancia de daño es de apenas una larva por árbol. Aunque la fecundidad de la hembra es de 200-300 huevos, una hembra normalmente deposita sus huevos en grupos de 1-3 por árbol (Grijpma 1974), por lo que bastan pocas hembras para infestar toda una plantación.

Esto ha desestimulado la siembra de caoba y cedro en todo el continente. Por ejemplo, los intentos de reforestación fueron abandonados en Puerto Rico, debido a que en 1935-1943 unos 835.000 árboles de caoba y un millón de cedro fueron destruidos por *H.*

grandella; en Guatemala fueron diezmadas 250 ha de dichas especies, en plantaciones de dos años de edad; en Perú, fueron atacadas plantaciones de cuatro meses de edad, en 10% para caoba y 60% para cedro; en Cuba, el 90% de 1.800.000 plántulas de cedro vendidas a productores, murió debido a su ataque (Newton *et al.* 1993).

En cuanto a sus hábitos alimentarios, la larva de *H. grandella* se desarrolla únicamente dentro de representantes de la familia Meliaceae, específicamente la subfamilia Swietenioideae. Ataca las siguientes 17 especies: *Carapa guianensis*, *C. procera*, *Cedrela angustifolia*, *C. fissilis*, *C. lilloi*, *C. mexicana*, *C. odorata*, *C. salvadorensis*, *C. tonduzii*, *C. tubiflora*, *Guarea caoba*, *G. trichilioides*, *Khaya nyasica*, *K. senegalensis*, *Swietenia macrophylla* y *S. mahagoni* (Becker 1976). Algunas de ellas, como las caobas (*Swietenia* spp.) y los cedros (*Cedrela* spp.) son de tan alto valor, que actualmente se estima que de un solo árbol de caoba en los EE.UU. se pueden fabricar muebles por un monto de US\$ 130.000 (Jordan 2001).

Aunque la larva puede consumir el follaje, las semillas, e incluso la corteza del tronco, su principal daño consiste en barrenar los brotes nuevos y especialmente el brote principal. Algunas especies de caobas y cedros podrían alcanzar hasta 40 m de altura y 2 m de diámetro, en condiciones favorables (Pennington y Styles, en Newton *et al.* 1993), pero esto casi nunca se logra, debido a que dicho brote después del ataque se deforma o ramifica, por lo que se reduce o anula el valor comercial del árbol. (Grijpma y Ramalho 1973).

Finalmente, en cuanto a su distribución geográfica, *H. grandella* es exclusivo del continente americano, donde se distribuye ampliamente, desde Florida (EE.UU.) hasta Argentina, incluyendo las islas del Caribe. Se ha registrado en los siguientes países: Argentina, Barbados, Belice, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Estados Unidos, Granada, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica, Martinica, México, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, Surinam, Trinidad y Tobago y Venezuela (Becker 1976).

4.3 Aspectos bioecológicos de *H. grandella*

El ciclo de vida de *H. grandella* normalmente se completa en cinco semanas, aunque puede variar entre 4-7 semanas dependiendo de las condiciones climáticas y de la disponibilidad de alimento. Por ejemplo, en Turrialba, bajo condiciones controladas, a temperaturas constantes, Taveras (1999) determinó que su tiempo total de desarrollo varió entre 30 y 141 días, a 30°C y 15°C, respectivamente.

Sus huevos son ovalados, miden cerca de 975 μ de longitud y 650 μ de ancho, son blancos recién depositados (Ramírez-Sánchez 1964). Ellos tardan 24 h para tornarse rojos si son fértiles, posteriormente demoran tres días para eclosionar. La eclosión de los huevos también ocurre durante la noche, y es más frecuente en las primeras horas. Posteriormente, el comportamiento de las larvas es muy variable, ya que algunas primero barrenan la nervadura principal y otras se alimentan de las hojas, antes de barrenar los brotes. Al emerger, se desplazan alimentándose en diferentes sitios de la planta, hasta encontrar el lugar indicado para penetrar, que generalmente suele ser la yema terminal, la yema lateral o la cicatriz reciente de una hoja caída. En apenas un minuto, una larva recién emergida puede recorrer una buena porción del árbol (Ramírez-Sánchez 1964).

La larva pasa por seis instares, normalmente (Ramírez-Sánchez 1964). Tras la eclosión del huevo, en el primer instar larval penetra casi de inmediato al interior del brote (Dourojeanni 1963). Su color cambia gradualmente de castaño rojizo en el primer instar, hacia el castaño, cerca del penúltimo instar, y en el último instar puede ser azul claro o rosado claro (Becker 1973). La pupa es de tipo obtecta y tiene una tonalidad castaño en la parte ventral, y castaño oscuro en el dorso (Ramírez-Sánchez 1964, Becker 1973).

La emergencia del adulto dura apenas un minuto y normalmente se presenta temprano en la noche, antes de las 21 h (Ramírez-Sánchez 1964). La hembra es más grande que el macho, con una envergadura alar de 28-34 mm, mientras que en el macho es de 22-26 mm. En cuanto a la proporción de sexos (hembras: machos), comúnmente es de 1:1 (Ramírez-Sánchez 1964, Taveras 1999). La cópula ocurre durante la noche, especialmente entre la 1-5 h (Roovers 1971), y en 2-3 días la hembra ha sido fertilizada y está lista para ovipositar (Dourojeanni 1963). La hembra generalmente inicia la oviposición en las últimas horas de la noche (Dourojeanni 1963, Ramírez-Sánchez 1964), depositando los huevos en forma individual. Estos eclosionan en 3-4 días, en promedio

(Roovers 1971). Durante su vida ella deposita unos 200 huevos, en promedio, en grupos de 1-3 por árbol (Grijpma 1974). La longevidad de los adultos es de 7,5 días, en promedio (Holsten 1977).

En el campo, el conocimiento de los patrones de abundancia de *H. grandella* podría permitir la predicción de sus picos poblacionales, y optimizar así el manejo de esta plaga, mediante repelentes o atrayentes. No obstante, existen pocos estudios confiables y de largo plazo, para determinar dichos patrones. Asimismo, los resultados disponibles no siempre son coincidentes. En realidad, la abundancia de *H. grandella* puede variar durante el año, en respuesta a varios factores, como la precipitación y la radiación solar.

En Perú, Dourojeanni (1963) y Yamazaki *et al.* (1990) observaron que la mayor oviposición ocurre en los meses lluviosos (diciembre-febrero), cuando es más corto el ciclo de vida del insecto y hay gran abundancia de brotes tiernos. Esta información en general coincide con la de otros autores, en Venezuela (Tillmanns 1964) y en Florida (Howard 1991), pero no con la obtenida por Taveras (1999) en Turrialba, Costa Rica. Esta es una zona sin estacionalidad climática marcada, donde se determinó que la precipitación no fue un factor determinante de la abundancia de *H. grandella*, como sí lo fueron la disponibilidad de brotes y la temperatura. Asimismo, dicha autora documentó que los picos poblacionales de esta plaga se pueden predecir, y que están espaciados por 1881 grados-día. Desde el punto de vista práctico, esto podría permitir la concentración de las medidas para su manejo, incluyendo el empleo de repelentes o el trampeo con feromonas, justo antes que los picos se presenten.

4.4 Aspectos etológicos de *H. grandella*

El conocimiento del comportamiento de selección del hospedante por parte de *H. grandella* podría abrir nuevas opciones para su manejo, mediante la manipulación etológica de las larvas o los adultos.

El comportamiento, al igual que la oviposición y vuelo de adultos ha sido estudiado por varios investigadores (Ramírez-Sánchez 1964, Grijpma y Gara 1970). Ramírez-Sánchez (1964) observó que el vuelo en busca de su hospedante ocurre en horas de la noche, debido a que este insecto es de actividad nocturna. Holsten y Gara (1974), confirman lo

dicho por los autores anteriores en cuanto a que *H. grandella* selecciona su hospedante durante la noche, principalmente desde la medianoche hasta las 05:00 h, cuando la temperatura alcanza 15-24°C (Gara *et al.* 1973).

Durante este período nocturno, mediante sus sensillas olfativas el insecto detecta los compuestos volátiles que emanan de las hojas frescas del árbol hospedante, y también compuestos volátiles que emanan de túneles viejos, resultantes de ataques previos, en áreas ya infestadas (Grijpma y Gara 1970, Holsten y Gara 1974). También determinaron que las hembras vírgenes aún sin copular son capaces de encontrar su árbol hospedante, donde luego atraerán el macho para que ocurra la cópula. Resultados de otros experimentos indican que las hembras son las primeras en encontrar estos árboles con nuevo crecimiento, y luego el macho llega muy posiblemente orientado por la producción del atrayente sexual de la hembra (Gara *et al.* 1973).

Una vez seleccionado el hospedante, la hembra copulada coloca dos o tres huevos sobre varios árboles; incluso en muchos casos la oviposición puede repetirse varias noches. Los huevos pueden ser colocados por la hembra en diferentes lugares de la planta, en o cerca del brote terminal del tallo, las hojas (pecíolo, venas, axilas o cicatrices), los folíolos, e incluso los frutos en la estación seca (Ramírez-Sánchez 1964, Becker 1973). Asimismo, los huevos pueden ser depositados muy cerca del suelo, sobre plantas herbáceas alrededor del tronco y hasta en los ápices de hojas de las hierbas que están en contacto con el tronco del árbol. Se cree que alguno de los adultos prefieren depositar sus huevos sobre el tallo durante los primeros días de la oviposición y después lo hacen sobre los folíolos (Ramírez-Sánchez 1964).

Aparentemente la palomilla pasa las horas de luz en el dosel de grandes árboles o en malezas (Grijpma y Gara 1970), y durante la estación lluviosa, concentra su infestación en plantas que exhiben nuevo crecimiento. Durante la estación seca, el cedro amargo pierde sus hojas, y en este período las hembras ovipositan sobre los tallos defoliados.

Es muy difícil observar el ataque de una larva durante los dos primeros días, debido a que es muy pequeña; sin embargo, a las 72 h de emergida la larva completa el primer instar. Poco a poco se alimenta hasta consumir todos los tejidos internos del tallo, al punto de que pueden dejar intacta únicamente la corteza, por lo que se forma una especie de tubo. En los tallos ya leñosos pueden incluso alcanzar el cambium, dejando casi solamente la

epidermis (Ramírez-Sánchez 1964). A veces llegan hasta a circundar completamente el tallo y lo matan de esta manera.

Un dato curioso es que *H. grandella* puede ovipositar tanto en especies nativas (*C. odorata*) como en especies exóticas (*Toona ciliata*), aunque en esta última las larvas no completan su desarrollo (Grijpma y Roberts 1976). Esto indica, que *H. grandella* encuentra a *T. ciliata* como un lugar adecuado para ovipositar, pero una vez que sus larvas tratan de alimentarse de esta planta, la abandonan o mueren por inanición (Grijpma y Gara 1970). Además, los mismos autores comprobaron que las hembras reducían su actividad de oviposición debido a compuestos volátiles, posiblemente tóxicos, provenientes de *T. ciliata*.

Una vez que, la larva cesa su actividad y está lista para transformarse en pupa, teje su capullo cerca del orificio de entrada u otro orificio secundario que haya abierto al alimentarse; los adultos emergen normalmente antes de las 21 h (Ramírez-Sánchez 1964), cuando la cantidad de luz es de 0-15 unidades lux aproximadamente después de las 18 h (Sliwa y Becker 1976). Las hembras son copuladas e inician la oviposición en la misma noche en que emergen (Ramírez-Sánchez 1964).

El comportamiento de post-emergencia se inicia con un período de desplazamiento, expansión y secamiento de las alas, aproximadamente de unos 10 min después de la emergencia (antes de las 19 h). Cinco horas después del período de oscuridad, la hembra sexualmente activa inicia el llamado de cortejo (Sliwa y Becker 1976); este llamado se expresa con un doblamiento dorsal del abdomen hacia arriba y entre las alas, a lo cual el macho responde volando hacia la hembra y permaneciendo a 10-15 cm de ella. Tras el cortejo de los machos, la cópula se presenta 6,5-10 h después de iniciado el período de oscuridad total, la cual ocurre en posición posterior-posterior, permaneciendo así por unas 2 h. Posteriormente la hembra inicia su vuelo en busca de su hospedante donde ovipositará.

El comportamiento general de esta plaga en el campo sugiere que la incidencia de daño es progresiva, ya que una vez es atacada la plantación aumenta la infestación hasta destruirla completamente (Grijpma y Gara 1970); posteriormente ocurre la dispersión de adultos en busca de otra parcela, confirmando una vez más, que la hembra selecciona

sus hospedantes mediante señales químicas emitidas por la corteza, o por el aserrín y la resina producidos en los ataques previos.

Otro dato interesante es que los árboles con alturas mayores a 6 m no son seriamente atacados. Se puede asumir que el vuelo de selección de hospedantes ocurre a bajas alturas, es decir, las correspondientes a las de las plántulas o de los árboles jóvenes (Grijpma y Gara 1970), pero esto debe ser estudiado a mayor profundidad.

4.5 Antecedentes sobre el manejo de la plaga

Desde hace varios años esta plaga se ha tratado de combatir con sustancias químicas, pero esta práctica resulta poco eficaz, debido al comportamiento que presenta, ya que la eclosión es más frecuente en las primeras horas de la noche, y las aplicaciones se hacen durante el día. Además cuando el huevo eclosiona, la larva penetra rápidamente en los tejidos de la planta (Grijpma y Ramalho 1969, Wilkins *et al.* 1976) y el tiempo de exposición al insecticida es relativamente corto. Por lo tanto en términos económicos, no es rentable, dado que la persistencia de los insecticidas en condiciones tropicales es baja, y la frecuencia de ataques es muy alta debido al corto ciclo de vida del insecto.

Grijpma y Ramalho (1969), sugieren que el uso de insecticidas sistémicos tiene la desventaja al igual que todos los insecticidas, de ser inestables en el ambiente tropical, así como perjudiciales para el ambiente. Sin embargo, se ha determinado que al combinarlo con un polímero sintético o natural, se tiene un efecto de liberación controlada (escape gradual) y a la vez un abastecimiento continuo de las sustancias activas hacia el sistema vegetal. De esta forma, la concentración tóxica del insecticida permanece por un período prolongado. Esto fue corroborado por Allan *et al.* (1970), quienes evaluaron 28 insecticidas sistémicos en cedro amargo, y documentaron que el carbofurán, metomil, fosfamidón, monocrotofós e isolán aportaron una protección completa de los árboles; los dos primeros dieron protección completa aún 23 días después de aplicados. También Hochmut y García (1979), recomendaron el uso de Dipterex 80% PH, el cual es ampliamente comercializable contra *H. grandella*. Berrios *et al.* (1987), demostró que Actellic 50% CE ejerce un control eficaz reduciendo el daño a un 50%, resultado similar al obtenido con Dipterex.

En el control biológico se han utilizado hongos, como *Metarrizhium anisoplae* y *Beauveria bassiana*. Una vez que las larvas se alimentan con hojas impregnadas con estos hongos, mueren entre los 4-11 días, registrándose las mayores tasas de mortalidad en el último día (Duarte *et al.*1988). Sánchez *et al.* (1998) evaluaron el efecto de *B. bassiana* y la bacteria *Bacillus thuringiensis* sobre *H. grandella* con tres frecuencias de aplicación (cada mes, tres meses y seis meses), y el número de daños causados por la plaga se redujo en un 75%; se detectaron diferencias en el crecimiento de los árboles tratados, pero factores ambientales y otros como la variación genética tuvieron mayor influencia. *B. thuringiensis* ataca principalmente larvas de lepidópteros, y al momento de esporular produce una proteína cristalífera que, al ingerirla el insecto, provoca una serie de reacciones enzimáticas en el intestino alcalino, paralizándolo y destruyéndolo (Hidalgo-Salvatierra 1976, Sánchez *et al.* 1998).

El uso de sustancias de origen vegetal, como repelentes o disuasivos de *H. grandella*, es otra de las posibles soluciones al problema, pero se desconocen las sustancias que pudieran repeler a esta plaga, aunque se han encontrado algunas con propiedades disuasivas en larvas. Mancebo *et al.* (2000) evaluaron el efecto de extractos vegetales sobre la alimentación de larvas de *H. grandella*, para lo cual expusieron larvas de instar III a 29 tipos de extractos, a una sola concentración (10%), cada uno impregnado en discos foliares de cedro, y obtuvieron efectos bien definidos en tan solo seis extractos. De ellos, extractos de follaje y de madera de *Quassia amara* (Simaroubaceae), así como del follaje de *Ruta graveolens* (Rutaceae), causaron efecto fagodisuasivo en larvas de III instar, mientras que Azatín (derivados del nim) y *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) causaron efectos insecticidas y Nim 80 (derivados del Nim) actuó como regulador del crecimiento.

La idea de trabajar con sustancias disuasivas o repelentes, es formularlas en dispositivos de liberación controlada, para que sean percibidas por los receptores sensoriales (sensillas estilocónicas) que posee *H. grandella* en las maxilas, asociadas con la fagodisuasión (Schoonhoven 1980). Sin embargo, a pesar que existe un fuerte interés por la industria agroquímica de producir este tipo de sustancias, comercialmente no son factibles debido a su complejidad, lo que aumenta sus costos de producción (Schoonhoven 1982, Pillmoor *et al.* 1993).

El restringido ámbito de hospedantes de *H. grandella*, que incluye solamente especies de la familia Meliaceae, sugiere que esta familia podría producir sustancias químicas

específicas que atraen las hembras en oviposición. Lo cual sugiere investigar sobre la composición de otras plantas, de las cuales hay referencias de tipo etnobotánico o anecdótico, que podría causar efecto repelente o disuasivo en los adultos del insecto.

4.6 Potencial de manejo mediante sustancias semioquímicas

Las sustancias semioquímicas o infoquímicas son portadoras de un mensaje que tiene valor adaptativo para el insecto, y éstas son muy diversas (Matthews y Matthews 1978). Se les clasifica como feromonas, si el mensaje permite la comunicación de manera intraespecífica, o como sustancias aleloquímicas, si lo hacen en forma interespecífica (Matthews y Matthews 1978, Jutsum y Gordon 1989, Warthen 1990, Norin 2001).

Los insectos herbívoros diariamente están sometidos a olores y esencias naturales atractivos, las cuales utilizan como señales de orientación para encontrar su fuente de alimento, sitios de apareamiento, sitio de oviposición y como sistema de alarma (Dethier 1947). Muchos de estos olores emanan de la parte foliar, floral o del fruto, y pueden ser una mezcla de 10 a 100 compuestos, pero solo una minoría de los componentes, en ese complejo de olores, es detectada por las antenas del insecto (Zhang *et al.* 1999). Comúnmente estos compuestos volátiles incluyen una serie de cortas cadenas de alcoholes, aldehídos, ésteres, compuestos aromáticos, y varios monoterpenos y sesquiterpenos (Schoonhoven *et al.* 1998).

Dethier (1947) menciona que puede ocurrir que una de estas sustancias sea atractivos para oviposición en alguna especie y un indicador de la fuente de alimento para otra, e inclusive puede ocurrir que dentro de la misma especie estos compuestos volátiles sean atractivos específicos para uno de ambos sexos, es decir, atractivo oviposicional eficaz solo en hembras. Un ejemplo de esto ocurre con *Manduca sexta*, especialista oligófago en plantas de la familia Solanaceae. Las hembras adultas primeramente utilizan las señales olfativas para detectar dónde se encuentra su planta hospedante y colocar en ella sus huevos, mientras los adultos de ambos sexos utilizan las señales olfativas para localizar fuentes de néctar o sitios dónde alimentarse (Yamamoto *et al.* 1969).

Groot *et al.* (1999) realizaron un experimento con EAG (electroantenogramas), exponiendo antenas de machos y hembras *Lygocoris pabulinus* a compuestos volátiles de

plantas. Para ambos sexos se obtuvieron las mayores respuestas con (E)-2-hexenyl butanato y (E)-2-hexen-1-ol, pero la antena de la hembra fue más sensible al hexan-1-ol, heptan-1-ol, 1-octen-3-ol, 2-heptanona, (R)-carvone, linalool, geraniol, nerol y salicilato de metilo. Por otra parte, el macho también respondió mayormente a los ésteres, lo cual indica que existen diferencias en la respuesta entre sexos; los machos son más sensibles a compuestos tipo feromona y las hembras a compuestos que utilizan para orientarse hacia sus sitios de oviposición.

Entre los sexos también puede darse una diferencia en la respuesta a una determinada concentración de olor, como ocurrió cuando las hembras de *Drosophila* spp. mostraron un máximo de respuesta a alcohol etílico y ácido acético en concentraciones de 10, 15 y 0,4%, mientras los machos los hicieron a 5 y 0,2 % (Dethier 1947).

Los aceites esenciales que se encuentran en las plantas son generalmente líquidos a temperaturas ordinarias y volatilizables sin descomposición; además, son levemente solubles en agua. También conocidos como aceites volátiles, pueden estar en diferentes partes de la planta, en algunos casos en la planta entera, como en coníferas, y en otras plantas están restringidos a ciertas partes. Por ejemplo, *Sassafras variifolium* (Lauraceae) contiene en sus raíces un aceite compuesto primariamente de safrol, alcanfor y eugenol, mientras que los principales constituyente del aceite presente en sus hojas es el terpeno olefinic, myrcene, linalool y geraniol. En *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) se encuentran tres aceites distintos, cada uno caracterizado por una sustancia química diferente, en la raíz por alcanfor, en las hojas por eugenol y en la corteza por el cinamaldehído. En *Securidaca longepedunculata* (Polygalaceae), el salicilato de metilo es el principal compuesto de sus raíces (Jayasekara *et al.* 2002).

Muchos factores, incluyendo el clima y variaciones del suelo, pueden afectar la composición de un aceite. Para *Lavandula vera*, en Francia, su olor primario es de linalool (C₁₀H₁₈O) en adición al geraniol, mientras el aceite de plantas cultivadas en Inglaterra consiste grandemente de cineol, el cual tiene un olor diferente (Dethier 1947).

La ecología química es un área del conocimiento que estudia estas interacciones ecológicas entre organismos, mediadas por compuestos químicos, permitiendo un mejor entendimiento de cómo los insectos detectan y aceptan sus plantas (Macías 2001). La finalidad es poder manipular el comportamiento de los insectos mediante estas sustancias

volátiles. Según Foster y Harris (1997), la manipulación se puede definir como el uso de un estímulo que promueve o inhibe un comportamiento, y cambios en su expresión. Este tipo de estímulo puede ser táctil, el cual es percibido durante el contacto y es determinante en la aceptación del hospedante como en el comportamiento oviposicional de la hembra (Harris y Rose 1990 citado en Foster y Harris, 1997).

Warthen (1990) define cinco tipos de sustancias, según su efecto en el comportamiento de los insectos: *a*) repelentes, los cuales alejan a los insectos de la planta; *b*) supresores, que inhiben la iniciación de la alimentación o la oviposición del insecto en el hospedante; *c*) disuasivos, que interrumpen la continuación de la alimentación o la oviposición del insecto; *d*) antibióticos, que interfieren metabólicamente en el crecimiento y desarrollo normales; y *e*) anorexigénicos, que producen pérdida del apetito. No siempre es sencillo separar los efectos particulares de las sustancias clasificadas en estas cinco categorías, y menos aún de las primeras tres, por lo que se requieren bioensayos, complementados con otras metodologías etológicas muy refinadas, para precisar su efecto específico.

Las sustancias disuasivas son compuestos no volátiles que son percibidos por el insecto solo cuando éste se alimenta de la planta, pero no lo matan inmediatamente sino que reprimen su alimentación de manera gradual hasta que este muere por inanición (Warthen 1990). Cabe señalar que estos compuestos cuando son aplicados de manera aislada necesitan aplicarse en dosis mas elevadas que en la que se encuentran en la naturaleza (Warthen 1990). Tal es el caso del Azatin (extracto del nim), el cual contiene 3% de azadiractina, 27% de otros compuestos de la planta y 70% de ingredientes inertes. Y estudios han demostrado que la azadiractina, es la principal sustancia con mayor actividad contra insectos (Soon y Bottrell 1994). Estas reacciones demuestran que la selección del hospedante por parte del insecto está determinada tanto por sustancias volátiles como no volátiles. Asimismo, la oviposición es un paso crítico en el ciclo de vida de los insectos herbívoros, pues el éxito de la prole depende de la calidad nutritiva de la planta seleccionada por la madre (Renwick 1990).

En la relación insecto-planta, la atracción primaria es el proceso de selección del hospedante, el cual ha sido correlacionado con variaciones de la composición de los monoterpenos en los compuestos volátiles emitidos por los árboles. Omura *et al.* (1999) encontraron que al aislar los compuestos volátiles activos que emanan de las flores de *Brassica rapa* y colocarlos en una planta artificial, lograron atraer a *Pieris rapae*, mariposa de la flor, que tal vez ayuda a la polinización de la misma. Para ello, primero determinaron

que la flor tiene seis compuestos activos, entre los cuales se encuentran el benzaldehído y el alcohol bencílico. Estas sustancias fueron impregnadas en flores artificiales y colocadas dentro de un túnel de vuelo, mientras que la planta control era una flor artificial, sin olor. Se obtuvo que las mariposas se posaron en las plantas que tenían estas sustancias, demostrando que los compuestos volátiles son utilizados para reconocer a su hospedante.

Mozuraitis *et al.* (2002) encontraron que *Heliothis virescens* (Noctuidae) es muy sensible y selectiva al germacrene D. Este compuesto se encuentra en varias de sus plantas hospedantes, como el algodón, tabaco, girasol y tomate (Tingle *et al.* 1990, Mathews 1991). El gran número de neuronas que respondieron con gran sensibilidad al Germacrene D sugiere que este compuesto es de particular importancia en la selección del hospedante para nutrición y/o oviposición. Además, el gran número de neuronas receptoras de (-)-Germacrene D en las antenas de estas hembras, indica que esta sustancia puede ser detectada a grandes distancias. Inclusive la presencia de un número relativo de estas mismas neuronas en las antenas de los machos sugiere que la sustancia actúa como atrayente para ambos sexos.

Este sesquiterpeno está presente en algunas de las especies de plantas hospedantes, pero en la planta de tabaco se encuentra en muy bajas concentraciones (Rostelien *et al.* 2000), por lo que utilizaron plantas de tabaco para realizar sus experimentos en un túnel de vuelo. En cada extremo del túnel colocaron una planta de tabaco, una sin tratar y otra que tenía un dispensador de liberación controlada con germacrene D, y en el centro del túnel se liberaron dos hembras grávidas. La oviposición fue mayor en la planta tratada, aunque no se determinó si esta sustancia es un estimulante de la oviposición o si el incremento en el número de huevos en la planta tratada fue el resultado de la fuerte atracción de las hembras hacia la planta de tabaco (Mozuraitis *et al.* 2002).

Por su parte, Mateus *et al.* (2000) evaluaron los monoterpenos de 12 especies de pino hospedantes de la mariposa *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera), la cual es una plaga de *Pinus* y *Cedrus*, determinándose que existe una correlación entre las cantidades de monoterpenos liberados por las diferentes especies y el nivel de ataque de ésta.

En el caso de *H. grandella* ocurre lo mismo, ya que el cedro posee los limonoides típicos de la subfamilia Swietenoidae. Estos son compuestos volátiles que se encuentran en la

planta y son percibidos por *H. grandella* para detectar su árbol hospedante (Maia *et al.* 2000), asegurando que existe una fuerte evidencia que señala que los principios volátiles del hospedante juegan un papel crucial en la atracción de la hembra.

Esto mismo fue reportado por Carter y Feeny (2000) para *Papilio troilus* (Papilionidae), que coloca sus huevos sobre las plantas de *Sassafras albidum* y otras tres especies de la familia Lauraceae. Sin embargo, estos autores observaron que la hembra prefiere ovipositar en *S. albidum*, del cual lograron identificar un compuesto volátil, el 3-caffeoyl-muco-quinic acid (3-CmQA), que es un estimulante de la oviposición. Sorprendentemente, los extractos de las otras plantas no contenían este compuesto, y aun cuando se adicionó este compuesto al extracto de una de ellas, no se incrementó la oviposición, sino que más bien se incrementó la discriminación entre hospedante y no hospedante. Youngman y Baker (1989) determinaron en un túnel de vuelo y en el campo, que el ácido graso presente en el aceite de la almendra funciona como un atrayente para hembras grávidas de *Amyelois transitella* (Pyralidae), que ataca a las almendras (*Prunus amygdalus*).

Los compuestos volátiles liberados por las plantas no solo orientan a los insectos herbívoros sino también a depredadores y parasitoides. Turlings *et al.* (2000) sostienen que las plantas, cuando son atacadas por un herbívoro, emiten olores que son usados por los parasitoides y depredadores como señales para localizar el herbívoro. La composición de la combinación de olores no parece depender del tipo de herbívoro que causa el daño, pero la intensidad de la emisión puede variar mucho dependiendo de cuál herbívoro se alimenta de ella. Ellos observaron que los principales compuestos volátiles liberados por las plantas de maíz consumidas por insectos son el indole, linalool y (E)- β -farnesene, los cuales pueden variar entre genotipos o variedades. Igualmente, Vrkovoca *et al.* (2000) encontró que las especies de *Quercus* spp., cuando son atacadas por *Scolytus intricatus* liberan algunos compuestos volátiles, como el (E)- β -ocimene, que es un compuesto terpénico y sirve como señal para atraer enemigos naturales de este insecto.

Otro compuesto volátil multifuncional y bioactivo que está involucrado en diferentes sistemas de señales naturales y se ha probado que actúa como comunicador entre plantas infestadas por insectos, es el salicilato de metilo. En sitios donde este fue liberado por plantas que sufrieron herbivorismo, se redujo la densidad de colonización de áfidos. También se ha registrado que este compuesto volátil es transferido del macho de *Pieris*

napi a la hembra, anulándole su atracción para iniciar nuevo apareamiento con otros machos (Norin 2001).

Desde el punto de vista de manejo integrado de plagas, se daría un gran paso si se pudiera identificar y caracterizar la gama de compuestos volátiles que *H. grandella* puede detectar como atractivos y repelentes.

4.7 Propiedades de las meliáceas

En años recientes, las familias Meliaceae y Rutaceae han mostrado tener propiedades para el control de insectos. Taylor (1981) citado en Macias (2001), señala que las meliáceas poseen unos triterpenos del tipo limonoide (metabolitos secundarios), que han demostrado propiedades insecticidas, fagodisuasivas, fitotóxicas o fungicidas, como lo son los aceites extraídos del nim. Los limonoides del nim son bien conocidos por su actividad disuasiva e inhibición del crecimiento contra varias plagas de insectos (Koul 1992), uno de estos es azadiractina, un compuesto complejo con fuertes propiedades insecticidas (Aerts y Mordue. 1997).

Koul *et al.* (1997), reportaron que extractos de ramas y follaje de tres especies de *Aglaia* (Meliaceae) inhiben el crecimiento larval y causan efectos fagodisuasivos contra larvas de lepidópteros polípagos *Spodoptera litura* y *Helicoverpa armigera* (Noctuidae). Investigaciones detalladas revelan la presencia de fracciones de limonoides complejos causantes de esta actividad. Por otra parte, Govindachari *et al.* (1999) aislaron y caracterizaron el limonoide B,D-seco de *Swietenia mahogani*, describiendo siete limonoides de esta especie y cinco de *Khaya senegalensis* con actividad antifúngica contra *Puccinia arachidis* (Pucciniaceae).

Además, dentro de la familia Meliaceae se han dado algunos avances con la finalidad de determinar que propiedades contribuyen a que la especie exótica *Toona ciliata* (cedro australiano) no sea susceptible al daño de *H. grandella*. Da Silva *et al.* (1999) encontró una diferencia entre los compuestos volátiles dentro de las subfamilias Swietenioideae y Melioideae, básicamente en la ruta biosintética para formar los limonoides que las componen. Los miembros de Melioideae, como *T. ciliata*, utilizan varias rutas biosintéticas

y los de Swietenioideae, como *S. macrophylla*, utilizan únicamente una ruta para formar sus limonoides.

Da Silva *et al.* (1999) argumentan que otra diferencia entre estas especies es que *Toona* difiere de otros géneros de Swietenioideae por la ausencia de limonoides del grupo mexicanolide. Ellos hicieron una evaluación preliminar de compuestos de *Toona* con *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) y obtuvieron un efecto insecticida en el primer instar larval, siendo cedrelone el componente más potente; 5,2 ppm fue la concentración que resultó en un 50% de mortalidad, aunque un poco bajo comparado con azadiractina en nim, cuya concentración letal es de 0,4 ppm.

Angosthino *et al.* (1994), sostiene que la resistencia de *T. ciliata* a *H. grandella* puede deberse a la presencia del limonoide A,B-seco toonacilin y su derivado 6acetoxo y oxidized furan. Estos han sido aislados y han mostrado actividad como disuasivos contra el escarabajo *Epilachna varivestis* (Coccinellidae) (Champagne *et al.* 1992).

Según Maia *et al.* (2000) al aislar los compuestos presentes en hojas y tallos de *T. ciliata* y *C. odorata*, la primera contiene 36 componentes del aceite en sus hojas y 31 componentes en el tallo. De éstos, la mayoría para ambos casos son sesquiterpenos, de los cuales los más abundantes son el β -caryophyllene, germacrene D y bicyclogermacrene. Por su parte, el aceite esencial de las hojas de *C. odorata* tiene presente 32 componentes y 47 el del tallo. Los principales fueron el β -caryophyllene y caryophyllene oxide, mientras en otros estudios anteriores fueron el β -elemene y germacrene A. Los aceites volátiles de ambas especies parecen estar caracterizados por la acumulación de β -caryophyllene. Sin embargo, la hoja de *C. odorata* contiene mayor cantidad de β -elemene que β -caryophyllene. Ambas especies tienen varios sesquiterpenos en común, aún cuando presentan marcadas diferencias. Una de estas diferencias es que *Cedrela* contiene los principales sesquiterpenos formados desde *cis* y *trans-farnesyl pyrophosphate*, mientras que *Toona* tiene solo de *trans-farnesyl pyrophosphate*.

En pruebas de electroantenogramas (EAG) con antenas de hembras de *H. grandella* expuestas a aceites esenciales de *T. ciliata* y *C. odorata*, su respuesta resultó ser mas fuerte que en machos, demostrando que la relación entre planta-insecto puede no tener la misma importancia para ambos sexos (Maia *et al.* 2000). Sin embargo, se pudo observar

cómo las hembras fueron más selectivas a los aceites de hojas que de tallos, sin mostrar diferencias en su respuesta al ser expuestas a aceites esenciales de una u otra especie. Esto indica que ellas pueden ser incapaces de diferenciar la gama de componentes volátiles presentes en ambos aceites. Al exponer los adultos a una sustancia aislada no se obtuvo respuesta, pero sí al momento de combinar más de dos, lo cual sugiere que podría darse un efecto sinérgico entre los componentes y/o el sistema de comunicación.

En la actualidad se han realizado injertos de ambas especies (*T. ciliata* y *C. odorata*) e identificado sesquiterpenos, triterpenoides, limonoides y flavonoides de estos injertos (De Paula *et al.* 1997). En ellos se ha encontrado que varios de los limonoides típicos del cedro han sido trasladados, y algunas sustancias como cicloartanos, catechin y el “cedrelone”, terpeno típico de *Toona* spp. fueron trasladados desde el tallo de esta especie (Da Silva *et al.* 1999, Jux *et al.* 2000), del cual se ha determinado que inhibe el crecimiento en larvas de lepidópteros (Koul e Isman 1992).

4.8 Sustancias repelentes

Las sustancias que son repelentes generalmente son compuestos volátiles que pueden ser percibidos por el insecto aun cuando este no se ha posado sobre la planta (Norris 1990). Estos compuestos en realidad pueden actuar como atrayentes para unas especies y repeler otras, por lo cual se recomienda conocer muy bien las propiedades del compuesto a utilizar para estos fines.

El uso de repelentes tiene como objetivo detener el daño que causa una determinada plaga a los intereses del hombre. Estos pueden derivarse de fuentes naturales así como artificiales, como los insecticidas (Norris 1990).

Algunas de las sustancias naturales son volátiles que se encuentran ya sea en la planta hospedera y/o en la fisiología del insecto, que pueden ser utilizados para control de plagas, aislándolos por cromatografía de gases, espectrometría de masas o por destilación al vapor y posteriormente evaluarlos por métodos como electroantenograma, olfatómetros, túneles de vuelo, y se podría determinar cuáles tienen propiedades repelentes, de oviposición, alimentación, apareamiento, etc.

Estudios recientes han encontrado compuestos volátiles con estas propiedades para especies particulares. Entre ellas está el piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), del cual se extraen piretrinas de conocida acción insecticida, y el poliacetileno, con actividad antihormonal (Bowers y Argullin 1987). Pérez y Villalobos (1999) encontraron que *Ephestia kuehniella* (Pyralidae) inhibe su fecundidad al percibir el efecto insecticida de otra especie como *Chrysanthemum coronarium*. Por otra parte, los compuestos volátiles de la hoja de *Schinus molle* (Anacardiaceae) han mostrado tener efecto repelente y disuasivo sobre la mosca *Musca domestica*, y principalmente el compuesto activo trans-piperitol (Wimalaratne *et al.* 1996).

La verbenona es otra sustancia volátil producida en la hoja de *Pinus* spp., hospedantes de *Dendroctonus frontalis* (Scolytidae). Esta sustancia también forma parte de la fisiología del insecto, como feromona de antiagregación. Sin embargo, Dickens *et al.* (1992) determinaron cómo ella interrumpe la respuesta a la feromona de agregación de esta especie y dos escolítidos más, limitando así el apareamiento y reproducción de estas plagas. En menor grado se observó que la combinación de 1-hexanal y hexanal inhibe la respuesta de la feromona de *D. frontalis*.

Hardie *et al.* (1994) realizaron estudios en un olfatómetro y determinaron que *Aphis fabae* resulto ser repelido por compuestos volátiles como el salicilato de metilo y el (-)-(1R,5S)-myrtenal, inhibiendo su atracción hacia la planta hospedante *Vicia faba*. Esos volátiles están relacionados con la fisiología de las plantas. El primero está asociado con metabolitos secundarios que forman parte de la defensa de las plantas, y el segundo con el (-)-(1S,5S)- α -pinene, el cual es un componente abundante de resinas defensivas producidas por gimnospermas.

No obstante, en la naturaleza también existen compuestos naturales que son detectados principalmente por la hembra y que originan cambios en su comportamiento. Esto fue observado por Yan *et al.* (1999) en un olfatómetro, donde las sustancias volátiles de la manzana activaron el comportamiento de hembras vírgenes y grávidas de *Cydia pomonella* (Tortricidae). Ellas estuvieron más activas en presencia de estos compuestos volátiles que en el testigo (sin olor). Se registró un aumento en la liberación de feromona, oviposición y orientación en vuelo de hembras, y también incrementó el porcentaje de llamado en hembras vírgenes, su duración y número de huevos ovipositados. En otro estudio, Unnithan y Saxena (1990) estimularon la oviposición en una planta no

hospedante (maíz), de *Atherigona soccata* (Muscidae) que ataca los brotes del sorgo; para ello se aplicó un extracto de sorgo en acetona y se asperjó a las plantas de maíz.

En lepidópteros también se ha evaluado el supuesto de que existe un efecto sinérgico entre un volátil atrayente de hembras y la feromona sexual. Por ejemplo, con *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), sometieron los machos a distintos compuestos volátiles en una prueba de electroantenograma y mostraron respuestas similares a la feromona (Malo *et al.* 2002). Las mayores respuestas se obtuvieron para el hexan-1-ol, (Z)-9-tetradecenil acetato, hexanal, y (Z)-3-hexen-1-ol. Los autores suponían que podía existir un sinérgico entre estas sustancias y la feromona, por lo que evaluaron en el campo la mezcla de ambas, utilizando trampas modelo Scentry. Sin embargo, no hubo diferencias con el testigo en la captura de machos, quedando demostrado que las sustancias volátiles no incrementan la atracción de esta especie hacia la feromona.

Un estudio similar se realizó en experimentos de laboratorio, donde la atracción de machos de *Ips typographus* a una fuente de feromona sintética fue reducida cuando se le adicionó tres volátiles activos, el 1-hexanol, (Z)-3-hexen-1-ol y (E)-2-hexen-1-ol, todos alcoholes, mas la feromona de antiagregación “verbenona” (Zhang *et al.* 1999, Hubber y Borden 2001).

Las sustancias volátiles también pueden funcionar como atrayentes de parasitoides, ya que muchos de ellos detectan las sustancias del hospedante de su presa y de esta forma se orientan hacia ellas. Otras veces la misma planta libera compuestos volátiles para defenderse contra insectos herbívoros. Van Poecke *et al.* (2001), encontraron que *Arabidopsis thaliana* libera volátiles que atraen a hembras parasitoides *Cotesia rubecula* hacia plantas infestadas por el herbívoro *Pieris rapae*. La planta libera una mezcla de volátiles, ya sea por daño mecánico o por herbivorismo, como el salicilato de metilo, que es liberado en grandes cantidades; el ácido jasmónico y el monoterpene myrcene son otros de los volátiles emitidos por esta planta cuando es dañada por larvas. Este atrayente de parasitoides o sustancias volátiles detectadas por el parasitoide, es emitido si el daño llega a ser muy prolongado.

James (2003), utilizó el salicilato de metilo sintético en pruebas de campo para atraer insectos benéficos, por lo cual asegura que esta sustancia tiene un potencial en atraer poblaciones de algunos depredadores, como *Chrysopa nigricornis*. Birkett *et al.* (2003)

encontraron que plantas de frijol atacadas por la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*, emiten altos niveles de cuatro sustancias volátiles: (Z)-3-hexen-1-ol, 4,8-dimetil-1,3,7-nonatriene, 3-octanone y una no identificada. En experimentos en un túnel de vuelo demostraron que la mezcla binaria de (Z)-3-hexen-1-ol y 3-octanona atrajeron mayormente al parasitoide *Encarsia formosa*, lo cual es una muestra mas de que el parasitoide utiliza sustancias volátiles del complejo planta-huésped como señales olfativas para localizar su hospedante.

Los compuestos volátiles extraídos de la parte floral de *Brassica napus* fueron probados en campo y resultó que algunos derivados de ácidos grasos actuaron como repelentes, al igual que 1-hexanol, como repelente o atrayente de *Meligethes aeneus* (Nitidulidae), dependiendo de su tasa de liberación (Smart y Bligh 2000). Bruce y Cork (2001) identificaron algunos compuestos en la flor de *Tagetes erecta* usando espectrometría de masas y cromatografía de gases, entre los que estaba benzaldehído que, al igual que los demás compuestos, mostraron fuertes respuestas en *Helicoverpa armigera* en pruebas de EAG.

Kettler *et al.* (2002), revelaron que benzaldehído es un fuerte repelente de *Drosophila* spp., principalmente las que se encuentran naturalmente, mas que las criadas en el laboratorio. Compuestos como el benzaldehído, cinamaldehído y eugenol, aislados de aceites esenciales de *Pogostemon parviflorus* (Labiatae), han sido reportados como repelentes de los coleópteros *Sitophilus oryzae* y *Bruchus chinensis* (Saxena y Koul 1982 citado por Jantan y Zaki 1998). Asimismo, Ojimekwe y Adler (2002), reportaron al cinamaldehído como un fuerte repelente contra insectos plagas de productos almacenados, mostrando un efecto insecticida de contacto en los gorgojos *Callosobruchus chinensis* (Bruchidae) y *Oryzaephilus surinamensis* (Cucujidae).

4.9 Componentes feromonales

Los insectos liberan y perciben olores que utilizan como señales en una variedad de complejos comportamientos sociales, como lo son el cortejo, el apareamiento y la oviposición. Los científicos y especialistas en manejo de plagas conocen acerca de este complejo sistema de comunicación llamado “feromonas”, y han logrado conocer la composición feromonal de algunas especies, formulándolas sintéticamente para uso en

control de plagas (Ward 2001). Es así como el uso de feromonas ya suele ser una práctica frecuente para el manejo de insectos plaga (Jutsum y Gordon 1989, Dent 1991).

Las sustancias volátiles han sido usadas para atraer insectos plagas desde largas distancias, capturándolos en un sitio para controlar a la plaga (Foster y Harris 1997). Uno de los más comunes es el uso de feromonas, ampliamente estudiado en el orden Lepidoptera (Arn *et al.* 1992).

Las feromonas tienen muchas funciones: pueden servir como feromona de agregación para agruparse en un mismo árbol, muy común en escarabajos de corteza; feromona de alarma como las que producen las abejas para defender la colonia; y la más estudiada es la feromona sexual utilizada para atraer el sexo opuesto y aparearse.

Las feromonas sexuales son sustancias volátiles que la hembra libera para atraer al macho, y son dispersadas como vapores por el viento. Normalmente están compuestas por varias sustancias, que aparecen en diferentes proporciones (Norin 2001). Estas pueden ser usadas para diferentes fines. En el campo, aplicando técnicas de trapeo masivo, es decir, colocar trampas en la parcela y capturar machos en grandes cantidades hasta mermar la población. También se usan para el monitoreo de las poblaciones de plagas, con lo que se pretende tener un valor estimado de la población en determinado periodo del año y saber cuándo la plaga alcanza o esta próxima a alcanzar los mayores niveles poblacionales y realizar aplicaciones de insecticidas solamente en esos periodos (Wall 1989, Bakke y Lie 1989, Campion *et al.* 1989).

Asimismo, la mayoría tienen el potencial para ser usadas como método de evasión del encuentro del insecto macho con la hembra. Este método ha resultado exitoso en varias especies de insectos, como por ejemplo *Pectinophora gossypiella* en algodón y en la mosca oriental de la fruta *Grapholita molesta* (Foster y Harris 1997).

Las feromonas de los Lepidopteros están entre los componentes activos mayormente conocidos (Ward 2001). Estas están constituidas por largas cadenas (C_{10} – C_8) de alcoholes, aldehídos, o ésteres saturados o insaturados, y la señal activa es usualmente una mezcla de constituyentes que tiene una composición específica (Norin 2001).

Dentro del orden Lepidoptera, existen familias de las que ya se conoce la composición de sus feromonas y las glándulas que las producen (Percy y Weatherston 1971, citado en Macías 2001). Por ejemplo, algunas contienen ciertos compuestos comunes a los de *H. grandella*. Teal *et al.* (1995) identificaron los compuestos feromonales de *Plodia interpunctella* (Pyralidae), Z9-E12-14Ac y Z9-E12-14OH, siendo Z9-E12-14Ac el principal componente de esta especie; también encontraron a Z9-E12-14Al el cual es un aldehído que se obtuvo de la glándula feromonal de la hembra y también de sustancias volátiles emitidos por la hembra en posición de llamado.

Sin embargo, al utilizar compuestos feromonales para atraer machos de determinada especie, es necesario conocer cuál es el compuesto o la combinación de compuestos que ejercen una mayor atracción en los machos, con el fin de que se obtengan mayores capturas. Esto es demostrado por muchos investigadores con especies de Lepidoptera.

Davis *et al.* (1993) realizaron pruebas de campo para capturar en trampas con feromonas a machos de *Hulstia undulatella* (Pyralidae). Se obtuvo que las trampas con un solo compuesto, el Z9-14Ac produjo algunas capturas, y al adicionársele el Z9-14OH no hubo incrementos en éstas, pero al agregarle el Z11-16Ac esta combinación binaria anuló las capturas. Sin embargo, al mezclar los tres compuestos las capturas se incrementaron en siete veces. Finalmente, se determinó que la combinación correcta para el monitoreo es una septa que contenga: Z9-14Ac (200 µg) + Z9-14OH (16 µg) + Z11-16Ac (42 µg).

De igual manera, experimentos con *Dioryctria resinosilla* (Pyralidae) demostraron que éstas tienen una combinación exacta en su composición feromonal. A diferencia de las otras especies de *Dioryctria* spp., que tienen como componente principal a Z9-14Ac, en la especie *D. resinosilla* el componente principal es Z9-14OH pero este compuesto por sí solo no es un fuerte atrayente, pero sí lo es al combinársele con Z9-14Ac y Z9-12Ac. Se determinó que Z9-14OH no tiene efecto en las trampas sin la presencia de Z9-12Ac, un compuesto no confirmado en extractos de hembras de esta especie, pero sí en las otras especies de *Dioryctria* (Grant *et al.* 1993). También en *Dioryctria* spp. es importante la dosis de los dispositivos atrayentes (Grant 1991).

Huang *et al.* (1998) encontraron que en *Ostrinia zaguliaevi* (Pyralidae) los machos eran atraídos por la mezcla terciaria de sus compuestos feromonales: Z9-14OAc, E11-14OAc, Z11-14OAc y 14OAc. En realidad, los tres primeros compuestos son los más importantes

y se demostró en experimentos de túnel de vuelo que al remover tan solo un compuesto de la mezcla terciaria, era suficiente para que los machos no respondieran al olor.

En *Heliothis subflexa*, los machos no fueron atraídos a combinaciones en las cuales faltó el Z9-16Ald o el Z11-16OH. Sin embargo, respondían a mezclas donde tan solo se colocara 1 ng o más del Z11-16OH, lo cual indica que son muy sensibles a este compuesto (Vickers 2002). Ellos concluyeron que los tres compuestos son necesarios para producir la atracción de los machos.

Entre tantas experiencias podemos mencionar a Moura *et al.* (1998), quienes utilizaron trampas con feromonas para capturar a *Rhynchophorus palmarum* (Curculionidae). Ellos las evaluaron de dos formas: feromona sola, o trampas con feromona + un insecticida de contacto (furadan), asperjado en trozos de caña de azúcar. En ambos casos capturaron machos, pero el mayor número se obtuvo en feromona + insecticida, pues allí quedaban los machos que morían por acción del insecticida.

Al utilizar feromonas como técnica de control o monitoreo en una plantación, es necesario tener presente que la feromona sea dispersada por el viento y las distancias sobre el cual estas feromonas sean efectivas depende de la velocidad y dirección del viento, humedad relativa y temperatura, entre otros factores meteorológicos (Norin 2001). También es importante considerar que el diseño de la trampa sea adecuada a la especie en estudio.

Algunas trampas permiten una mejor dispersión de la feromona en todas direcciones, y puede ser percibida con mayor facilidad por los machos. Rocchini *et al.* (2003) evaluaron en el campo dos diseños de trampas, así como varias dosis de la feromona, a fin de encontrar la mas indicada para *Synanthedon novaroensis* (Sesiidae). Evaluaron los modelos Unitrap y Wingtrap, con las cuales no se encontró diferencias significativas en las capturas. Al evaluar las dosis resultó que en ambos diseños de trampas con diferentes dosis (50, 100 o 200 μg) no se encontró diferencias en las capturas, pero al colocar en una trampa cuatro septas con 200 μg del mismo compuesto (800 μg en total), se obtuvo un incremento en las capturas de machos mucho mayor a cuando se colocaron dos septas (400 μg en total). Por lo tanto, para el monitoreo es necesario utilizar la cantidad suficiente para causar una fuerte respuesta en el macho, sin excederse en atrayentes en el área.

De igual manera, Malo *et al.* (2001) evaluaron en campo varios diseños de trampas y también varios tipos de dispensadores de distintas casas comerciales para capturar machos de *Spodoptera frugiperda*. Ellos encontraron que la trampa Scentry capturó mejor con los atrayentes formulados por ChemTica, y las trampas Delta obtuvieron mayores capturas con los cebos de ChemTica y dos casas comerciales más.

De cualquier forma, se debe tener el debido cuidado a trabajar con los componentes feromonales, ya que estos pueden variar en su atracción entre especies de distintas poblaciones. Monti *et al.* (1995) observaron esta reacción en *Spodoptera latifascia* y *S. descoinsi*, que son especies afines y simpátricas en áreas limitadas en la Guayana Francesa. Ellas tenían el mismo componente principal y los mismos componentes feromonales, y la única diferencia era que variaban en la proporción de un compuesto Z9-E12-14Ac. En los machos no se encontró diferencias morfológicas ni fisiológicas de sus receptores feromonales, e incluso en sus antenas los receptores fueron identificados para Z9-14Ac y Z9-E12-14Ac, pero no para los demás componentes. Se observó en un túnel de vuelo que las mezclas binarias de estos dos compuestos, dieron las mayores respuestas en ambas especies, aunque en el campo hubo diferencias en la atracción de los machos de ambas especies.

Aun cuando Quero *et al.* (1996) determinaron que *S. littoralis* (Noctuidae) tiene seis componentes feromonales, el Z9-11E-14Ac es el que causa las mayores respuestas en el comportamiento de los machos, mientras que los restantes son componentes menores. En la antena del insecto se encontraron dos tipos de sensillas fisiológicamente importantes. La sensilla más común contenía una neurona que respondió específicamente al componente 1, y la otra sensilla tenía dos receptores neuronales que respondían al componente 6 (Z9-14OH). No se encontraron neuronas sensoriales para los componentes 2, 3, 5, y para el 4 se encontró una sensilla menor.

También ocurrió con esta especie que en África se le encontró que su feromona estaba compuesta por los componentes 1, 2, 3 y 4, mientras que en Israel era 1, 2, 3, 5 y 6; pero en Kenya solo la mezcla de 1 y 6; y en Egipto se encontraron los componentes 1, 2, 3 y 4 pero en proporciones diferentes. En España y Francia se encontraron los cinco componentes pero no el sexto.

Se realizaron mezclas binarias, combinándose cada componente con el componente principal (1), y también se aumentó la dosis (100, 500 y 1000 µg), aunque siempre se

mantuvo la proporción de los compuestos como en la naturaleza. De estas mezclas, la combinación 1+3 fue la que presentó los más altos valores en atracción de los machos. Hubo combinaciones en las que al aumentar la dosis (1000) se inhibieron las respuestas de los machos. La mezcla de 1+6 fue ineficaz, pero al realizar mezclas terciarias resultó un aumento en la atracción de los machos hacia la fuente con las mezclas de 1+2+3 y 1+2+3+5, en proporciones diferentes.

En el caso de *Hypsipyla* spp., Holsten (1977) realizó ensayos con genitales maceradas de las hembras de *H. grandella* y con lavados corporales en éter dietílico, obteniendo respuestas de los machos, como el acercamiento a la fuente y el intento de cópula.

Bosson y Gallois (1982) identificaron tres componentes en *H. robusta*. Borek *et al.* (1991) reportaron tres compuestos volátiles de la glándula sexual de *H. grandella*, los cuales fueron: [Z,E]-9,12 tetradecadien-1-ol (Z9-E12-14OH), acetato de hexadecanilo (16Ac) y acetato de [Z]-3-hexadecenilo (Z3-16Ac). Sin efectuar pruebas que evaluaran su actividad, ninguno de estos compuestos es similar al de *H. robusta*. Sin embargo, uno de los componentes de *H. grandella* es el alcohol correspondiente a Z9-E12-tetradecadienyl acetato, el cual es el mayor componente en *H. robusta*.

Posteriormente Effraim (1997) determinó dos compuestos más, mediante la comparación de tiempos de retención, identificando como antenalmente activos al Z9-E12-14OH, Z9-tetradecen-1-ol (Z9-14OH) y acetato de Z9-E12-tetradecadienilo (Z9-E12-14Ac). Este tampoco realizó pruebas en campo para evaluar su eficacia. Recientemente, Hilje *et al.* (2002) obtuvieron extractos abdominales de hembras vírgenes, los cuales fueron probados en estudios de electroantenograma (EAD). Las extracciones se efectuaron 8 h después de iniciada la escotofase, durante 3 h, identificando la presencia de tres de estos compuestos, mas uno adicional: Z9-E12-14OH, Z9-14OH, Z9-E12-14Ac y Z9-14Ac. También encontraron un compuesto que difiere entre la *H. grandella* de Costa Rica y México: acetato de dodecenilo monoinsaturado E/Zx-12Ac (Costa Rica) y E11-16Ac (México); este último únicamente apareció en emanaciones volátiles de 12 hembras vírgenes de dos días de nacidas. Un compuesto estuvo ausente en los insectos de México, el Z9-E12-14OH. En México se realizaron experimentos de campo con estos compuestos y se encontró que la mayor atracción se obtuvo con Z9-E12-14Ac, y que ésta fue mayor al combinarse con Z9-14Ac.

Como dato adicional podemos mencionar que en el Viejo Mundo *H. robusta* presenta los siguientes compuestos: Z9-E12-12Ac, Z9-tetradecen-1-ol y Z11-hexadecen-1-ol acetato (Bosson y Gallois 1982). Estos mismos autores aseguran que al mezclar el primer y segundo compuestos a una proporción de 7:3, se obtuvo atracción de los machos e incluso hasta expusieron su genitalia, listos para copular. Sin embargo cuando se aumentó la proporción del segundo compuesto, no hubo cambios en la intensidad de atracción o en el comportamiento de los machos. Esto nos indica que existe una determinada cantidad para cada compuesto que es la indicada para atraer los machos de esta especie, y muy posiblemente en otra especie esta misma composición necesite tener otras proporciones para estimular la respuesta del macho. Esto ocurre con *H. grandella* ya que algunos de sus compuestos son muy comunes en otras especies de insectos, e incluso de su misma familia.

En el caso particular de *H. grandella*, se conoce que su pico poblacional en Turrialba se presenta cada 1881 grados-día (Taveras 1999), pero cada año puede tener una pequeña variación para completar este valor. Por ello, el uso de trampas de feromonas, ya sea mediante la técnica de confusión sexual o con el trampeo masivo durante las etapas iniciales de la población, podría colaborar a evitar su establecimiento en la plantación. Un dato importante es que este procedimiento solo se necesitaría realizar durante los primeros 5-8 años (según el área geográfica) cuando la plantación es más susceptible al ataque (Cibrián *et al.* 1995).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 LOCALIZACIÓN

Los experimentos con repelentes se realizaron en el Laboratorio de Entomología de la Unidad de Fitoprotección, así como en una parcela de cedro (*C. odorata*), en los predios del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba, Costa Rica. Este lugar está a 9°52'N y 83°38'O y 640 msnm, en la zona de bosque húmedo premontano (Tosi 1969), donde las variables climáticas son de 22°C, 2479 mm, 87% HR y 11,82 uJ/m², en promedio (Jiménez 1994).

La parcela de cedro, ubicada en un sitio muy plano en la estación experimental La Montaña (Apéndice 1), se estableció en 1999, como parte del proyecto “Domesticación de caoba y cedro español en Mesoamérica: colección de germoplasma, selección genética y desarrollo de técnicas para plantaciones silviculturales” (USDA-CATIE). La parcela está conformada de 345 árboles de caoba provenientes de México, Guatemala, Honduras, Costa Rica y Panamá, a un distanciamiento de 6 x 7 m (bloque 6) y 3 x 6 m (bloque 7 y 8). Los mismos están plantados entre las hileras de un cafetal en el que hay árboles de sombra de poró (*Erythrina poeppigiana*). Al efectuarse este estudio, el café estaba recién podado, y los árboles de cedro tenían alturas comprendidas entre 1.6 y 7 m.

Por su parte, el experimento con feromonas se realizó también en la estación experimental La Montaña, pero en una parcela de caoba (*S. macrophylla*), establecida en el 2001 (Apéndice 2), como parte del proyecto “Colección de germoplasma de *Swietenia macrophylla* en Sur América” (USDA-CATIE). Los 690 árboles de caoba (de distintas proveniencias de Bolivia) también estaban intercalados entre café (1 x 2 m) y poró (6 x 12 m), estos alcanzaban alturas comprendidas entre 1.7 y 3 m.

5.2 COMPUESTOS EVALUADOS

5.2.1 Repelentes

Se evaluó la posible actividad repelente de nueve sustancias puras en el campo, de las cuales las cuatro más promisorias se evaluaron en condiciones de laboratorio. Estos

compuestos fueron manufacturadas en los laboratorios de la empresa ChemTica International (Costa Rica), y formuladas como productos de liberación controlada. Estos consistieron en una bolsita de membrana plástica permeable (Fig. 1), que contenía 1 mg de la sustancia, con una tasa de liberación de 10^3 nm/min y un grado de pureza del 97-99%. Para los experimentos de campo y laboratorio, se utilizó el mismo diseño del dispensador, dependiendo de cada sustancia.

Las sustancias evaluadas fueron tres alcoholes (alcohol bencílico, 1-hexanol y lavándula), tres aldehídos (benzaldehído, cinamaldehído y perialdehído) y tres sustancias de otros grupos químicos: verbenona (cetona), eugenol (éter) y salicilato de metilo (éster). Sus abreviaturas corresponden a **Alco**, **1-hex**, **Lava**, **Benz**, **Cina**, **Peri**, **Verb**, **Euge** y **Sali**, respectivamente.

5.2.2 Feromonas

Se evaluaron las combinaciones binarias de cuatro sustancias, totalmente puras, que son componentes de la feromona sexual de *H. grandella* (Borek *et al.* 1991, Effraim 1997), algunas de las cuales incluso habían dado resultados positivos en México (Hilje *et al.* 2002). Dichas sustancias fueron: (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol acetato (**Z9-E12-14Ac**); (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol (**Z9-E12-14OH**); (Z)-9-tetradecen-1-ol acetato (**Z9-14Ac**); y (Z)-9-tetradecen-1-ol (**Z9-14OH**).

Las combinaciones fueron manufacturadas por ChemTica International y formuladas en una sepa blanca de hule (Fig. 3), en una proporción de 1:1, con una tasa de liberación de 30000nm/día. Las combinaciones binarias evaluadas fueron las siguientes:

Z9-14Ac : Z9-14OH

Z9-E12-14Ac : Z9-14Ac

Z9-E12-14Ac : Z9-14OH

Z9-14Ac : Z9-E12-14OH

Z9-14OH : Z9-E12-14OH

Z9-E12-14Ac : Z9-E12-14OH



Fig. 1. Dispensador de membrana plástica, manufacturada por ChemTica Inc., conteniendo una de las sustancias puras evaluadas.



Fig. 2. Septa de hule (en el ángulo inferior izquierdo) con la combinación binaria de los compuestos feromonales de *H. grandella*., así como empaques herméticos en que se mantuvieron los compuestos.

5.3 EXPERIMENTOS CON REPELENTES

5.3.1 Campo

Se efectuaron dos experimentos en el campo, con una duración de dos meses cada uno, ya que la vida media de los repelentes es de 78 semanas (Lilliana González 2003, ChemTica International, com. pers.). El primero se realizó en mayo-julio y el segundo en julio-septiembre, cuando se presentan adecuados niveles poblacionales de *H. grandella* en Turrialba (Taveras 1999), como para efectuar las evaluaciones. En ambos casos se verificó que hubiera daño reciente y abundante de esta plaga.

Los tratamientos consistieron en cada una de las nueve sustancias, más un testigo (brote sin tratar), y de cada uno se realizaron cuatro repeticiones. El arreglo espacial fue de un diseño irrestricto al azar, con una significancia del 95%. Para ello, se eligieron al azar 40 árboles de cedro y en cada uno se seleccionó un brote tierno y sano (debido a la presencia de la plaga, era común que hubiera brotes dañados en el mismo árbol) en donde se colocó el dispensador con la sustancia y en los brotes testigos una marca (Fig. 3). Los tratamientos estuvieron espaciados entre sí por al menos 10 m.

Se efectuaron evaluaciones semanalmente, y la variable de respuesta fue la presencia o ausencia del daño (Fig. 4).

Se aplicaron tres diferentes pruebas para comparar tratamientos y procedencias, una prueba paramétrica y dos no paramétricas, las cuales son: Análisis de varianza (ANDEVA), Kruskal-Wallis y Chi cuadrado. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute 2001).

El modelo estadístico utilizado para el ANDEVA fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Variable dependiente

μ = Media general de los tratamientos

T_j = Efecto del j -ésimo tratamiento (sustancias)

e_{ij} = Error experimental



Fig. 3. Brote tratado con el dispensador de la sustancia evaluada (izquierda) y brote testigo (derecha).



Fig. 4. Procedimiento para la evaluación semanal de los brotes de cedro en el experimento con repelentes.

5.3.2 Laboratorio

Adultos de *H. grandella*. Los adultos se obtuvieron de una colonia mantenida en el Laboratorio de Entomología. Para desarrollar la colonia, los dos primeros instares larvales se alimentaron con hojas tiernas de árboles de cedro (*C. odorata*), y posteriormente con dieta artificial (Vargas *et al.* 2001), dentro de frascos de vidrio de 30 ml. Las larvas se mantuvieron en una cámara bioclimática (Percival I35L), a 25°C y un fotoperíodo de 8L:16O, hasta que alcanzaron el estado de pupa (Fig. 5). Las pupas se transfirieron a jaulas de malín (55 x 50 x 45 cm), las cuales se colgaron dentro de un invernadero para que, al emerger, ocurriera la cópula (Fig. 6). Las hembras depositaron los huevos en las paredes de las jaulas, de donde se recogieron cada tres días y se llevaron al laboratorio, para colocarlos en cajas plásticas que contenían follaje de cedro.

Manipulación de parejas de adultos. Las pupas fueron tomadas de la cámara de cría, se sexaron (Hidalgo-Salvatierra 1971) y se colocaron por separado (una para cada sexo) en dos jaulas de malín (55 x 50 x 45 cm) colgadas en el invernadero (Fig. 7). Una vez que los adultos emergieron, se transfirieron a una jaula de cópula (también de malín), donde permanecieron por dos noches, para garantizar la cópula (Samaniego y Sterringa 1976); en la jaula de cópula se trató de tener seis parejas de adultos, como mínimo. Posteriormente las hembras grávidas y los machos se transfirieron al túnel de vuelo, para realizar los experimentos.

Túnel de vuelo. Para determinar la posible repelencia de las sustancias evaluadas, se efectuó un tamizado en un túnel de vuelo (Miller y Roelofs 1977) (Fig. 8). Este permite la liberación de olores mediante flujos de aire en movimiento, lo cual posibilita estudiar el comportamiento de selección de hospedantes por parte de un insecto (Eigenbrode y Bernays 1997).

El túnel utilizado consiste en una cámara rectangular transparente de vidrio, de 2 x 1 x 1 m, en cuya parte superior hay dos hileras de bombillos de color rojo (para no perturbar a los insectos mientras se efectúan las observaciones), de 25 watts cada uno, y de los cuales para los ensayos se mantuvieron solamente dos bombillos encendidos (Fig. 9). En uno de sus lados la cámara tiene unas puertas de vidrio, lo cual facilita la manipulación de los insectos. Ésta también tiene malla en los extremos superior e inferior. En el extremo inferior del túnel, se encuentra el extractor de flujo de aire (Modelo S&P TD-500/150)



Fig. 5. Cámaras bioclimáticas utilizadas para el desarrollo de las larvas y las pupas de *H. grandella* en el Laboratorio de Entomología del CATIE.



Fig. 6. Jaula de malín para la cópula y oviposición de los adultos de *H. grandella*, mantenida en el invernadero de Entomología del CATIE.



Fig. 7. Jaulas de malín individuales para hembras (izquierda) y machos (derecha) en las que se colocaron las pupas sexadas para que emergieran los adultos, para luego transferirlos a la jaula de cópula.

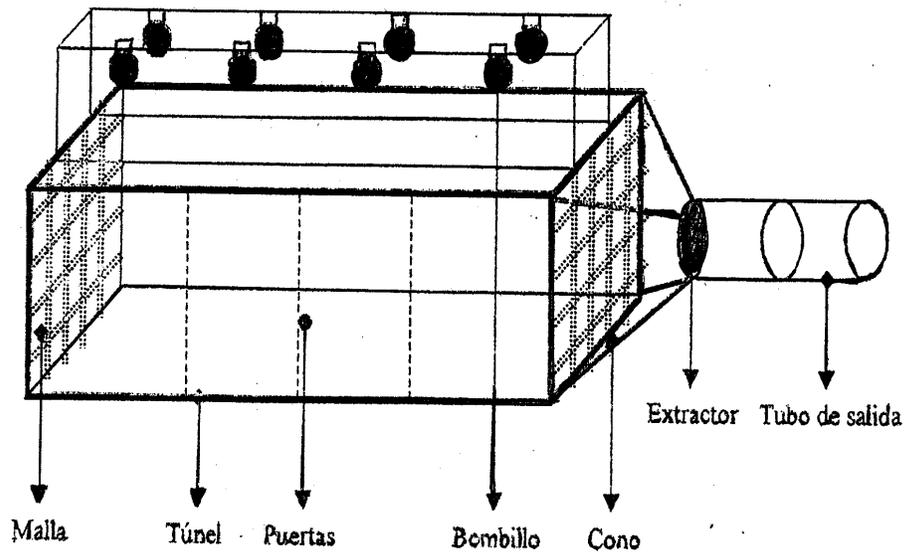


Fig. 8. Esquema del túnel de vuelo utilizado en los experimentos (Miller y Roelofs 1977).

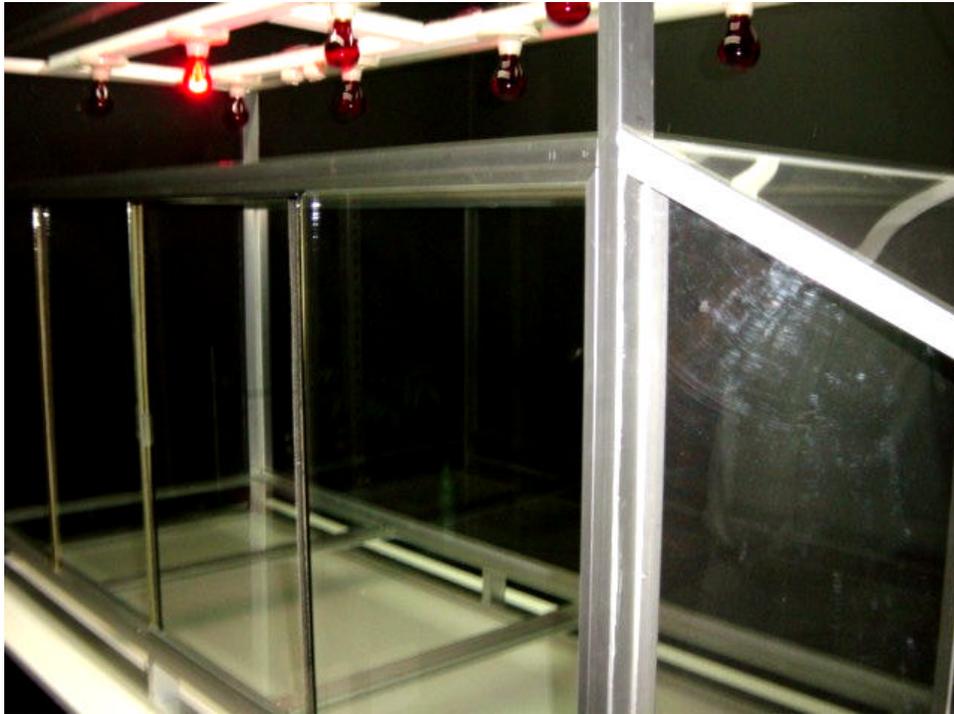


Fig. 9. Vista del extremo superior del túnel de vuelo, mostrando los bombillos rojos en la parte superior y las puertas laterales.

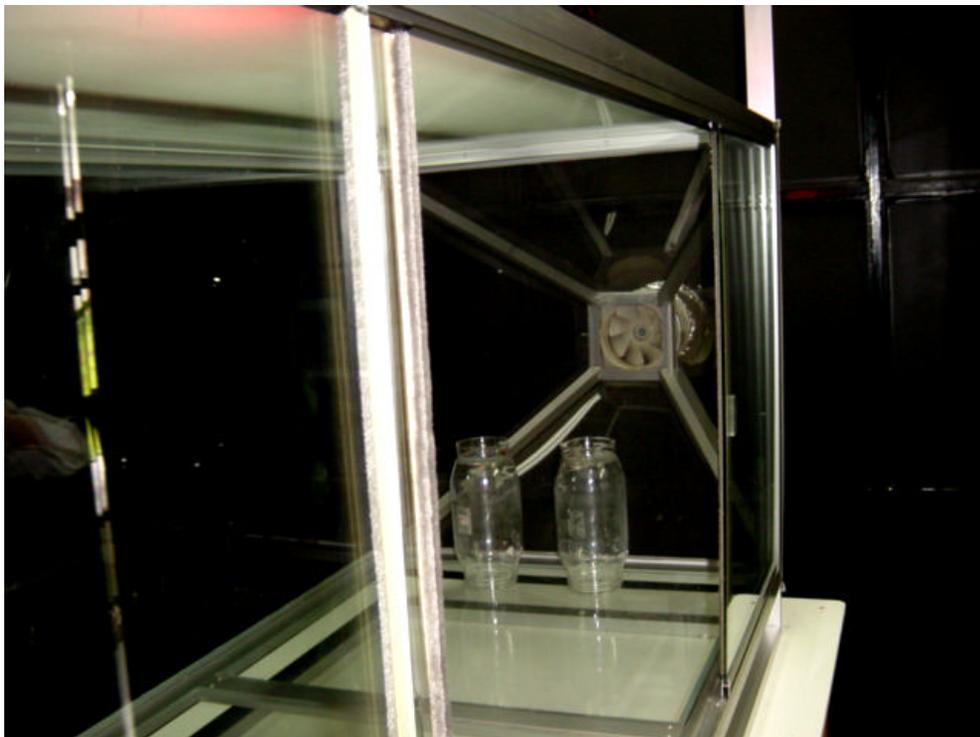


Fig. 10. Vista del extremo inferior del túnel de vuelo, mostrando el extractor que genera la corriente de aire y las cajas petri con los adultos.

(Fig. 10). La velocidad del viento se mantuvo a $14\text{m}^3/60\text{seg}$. Para alcanzar la oscuridad total, la habitación donde está el túnel se pintó de negro, tanto en sus paredes (para evitar el reflejo de la luz roja) como ventanas (para evitar el ingreso de luz desde el exterior). Se mantuvo sujeto al mismo fotoperíodo de la cámara bioclimática (8L:16O). En ambos, el período de oscuridad (escotofase) inició a las 17.00 h y concluyó a las 09.00 h del día siguiente. Para simular los períodos de luz (fotofase) dentro del cuarto, en el techo había cuatro tubos fluorescentes blancos, los cuales se encendían durante 8 h.

Experimentos en el túnel de vuelo. Para evaluar la importancia de los olores en la orientación y aterrizaje de las hembras de *H. grandella* sobre la planta de cedro (con o sin repelente), se utilizó la metodología convencional (Haynes y Baker 1989), levemente modificada.

En el extremo del túnel cercano al extractor de aire se colocaron al menos seis parejas de adultos, previamente apareados en la jaula de cópula. En el otro extremo se colocó una plántula de cedro de 15-16 cm de altura, y se trató de que todas tuvieran la misma simetría del follaje. Tenían 3-4 meses de edad y crecieron en un invernadero con luz natural, donde fueron fertilizadas cada 15 días con la mezcla 12:24:12 (N-P-K). Sobre cada planta se colocó un marco de metal de 43,2 X 30,5 cm, y sobre éste una malla blanca de malín, para que las hembras ovipositaran sobre ésta. El marco evitaba que las hojas hicieran contacto con la malla donde las hembras ovipositaron, facilitando también el recuento de los huevos.

Los adultos se liberaron en una caja de de petri colocada sobre un pedestal, a la misma altura del brote principal de la plántula (aproximadamente a 14 cm de altura del piso) para que recibieran directamente el rastro del olor formado por la corriente de aire generada por el extractor (Fig. 10). Previamente, para determinar la mejor altura del dispensador con la sustancia a evaluar en relación con el pedestal, se introdujo en el túnel un cigarrillo, para que su humo indicara el posible rastro de la sustancia volátil (Fadamiro 1996).

El tratamiento testigo consistió en colocar solamente la plántula de cedro (cubierta con la malla), sin ninguna sustancia, para determinar el grado de atracción ejercido sobre las hembras grávidas por los compuestos volátiles emanados del brote principal (Maia *et al.* 2000).

Por su parte, cada uno de los demás tratamientos consistió en colgar del brote principal el dispensador de liberación controlada conteniendo cada una de las sustancias (Fig. 11).

Cabe señalar que los insectos y la plántula de cedro fueron diferentes para cada repetición. Los dispensadores sí fueron reutilizados, pero se alternaron entre experimentos, de modo que se utilizaban en un experimento y se refrigeraban por varios días (debidamente sellados) hasta el próximo experimento.

Después de cada experimento el túnel se limpió con alcohol al 95%, para eliminar de las paredes cualesquiera olores presentes, así como residuos de los insectos. Además, sus puertas permanecieron abiertas por 8 h, para ventilarlo de inmediato después de transcurridas las 64 h de cada experimento.

Se utilizó un diseño estadístico irrestricto al azar. Cada tratamiento se repitió cuatro veces, y cada repetición tuvo una duración de 64 h. Las variables de respuesta fueron: **a)** el número de huevos fértiles depositados en la malla hasta las 64 h; y **b)** el número de adultos posados sobre ésta, en varios períodos de observación a partir de iniciado el experimento.

Los períodos de observación comprendieron las 12, 14, 16, 36, 38, 40, 60, 62 y 64 h a partir de iniciado el experimento, efectuándose tres observaciones diarias (cada dos horas, a las 12, 14 y 16 h después de la cero lux) durante tres días consecutivos. Dichos períodos eran de oscuridad total. El recuento de adultos posados sobre la malla se realizó a las 05.00, 07.00 y 09.00 h, de acuerdo a la inversión del fotoperíodo.

Se registraron la temperatura y la humedad relativa mediante un higrotermógrafo manual, lo cual se hizo a las 1, 12, 14, 16, 20, 24, 36, 38, 40, 44, 48, 60, 62, 64 h de iniciado cada experimento.

Se realizó un análisis de varianza, mediante el paquete estadístico SAS (SAS Institute 2001). Las medias se compararon mediante una prueba de Duncan, con un nivel de significancia del 95%.



Fig. 11. Planta de cedro (tratada) protegida por una malla de malín para facilitar el recuento de los huevos depositados y de los adultos posados.

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Variable dependiente

μ = Media general de los tratamientos

T_j = Efecto del i -ésimo tratamiento (sustancias)

e_{ij} = Error experimental

Para la variable **huevos/hembra**, se aplicó una prueba de Shapiro-Wilks y una prueba de Levene, que identificaron falta de normalidad y homogeneidad de varianzas en los datos. Por lo tanto, se realizó una transformación para estabilizar las varianzas, consistente en la división de cada valor observado (huevos/hembra) entre la desviación estándar correspondiente a su tratamiento. Finalmente, se realizó una prueba de Duncan para determinar las diferencias entre medias.

Para la variable **adultos posados en la malla** que cubre la planta, se realizó un ANDEVA para medidas repetidas en el tiempo bajo un diseño completamente aleatorizado. Finalmente, se aplicó una prueba de Fisher para determinar las diferencias entre medias.

5.4 EXPERIMENTOS CON FEROMONAS

Se efectuaron dos experimentos en el campo, con una duración de dos meses cada uno, ya que la vida media de las feromonas es de 7-8 semanas (Lilliana González 2003, ChemTica International, com. pers.). El primero se realizó en junio-julio y el segundo en agosto-septiembre, cuando se presentan adecuados niveles poblacionales de *H. grandella* en Turrialba (Taveras 1999), como para efectuar las evaluaciones. En ambos casos se verificó que hubiera daño reciente y abundante de esta plaga.

Los tratamientos consistieron en seis mezclas binarias de compuestos feromonales, más un testigo (trampa sin dispensador).

Cada tratamiento se colocó en una trampa, y las trampas estuvieron espaciadas entre sí por al menos 10 m. Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. Las trampas se colgaron de postes de plástico a 1,70 m del suelo, colocados entre las hileras de árboles de caoba.

Asimismo, se aprovechó para comparar la eficacia de trampas de dos tipos comerciales: Unitrap y Wing Trap. El modelo Unitrap (Fig.12) es un envase plástico verde oscuro, en el cual la feromona se coloca en la parte superior de la trampa y los machos caen en agua mezclada con detergente depositada en el fondo. La Wing Trap (Fig. 13) corresponde a dos partes de cartón blanco unidas por un alambre, en la cual la feromona se coloca en el centro de la trampa y los machos quedan adheridos a una capa de pegamento en el fondo de la parte inferior de la trampa.

Se realizó un análisis de varianza, mediante el paquete estadístico SAS (SAS Institute 2001). Las medias se compararon mediante una prueba de Duncan, con un nivel de significancia del 95%.

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Variable dependiente

μ = Media general de los tratamientos

T_j = Efecto del j -ésimo tratamiento (sustancias)

e_{ij} = Error experimental



Fig. 12. Evaluaciones en el campo de las trampas de feromonas modelo Unitrap.



Fig. 13. Evaluaciones en el campo de las trampas de feromonas modelo Wing Trap.

6. RESULTADOS

6.1 EVALUACIÓN DE REPELENTES EN EL CAMPO

En este estudio inicialmente se había establecido evaluar las sustancias en el túnel de vuelo y las que resultaran ser repelentes para las hembras de *H. grandella* posteriormente se someterían a evaluación en el campo. No obstante, se decidió invertir el orden para aprovechar que se aproximaban los meses en que se presenta el máximo pico poblacional de esta plaga en Turrialba. Por lo tanto, la primera fase de este estudio se efectuó en el campo, donde se evaluaron las nueve sustancias y la segunda fase se desarrolló en el laboratorio con las sustancias que mostraron resultados prometedores en el campo.

No obstante, debido al alto costo de formular estas sustancias en dispensadores, no se pudo contar con un número elevado y deseable de éstos para colocarlos en suficientes brotes, por lo que la evaluación incluyó apenas un solo brote por repetición, en el cual se registraba la presencia o ausencia de daño. Por tanto, el análisis de los resultados careció de sustento estadístico, ya que para evaluar una variable con tan solo dos oportunidades (que ocurra o no daño), sería necesario contar con suficientes repeticiones para estimar el error experimental, mejorar la precisión, controlar la varianza del error, etc. Por ello, con este análisis fue imposible determinar con certeza si al detectar que no hubo diferencias entre los tratamientos realmente ocurrió eso en realidad, o fue producto de la variación inherente. A continuación se realizará un análisis descriptivo paralelo al inferencial, a fin de explicar lo observado en campo.

En el primer experimento, los brotes tratados con estas sustancias fueron atacados por *H. grandella* en dos a tres de sus repeticiones, generalmente (Cuadro 1), excepto los del eugenol, que fueron atacados todos. Para cada uno de aquellos tratados con alcohol bencílico, 1-hexanol, lavándula, benzaldehído y salicilato de metilo, hubo dos brotes dañados, mientras que con el cinamaldehído, perialdehído, verbenona y el testigo hubo tres brotes atacados.

Al analizar los datos en conjunto (Fig. 14), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). Sin embargo, con el eugenol se obtuvo el 100% de daño, es

Cuadro 1. Número acumulativo de árboles de cedro dañados semanalmente en los brotes tratados con cada sustancia. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.

	Semana							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Alcohol bencílico	1	1	1	2	2	2	2	2
1-hexanol	0	1	1	1	1	2	2	2
Lavándula	1	1	1	1	1	1	1	2
Benzaldehído	0	0	1	2	2	2	2	2
Cinamaldehído	0	1	2	2	2	2	3	3
Perialdehído	1	2	2	3	3	3	3	3
Verbenona	0	1	2	2	3	3	3	3
Eugenol	1	3	3	4	4	4	4	4
Salicilato de metilo	0	0	0	0	1	1	2	2
Testigo	1	2	2	2	2	2	2	3

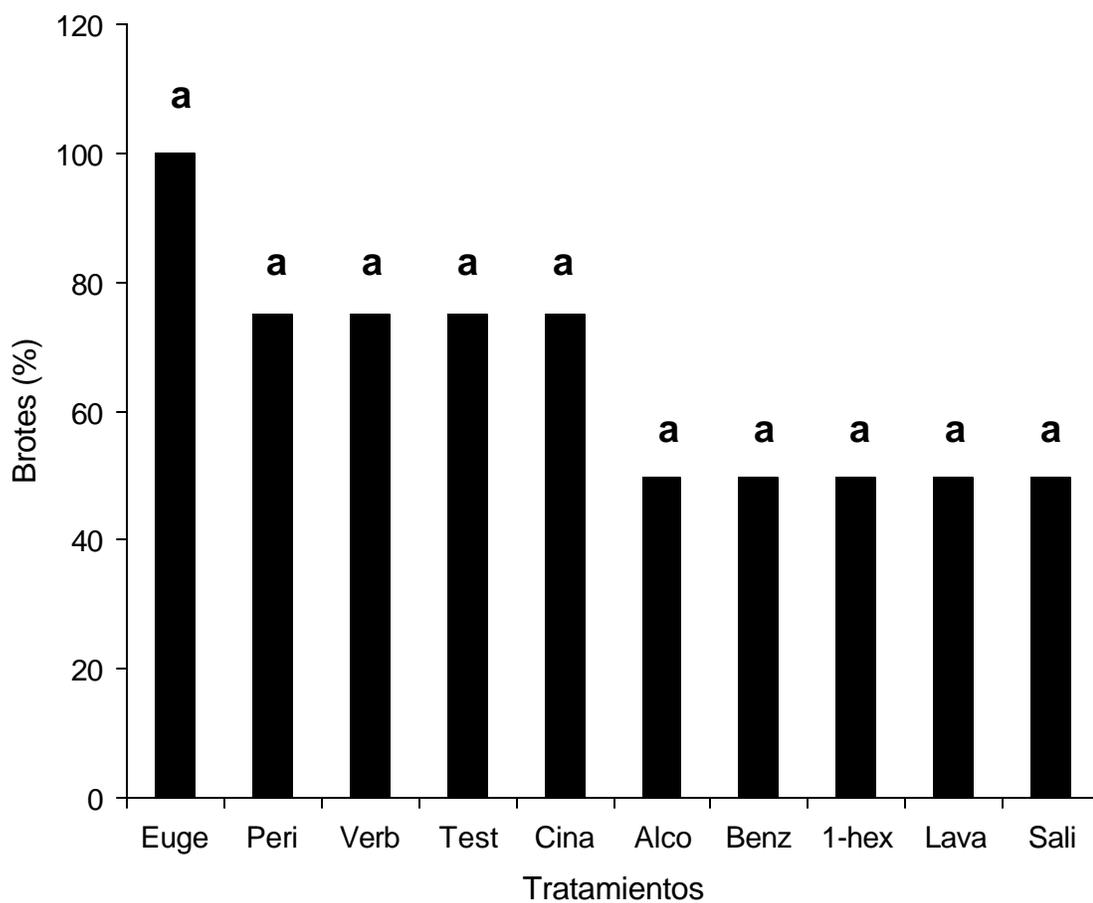


Fig. 14 Porcentaje acumulado del daño según el tratamiento. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

decir que todas sus repeticiones fueron atacadas por *H. grandella*. Fue seguido por un segundo grupo, constituido por el perialdehído, verbenona y el testigo (75% de daño), es decir, con daño en tres de las cuatro repeticiones. Con el resto de las sustancias se obtuvo un 50% de daño.

No obstante, desde el punto de vista práctico, no solo era importante el grado de ataque al final del experimento, sino también la forma en que éste progresó durante el experimento. Para facilitar su presentación, los datos fueron graficados según el grupo químico de las sustancias evaluadas.

De los alcoholes, en ninguno hubo más de dos brotes dañados durante el experimento, en contraste con el testigo, en el que desde la 1ª semana hubo daño, el cual ascendió a dos brotes durante las siguientes siete semanas, y en la última aumentó a tres (Fig. 15D). Entre ellos sobresalió la lavándula, pues hubo solamente un brote dañado durante las primeras siete semanas, el cual aumentó a dos en la última semana (Fig. 15A). Los otros dos alcoholes evaluados mostraron una tendencia parecida entre sí. En el alcohol bencílico, en las tres primeras semanas hubo apenas un brote dañado, en la 4ª aumentó a dos y así permaneció hasta el final (Fig. 15C), mientras que en el 1-hexanol en la 1ª semana no hubo daño pero sí en la 2ª, y se incrementó a dos en la 6ª semana y así permaneció (Fig. 15B).

Con los aldehídos, el máximo daño fue de tres brotes atacados, al igual que en el testigo (Fig. 16D), excepto para benzaldehído, que fue de dos solamente. En éste último, las dos primeras semanas no sufrió daño, sino hasta la 3ª y aumentó a dos en la 4ª, permaneciendo así hasta el final (Fig. 16C). Los otros dos aldehídos mostraron una tendencia más o menos parecida entre sí. Con el cinamaldehído en la 1ª semana no hubo daño, sino que éste se manifestó en la 2ª, para la 3ª se incrementó a dos brotes y hasta en la últimas dos semanas ascendió a tres brotes dañados (Fig. 16B). Por su parte, con el perialdehído hubo un ataque en la 1ª semana, que aumentó a dos en la 2ª y a tres a partir de la 4ª semana (Fig. 16A).

Dentro del grupo mixto, en un tratamiento el daño ascendió a cuatro brotes atacados, que fue el eugenol (Fig. 17A). Este fue atacado desde la 1ª semana, subió rápidamente a tres en la 2ª y a cuatro en la 4ª semana. Por el contrario, sobresalió el salicilato de metilo, pues no hubo daño durante las cuatro primeras semanas, sino hasta la 5ª,

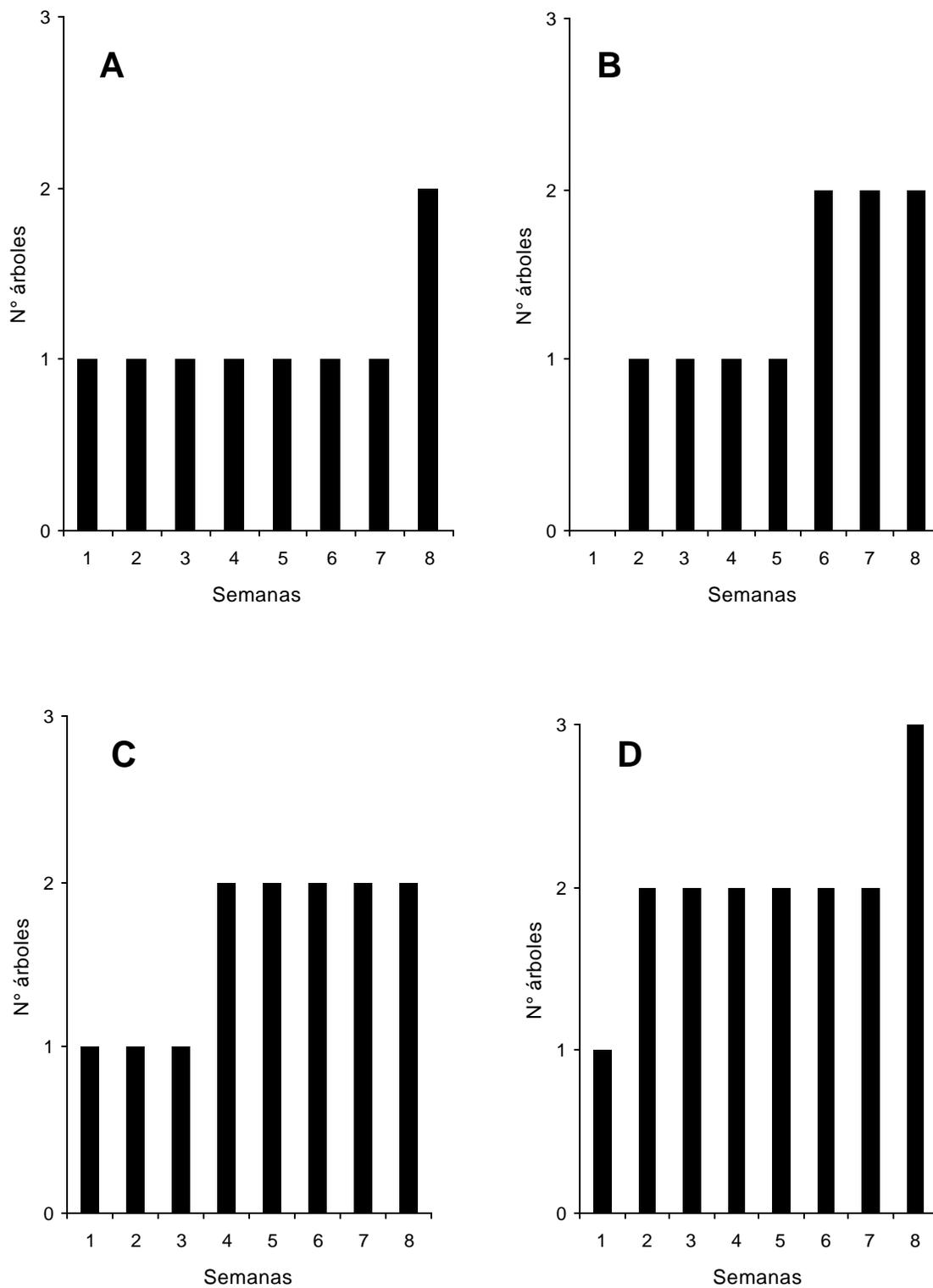


Fig. 15. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con alcoholes: lavándula (A), 1-hexanol (B), alcohol bencílico (C) y el testigo (D). Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.

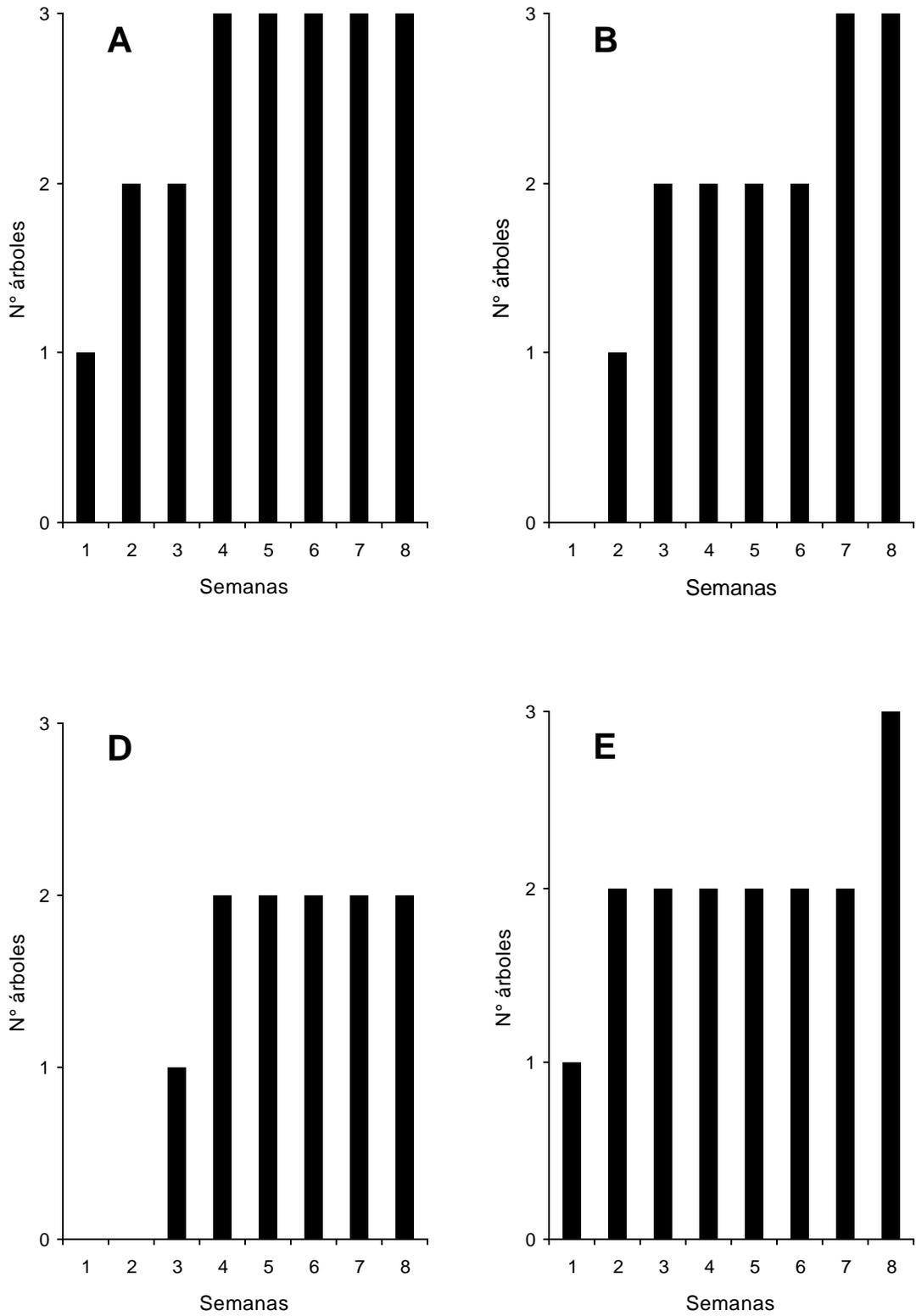


Fig. 16. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con aldehídos: perialdehído (A), cinamaldehído (B), benzaldehído (C) y el testigo (D). Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.

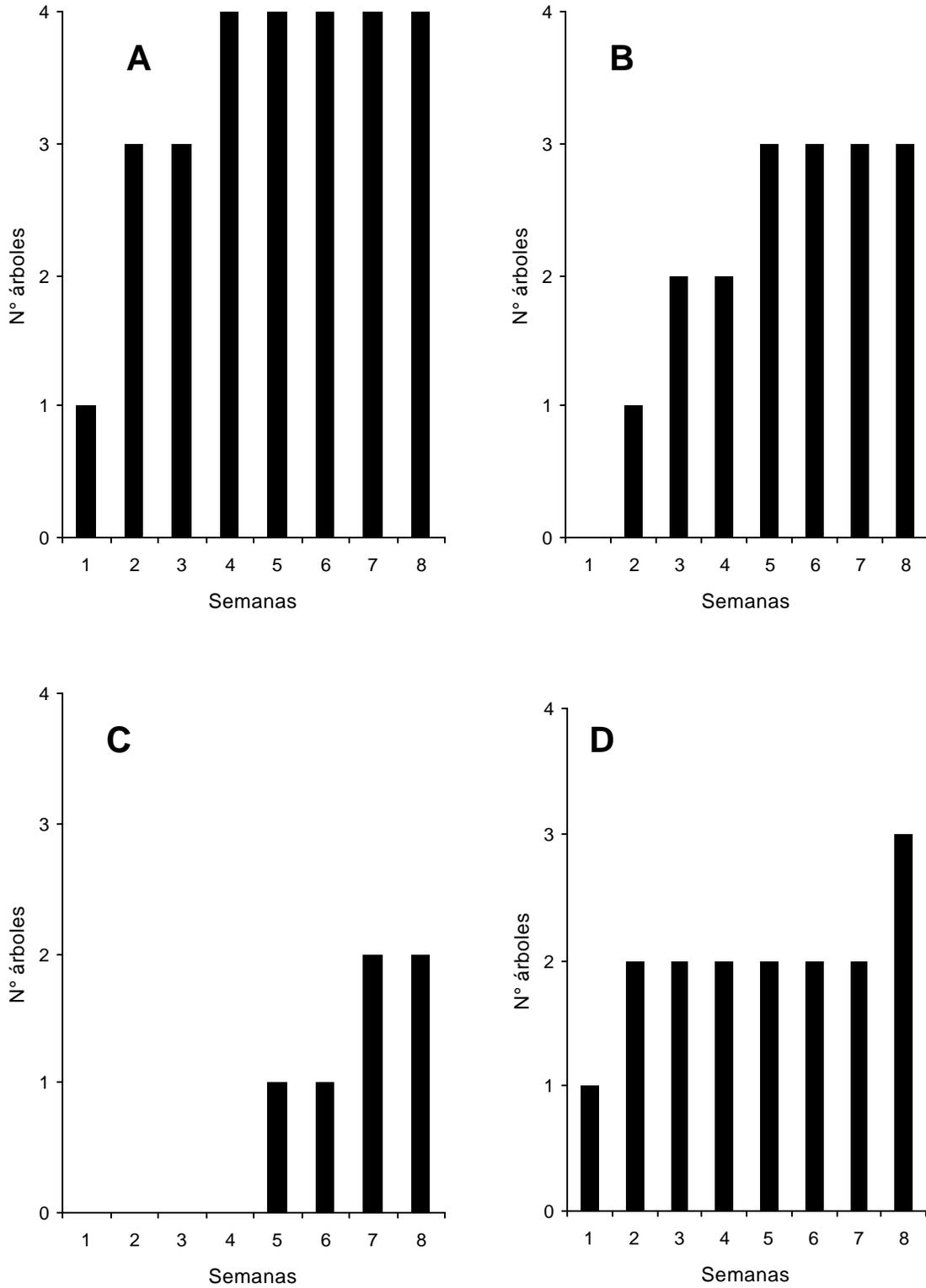


Fig. 17. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con otros grupos químicos: eugenol (A), verbenona (B), salicilato de metilo (C) y el testigo (D). Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.

alcanzándose un máximo de dos en la 7ª semana (Fig. 17C). Por su parte, con la verbenona no hubo ataque en la 1ª semana sino en la 2ª, y el daño ascendió a dos en la 3ª y a tres a partir de la 5ª semana (Fig. 17B).

Sin embargo, como la parcela estaba conformada por árboles de cedro de distintas procedencias y esto podría haber afectado la respuesta de la hembra de *H. grandella* al localizar cada brote y ovipositar, se analizó este factor de variabilidad adicional (Fig. 18). De los cinco árboles originarios de Costa Rica, todos fueron atacados (100%); no obstante, de los nueve de Honduras solo seis fueron atacados (67%); de los 11 de México fueron dañados seis (55%); de los 12 de Guatemala solo siete tuvieron daño (58%), y de los tres de Panamá, solamente uno lo mostró (33%). Al efectuar el análisis estadístico, no hubo diferencias entre procedencias ($P > 0,05$).

Al analizar este factor según el progreso semanal del daño a los brotes, se obtuvo que tan solo un árbol procedente de Panamá sufrió daño en la 2ª semana (Fig. 19E). En las procedencias de México y Costa Rica el daño aumentó de manera progresiva (Fig. 19A y D), mientras que para las procedencias de Guatemala y Honduras el daño se estabilizó en la 4ª y 5ª semanas, respectivamente (Fig. 19B, C).

En el segundo experimento, la frecuencia del ataque disminuyó en comparación con el primer experimento (Cuadro 2). El máximo daño fue de tres brotes atacados, pero en un solo caso (perialdehído), mientras que hubo tratamientos sin daño, como la lavándula y el eugenol. Hubo dos brotes dañados en los tratamientos con 1-hexanol, cinamaldehído, salicilato de metilo y el testigo, y apenas uno en aquellos con alcohol bencílico, benzaldehído y verbenona.

Al evaluar los datos en conjunto (Fig. 20), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0, 05$). En dos de los tratamientos (lavándula y eugenol) no hubo daño, mientras que con el perialdehído se alcanzó el 75% de daño, es decir, tres de sus repeticiones fueron atacadas por *H. grandella*. Fueron seguidos por un segundo grupo (cinamaldehído, 1-hexanol, salicilato de metilo y el testigo) con 50% de daño, es decir, con daño en dos de las cuatro repeticiones, y un tercer grupo (alcohol bencílico, benzaldehído y verbenona) con 25% de daño.

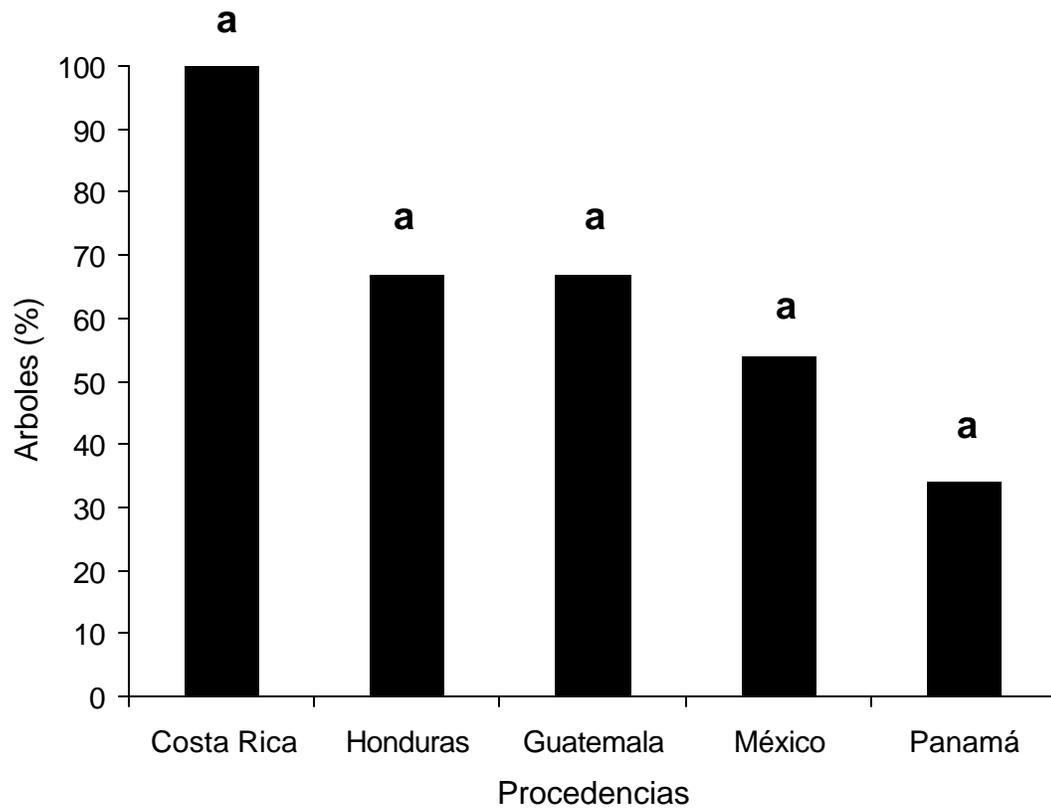


Fig. 18. Porcentaje total de árboles de cedro, de distintas procedencias, que fueron atacados por *H. grandella*. Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

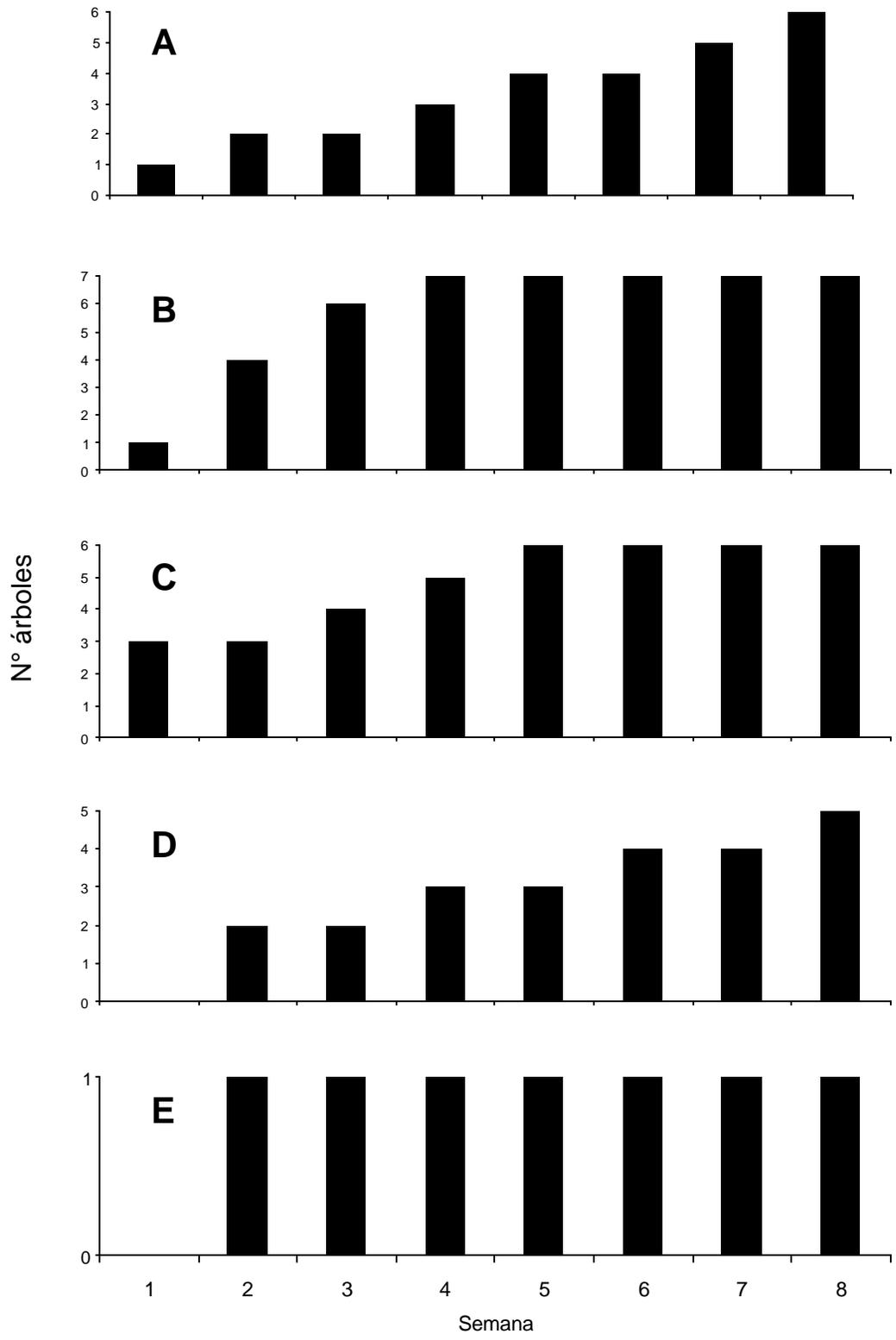


Fig. 19. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, según su procedencia: México (A), Guatemala (B), Honduras (C), Costa Rica (D) y Panamá (E). Experimento I. Mayo-julio, 2003. CATIE, Turrialba.

Cuadro 2. Número acumulativo de árboles de cedro dañados semanalmente en los brotes tratados con cada sustancia.
Experimento II. Julio-septiembre, 2003.

	Semana							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Alcohol bencílico	0	0	0	1	1	1	1	1
1-hexanol	0	0	2	2	2	2	2	2
Lavándula	0	0	0	0	0	0	0	0
Benzaldehído	0	0	0	1	1	1	1	1
Cinamaldehído	0	1	1	2	2	2	2	2
Perialdehído	1	2	2	3	3	3	3	3
Verbenona	0	0	1	1	1	1	1	1
Eugenol	0	0	0	0	0	0	0	0
Salicilato de metilo	0	1	1	2	2	2	2	2
Testigo	0	0	0	1	1	1	1	2

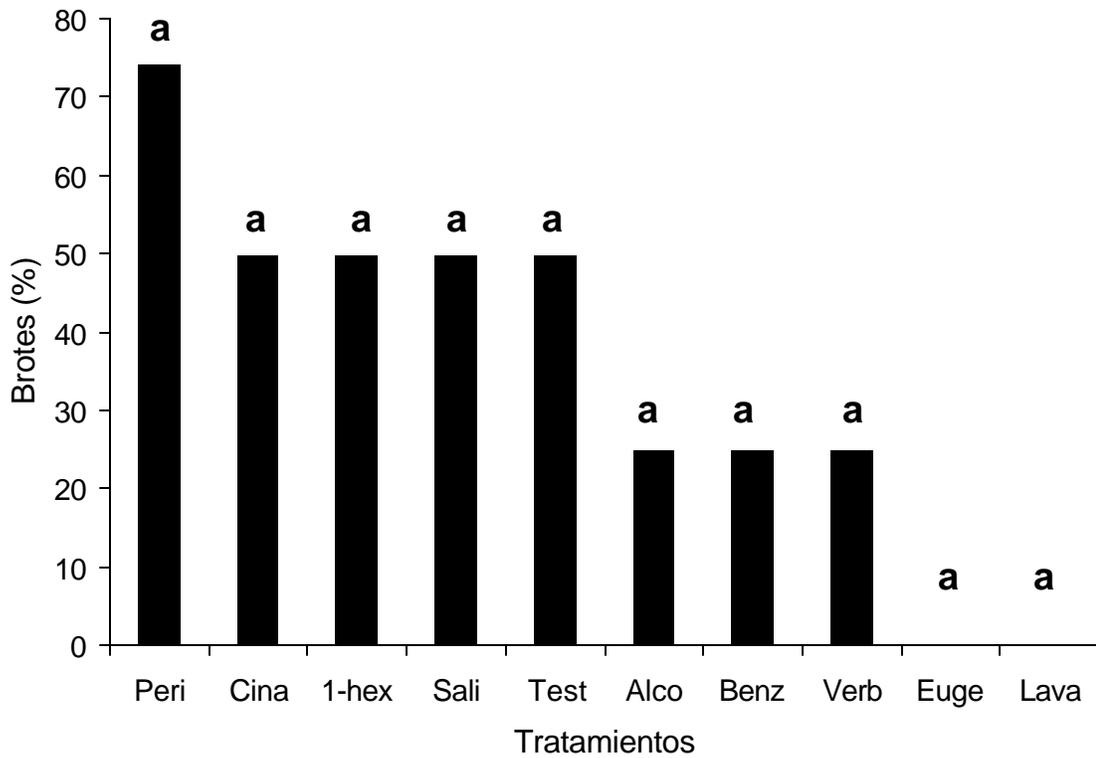


Fig. 20. Porcentaje acumulado del daño según el tratamiento. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

Al analizar el progreso del daño semanalmente para los alcoholes, las tendencias fueron muy variables. Por ejemplo, la lavándula no fue atacada (Fig. 21C). Al igual que el testigo, con el alcohol bencílico no hubo daño durante las tres primeras semanas, y apenas un brote fue atacado en la 4ª semana (Fig. 21B). Por su parte, con el 1-hexanol hubo dos brotes atacados a partir de la 4ª semana, permaneciendo así hasta el final (Fig. 21A).

Con los aldehídos, el daño máximo se presentó con el perialdehído, con tres brotes atacados, lo cual ocurrió desde la 4ª semana, pero había habido ataque desde la 1ª semana, el cual se incrementó a dos en la 2ª semana (Fig. 22A). Fue seguido por el cinamaldehído, con el que no hubo daño en la 1ª semana, pero sí en la 2ª, cuando un brote fue atacado, y el daño ascendió a dos a partir de la 4ª semana (Fig. 22C). El benzaldehído (Fig. 22B) aportó resultados análogos al testigo, pues en las tres primeras semanas no tuvo daño y después uno solo, excepto que en el testigo el daño aumentó a dos en la última semana (Fig. 22D).

En el grupo mixto, el máximo daño fue de dos brotes brotes atacados y se presentó con el salicilato de metilo, a partir de la 4ª semana (Fig. 23A); en la 1ª semana no hubo ataque, sino que fue en la 2ª cuando se manifestó el primer daño. En contraste, con el eugenol no hubo ataques (Fig. 23C), mientras que con la verbenona en las primeras dos semanas no hubo daño, pero lo hubo a partir de la 3ª semana, y así se mantuvo hasta el final (Fig. 23B).

Al igual que en el primer experimento, se analizó el efecto de la procedencia de los árboles de cedro, pero no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) (Fig. 24). De los 10 árboles de Costa Rica, cuatro fueron afectados, alcanzándose el mayor porcentaje de daño (40%), seguido de cerca por los de Honduras (37%) (cuatro de 11 árboles), Guatemala (36%) (tres de ocho árboles) y México (34%) (tres de nueve árboles). De los dos de Panamá, ningún árbol fue atacado.

Al analizar este factor según el progreso semanal del daño a los brotes, se obtuvo que los árboles de México y Honduras sufrieron daños a partir de la 2ª semana de evaluación, estabilizándose en la 4ª semana (Fig. 25 A, C), mientras que en los de Guatemala el daño aumentó de manera progresiva (Fig. 25B), y en los de Costa Rica (Fig. 25D) no hubo daño las primeras dos semanas, estabilizándose a partir de la 4ª semana.

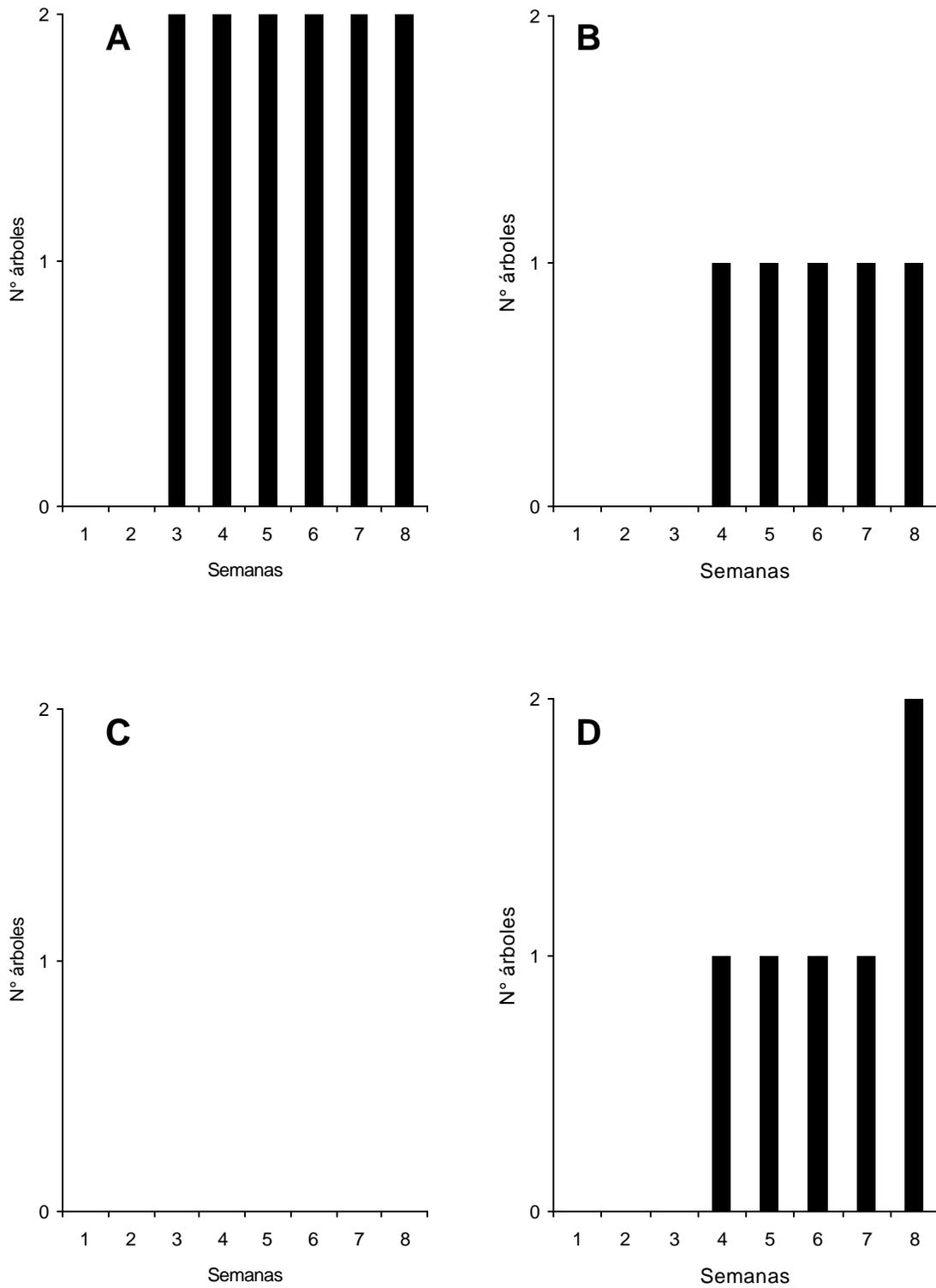


Fig. 21. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con alcoholes:1-hexanol (A), alcohol bencílico (B), lavándula (C) y el testigo (D). Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.

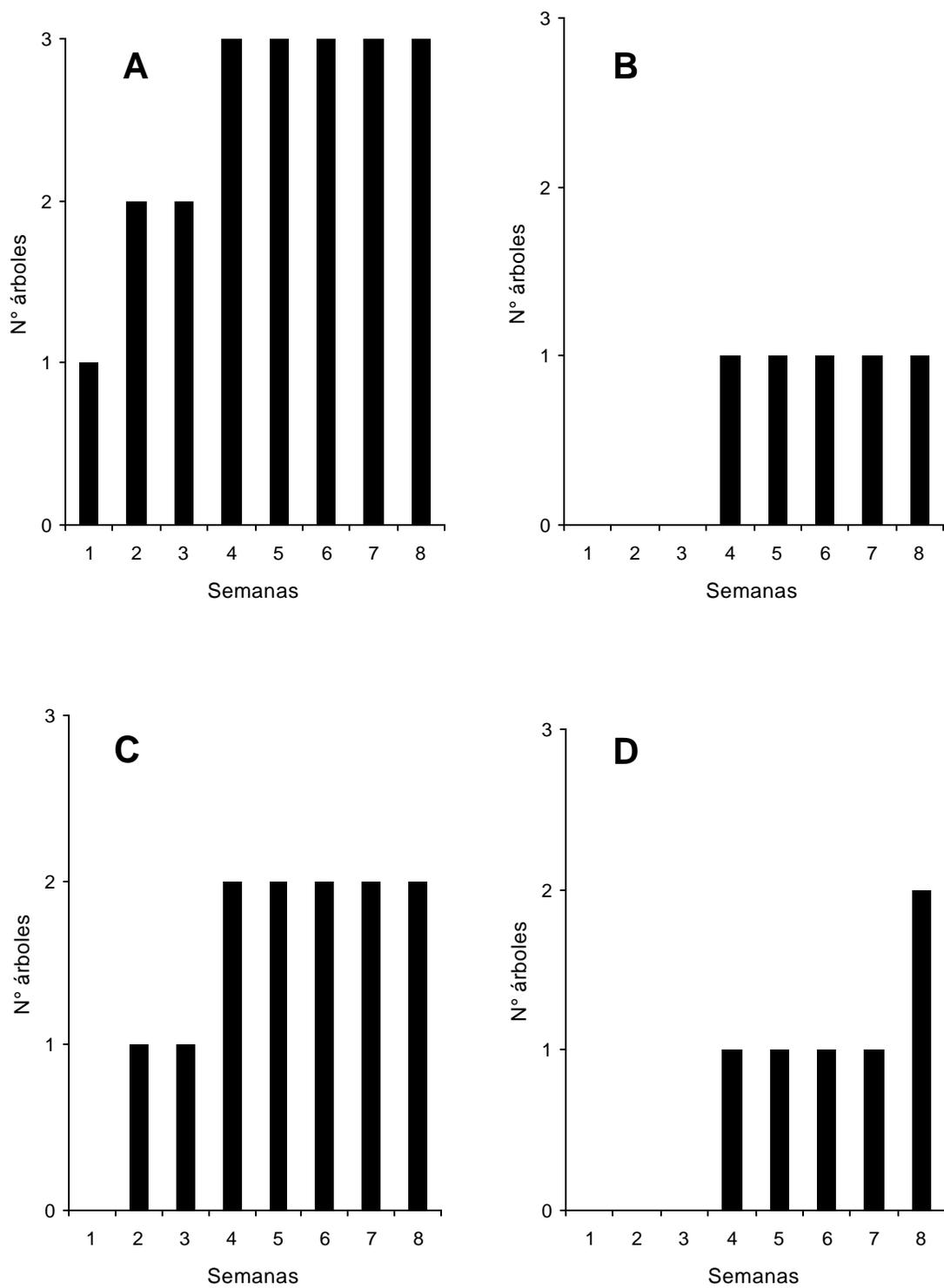


Fig. 22. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con aldehídos: perialdehído (A), benzaldehído (B), cinamaldehído (C) y el testigo (D). Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.

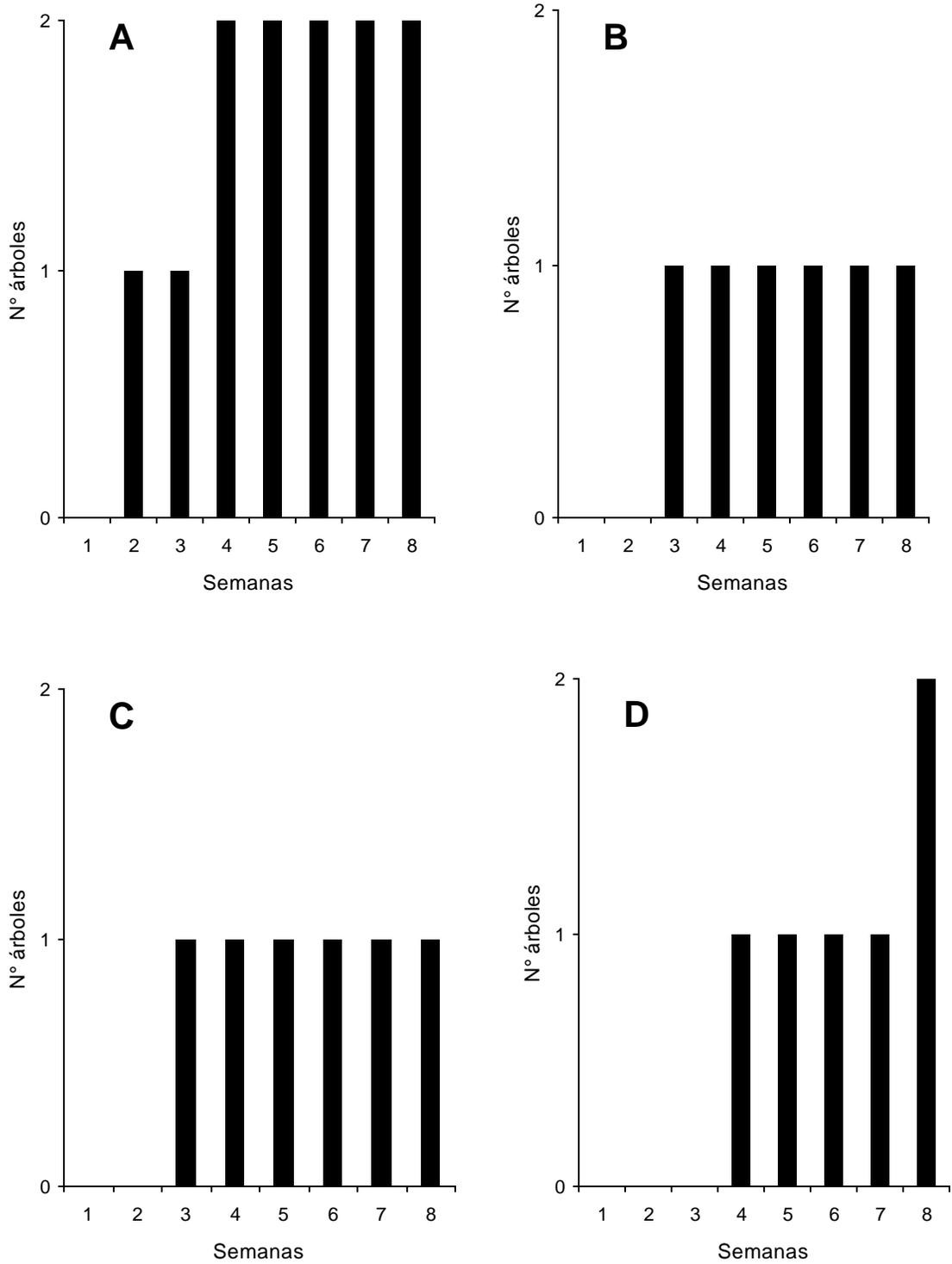


Fig. 23. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, en brotes tratados con otros grupos químicos: salicilato de metilo (A), verbenona (B), eugenol (C) y el testigo (D). Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.

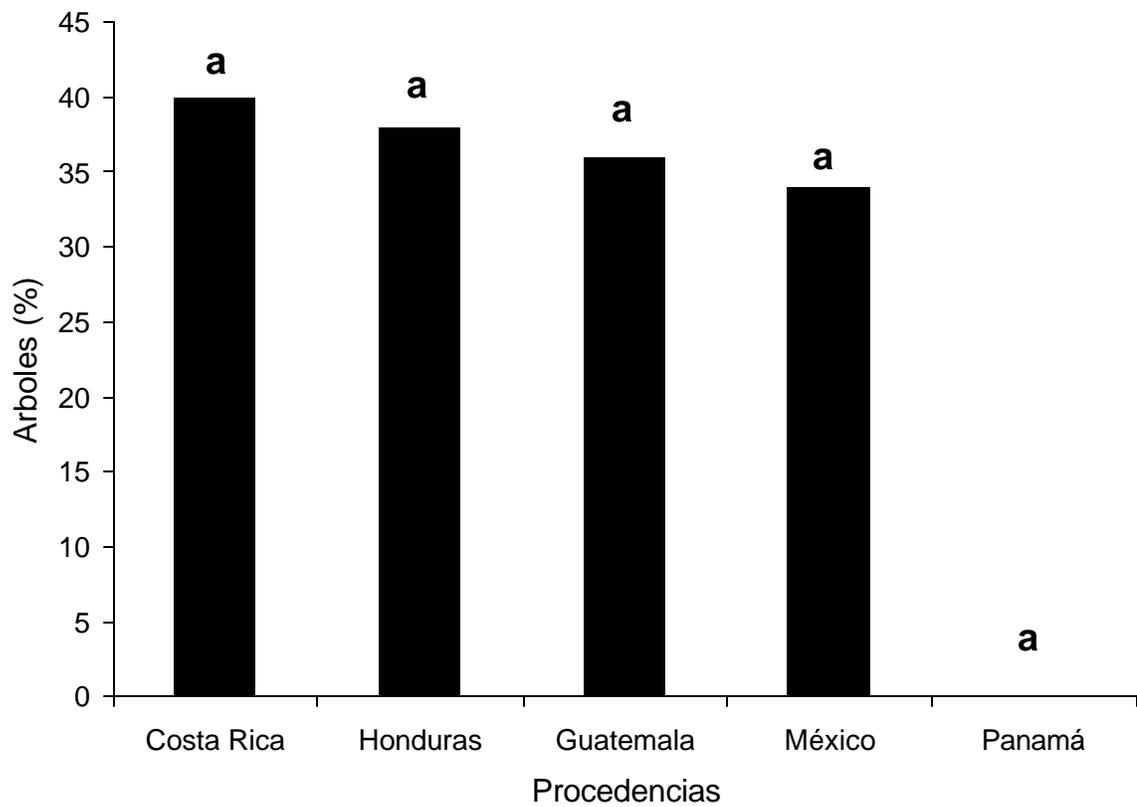


Fig. 24. Porcentaje total de árboles de cedro, de distintas procedencias, que fueron atacados por *H. grandella*. Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0.05$).

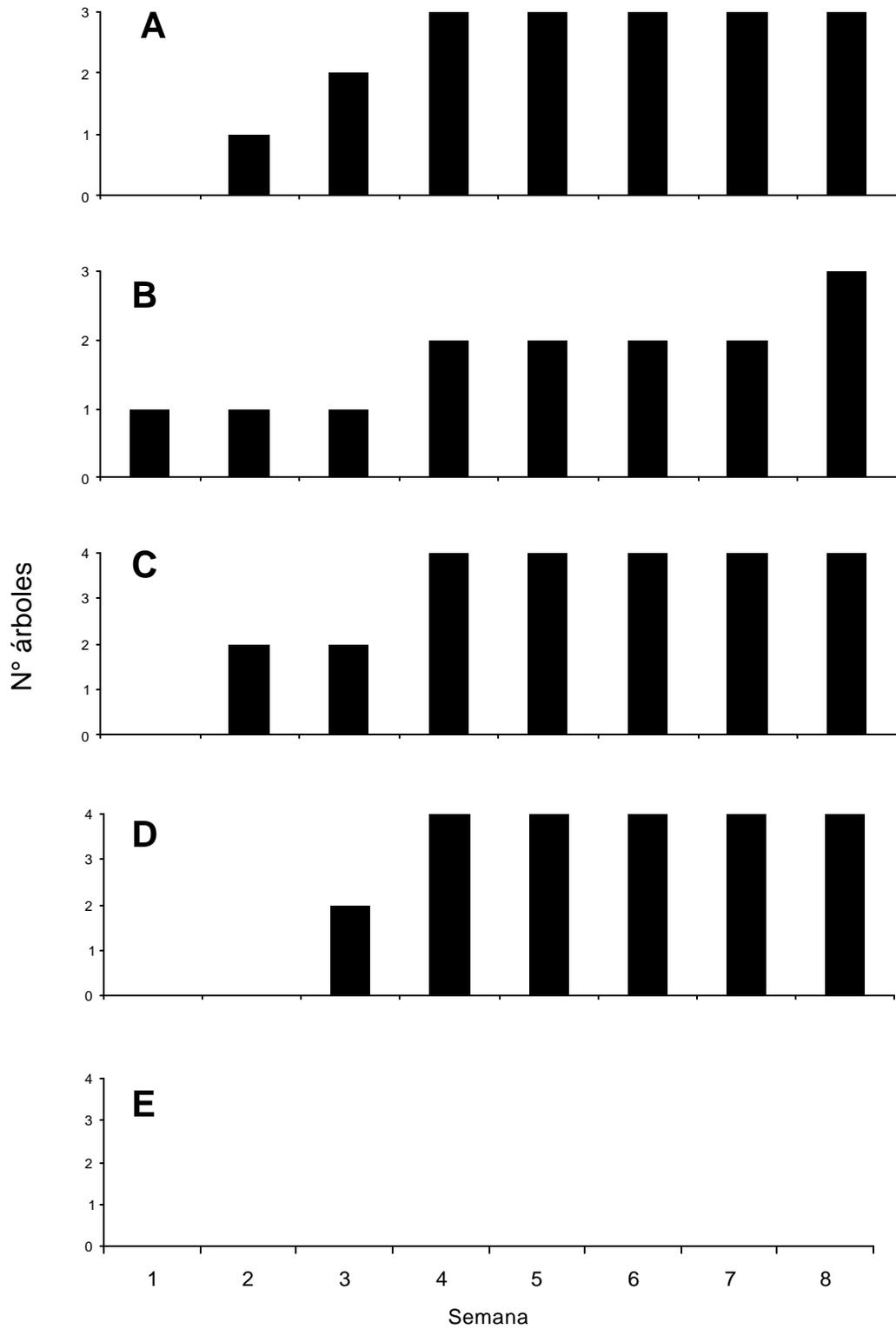


Fig. 25. Número acumulativo de árboles atacados semanalmente por *H. grandella*, según su procedencia: México (A), Guatemala (B), Honduras (C), Costa Rica (D) y Panamá (E). Experimento II. Julio-septiembre, 2003. CATIE, Turrialba.

6.2 EVALUACIÓN DE REPELENTE EN EL TUNEL DE VUELO

Por razones de tiempo, en esta fase de laboratorio solamente se evaluaron las cinco sustancias que mostraron algún grado de protección en el ataque de *H. grandella* a brotes de cedro en el campo. En un principio se tomó varios meses para desarrollar la metodología de laboratorio y posteriormente al iniciar los ensayos, el tiempo que tomaba cada repetición (cinco días), impidió evaluar las demás sustancias, debido a que se contaba con un período limitado para finalizar el experimento.

En el túnel de vuelo se evaluó la respuesta o comportamiento de ambos sexos de *H. grandella* frente a las sustancias volátiles (aterriaje en la malla que cubría la plántula de cedro) y también la respuesta de oviposición de las hembras. Sin embargo, al obtener los resultados y analizarlos, se determinó que éstas presentaban mucha variabilidad entre repeticiones, por lo que se aplicaron pruebas adicionales a las previamente descritas en la metodología, para tratar de eliminar este efecto.

En realidad, por razones logísticas, no siempre se pudo contar con una proporción de sexos de 1:1, aunque se trató de mantenerla (Cuadro 3). Las excepciones fueron el alcohol bencílico y la lavándula, con cifras más contrastantes. A pesar de esto, en el primero de ellos, así como en el cinamaldehído y el salicilato de metilo, se lograron valores totales de oviposición más o menos cercanos, pues variaron entre 496 y 642. El menor valor se obtuvo para el testigo (286) y el mayor para la lavándula (1363).

En cuanto a los promedios de oviposición, los valores difirieron, pues los valores mínimo y máximo fueron de 9,5 (testigo) y 23,5 (lavándula). El análisis de varianza para dicha variable no resultó significativo ($p > 0,05$) (Anexo 4), pero ésta no cumplía con los supuestos necesarios (normalidad y homogeneidad de varianzas) para que el análisis fuera válido; esto se demostró con las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks ($p < 0,0001$) y de homogeneidad de varianzas de Levene ($p = 0,02$). El análisis posterior de los datos transformados aportó diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$) (Anexo 5), de los cuales el testigo se diferenció claramente del resto de los tratamientos (Fig. 26, Anexo 6).

La cantidad promedio de huevos depositados por hembra fue menor en el testigo (10), y entre los tratamientos varió entre 14 (salicilato de metilo) y 22 (lavándula) (Cuadro 4).

Cuadro 3. Valores reales del número de adultos de *H. grandella* incluidos en cada repetición y el número de huevos colocados en experimentos de túnel de vuelo para cada tratamiento.

Tratamiento	Repetición	N° machos	N° hembras	N° huevos	Huevos/hembra
Alcohol bencílico	1	18	14	65	4.64
	2	4	11	47	4.27
	3	19	9	181	20.11
	4	5	8	246	30.75
	Total	46	42	539	
Lavándula	1	10	20	332	16.60
	2	3	10	100	10.00
	3	10	19	744	39.15
	4	4	9	187	20.77
	Total	27	58	1363	
Cinamaldehído	1	10	7	41	5.85
	2	7	7	198	28.28
	3	11	12	69	5.75
	4	7	6	188	31.33
	Total	35	32	496	
Salicilato metilo	1	9	11	136	12.36
	2	9	10	68	6.80
	3	9	14	357	25.50
	4	6	7	81	11.57
	Total	33	42	642	
Testigo	1	10	6	71	11.83
	2	10	10	78	7.8
	3	7	7	65	9.28
	4	8	7	72	10.28
	Total	35	30	286	

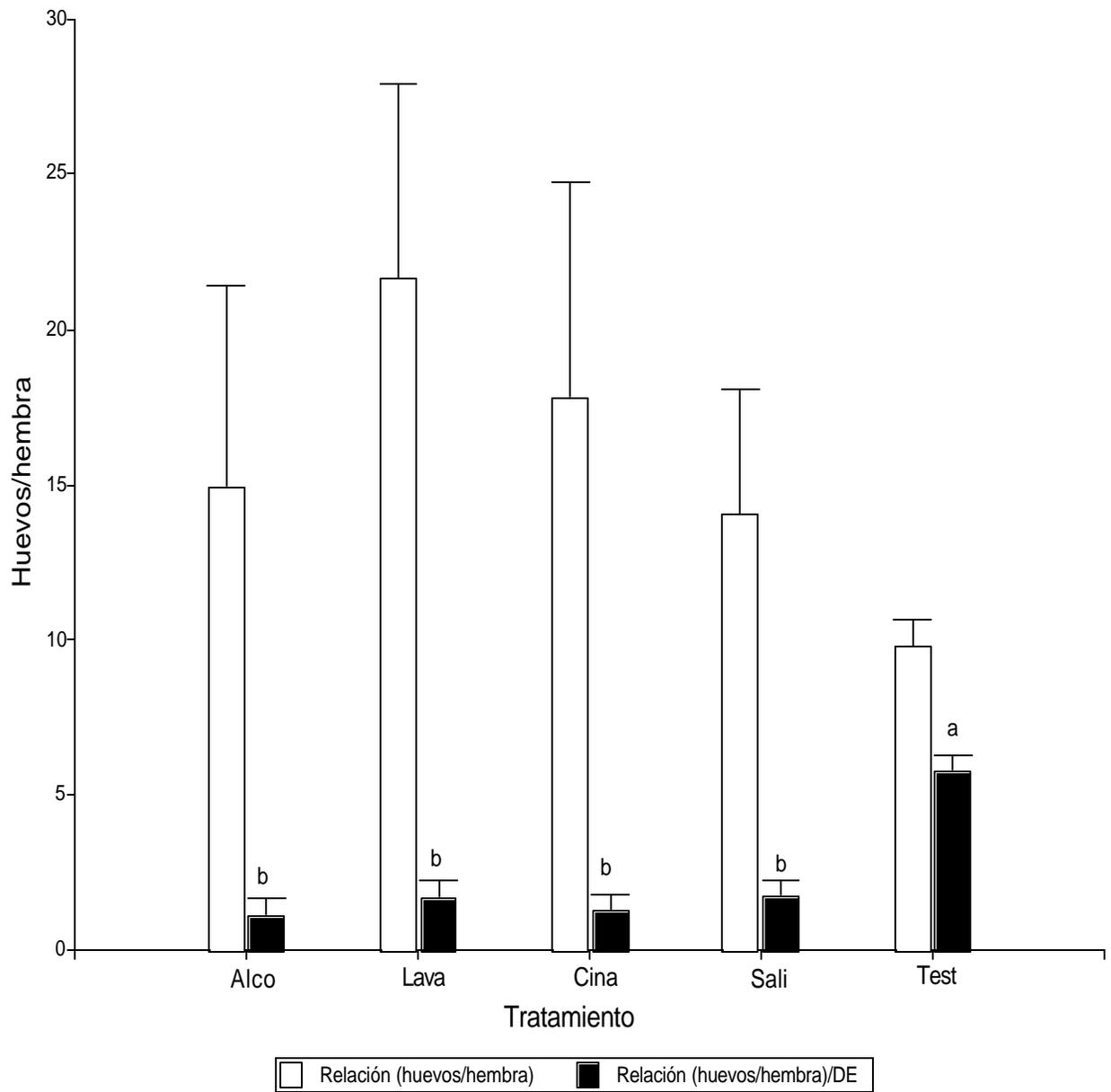


Fig. 26. Promedios de oviposición por hembra para cada tratamiento y sus valores transformados. Las barras blancas muestran promedios reales y las barras negras muestran los promedios transformados al dividirlo por su desviación estándar. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

Cuadro 4. Promedios de los números de hembras presentes y de huevos depositados para cada tratamiento, en el túnel de vuelo.

Tratamiento	Hembras X ± D.E.	Huevos X ± D.E.	Huevos/hembra X ± D.E.
Alcohol bencílico	10,50 ± 2,65	134,75 ± 95,01	14.94 ± 12.87
Lavándula	14,50 ± 5,80	340,75 ± 285,36	21.63 ± 14.50
Cinamaldehído	8,0 ± 2,71	124 ± 80,59	17.81 ± 13.92
Salicilato de metilo	10,50 ± 2,89	160,50 ± 134,27	14.06 ± 8.01
Testigo	7,50 ± 1,73	71,50 ± 5,32	9.80 ± 1.70

*DE= desviación estándar

Asimismo, la variabilidad entre tratamientos para el número de hembras que participaron en cada experimento fue mayor con la lavándula (5.8) y menor en el testigo (1.73), lo cual fue congruente con la variabilidad en la oviposición, que fue la máxima (285.36) con la lavándula y la mínima (5.32) en el testigo (Cuadro 4).

En promedio, en los experimentos participaron cerca de 17 y 25 individuos, según el tratamiento. El conjunto de insectos utilizados para cada experimento decreció a medida que transcurrió el tiempo (Fig. 27), debido a su muerte. Para el cinamaldehído y el testigo la mortalidad fue más notable que en los demás tratamientos.

En la malla que cubría la planta tratada siempre hubo adultos posados, aunque se observó variación según los intervalos de cada experimento (Fig. 28), no se encontró diferencias significativas entre los períodos de observación (Anexo 7). Cabe destacar que estos períodos de observación fueron en oscuridad total, y que diariamente se realizaban tres cada dos horas (12, 14 y 16 h después de la cero lux).

Para el cinamaldehído y la lavándula, la tendencia fue que el total de adultos posados disminuyó con el tiempo. Es decir, la presencia de adultos fue mayor en las primeras observaciones diarias (12 h después de la cero lux), para luego ir decreciendo a medida que se aproximaba el período de luz. Con los demás tratamientos, en algunos períodos la tendencia fue variable o inversa. A pesar de ello, mediante el análisis de varianza (Anexo 7) no se detectó un efecto de la interacción tratamiento X tiempo ($p > 0,05$), aunque sí hubo diferencias entre tratamientos ($p < 0,05$) (Anexo 8). El cinamaldehído y la lavándula fueron los tratamientos que tuvieron la mayor cantidad de adultos posados en la planta tratada, seguidos por el testigo (Fig. 29).

En cuanto a diferencias entre los períodos de observación, las hubo ($p < 0,05$) (Anexo 9), y se observó que la mayor cantidad de adultos posados se registró a las 12, 60 y 64 h, y la menor a las 36 h, es decir, a las 14h después de las cero lux, en el segundo día (Fig. 30).

Finalmente, cabe indicar que la temperatura y la humedad relativa no fueron muy variables entre los tratamientos durante los experimentos. La temperatura varió entre 24-27°C y la humedad entre 67-87% (Anexo 10).

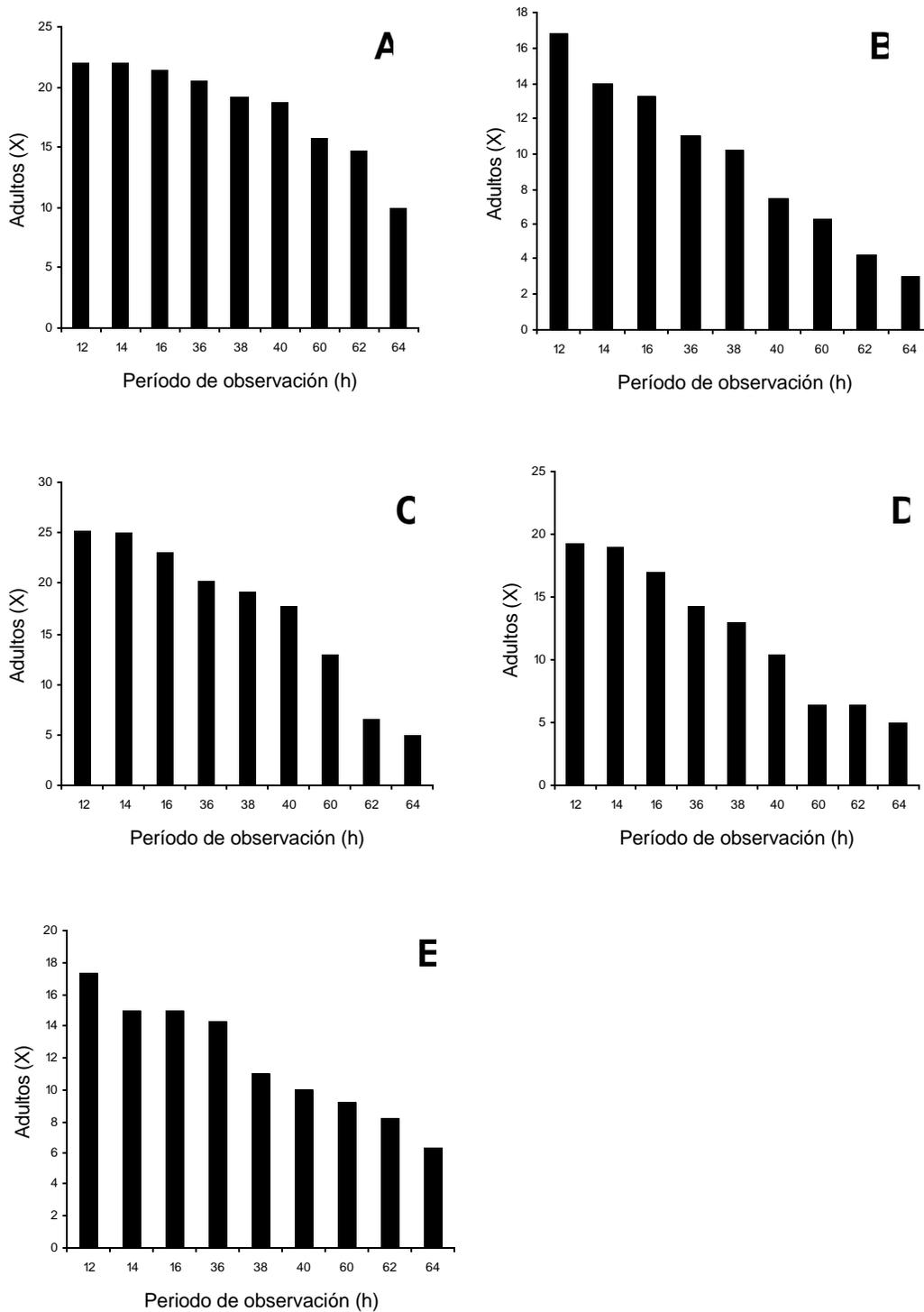


Fig. 27. Promedio de adultos que participaron en los diferentes períodos de observación para cada tratamiento: alcohol benzílico (A), cinamaldehído (B), lavándula (C), salicilato de metilo (D) y el testigo (E).

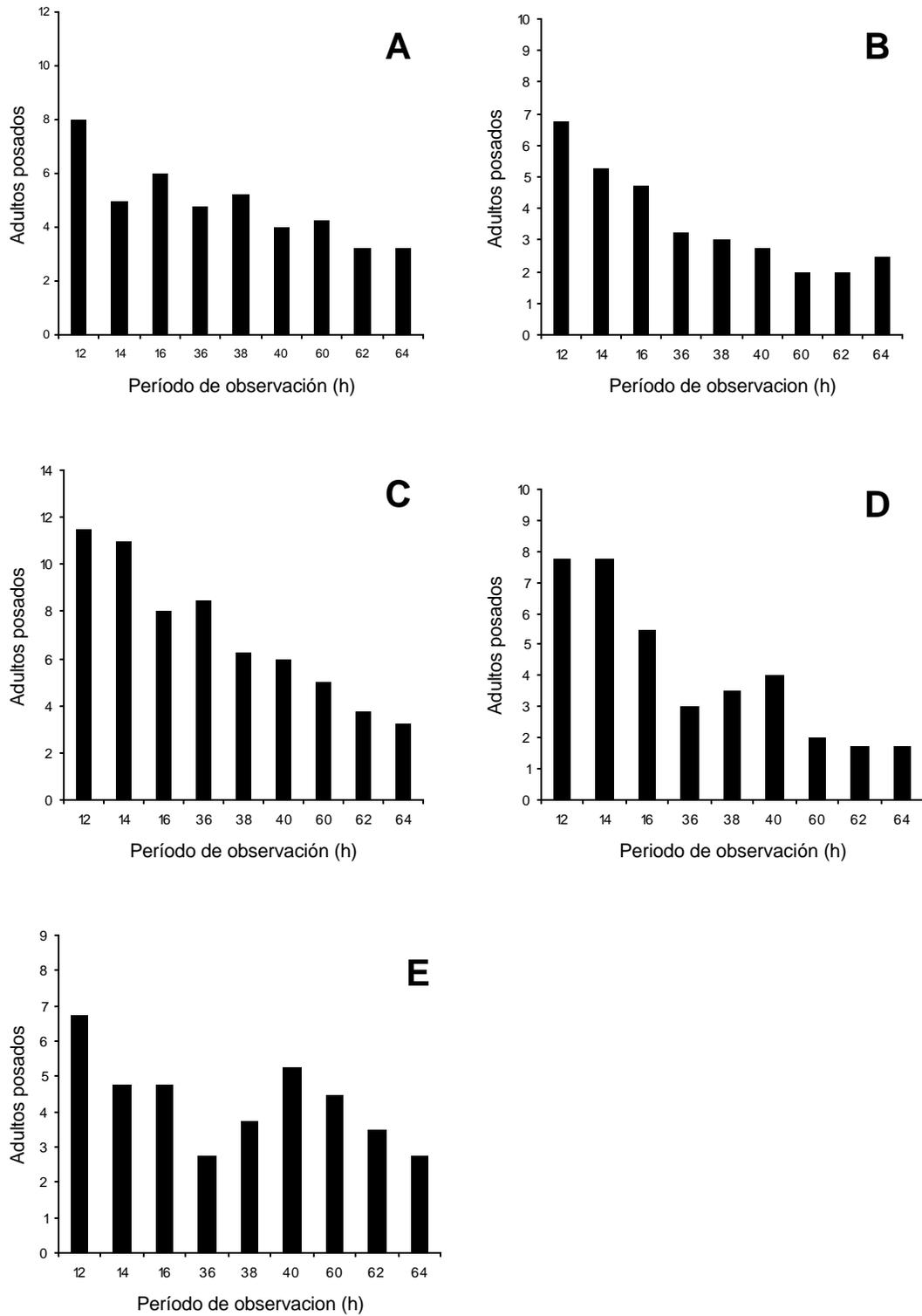


Fig. 28. Promedio de adultos posados en la malla que cubría la planta de cedro, en cada período de observación para cada tratamiento: alcohol benzoico (A), cinamaldehído (B), lavándula (C), salicilato de metilo (D) y el testigo (E).

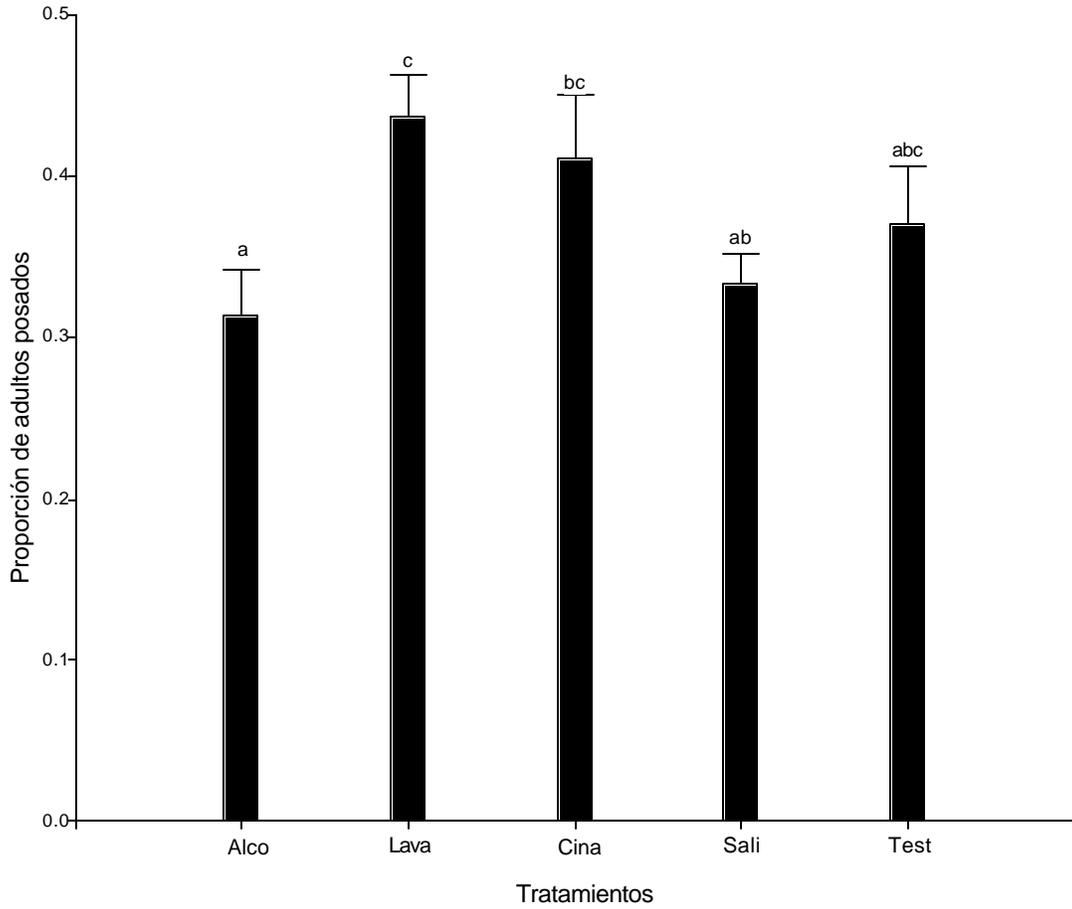


Fig. 29. Promedio de adultos posados en la malla que cubría la plántula, para cada tratamiento. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

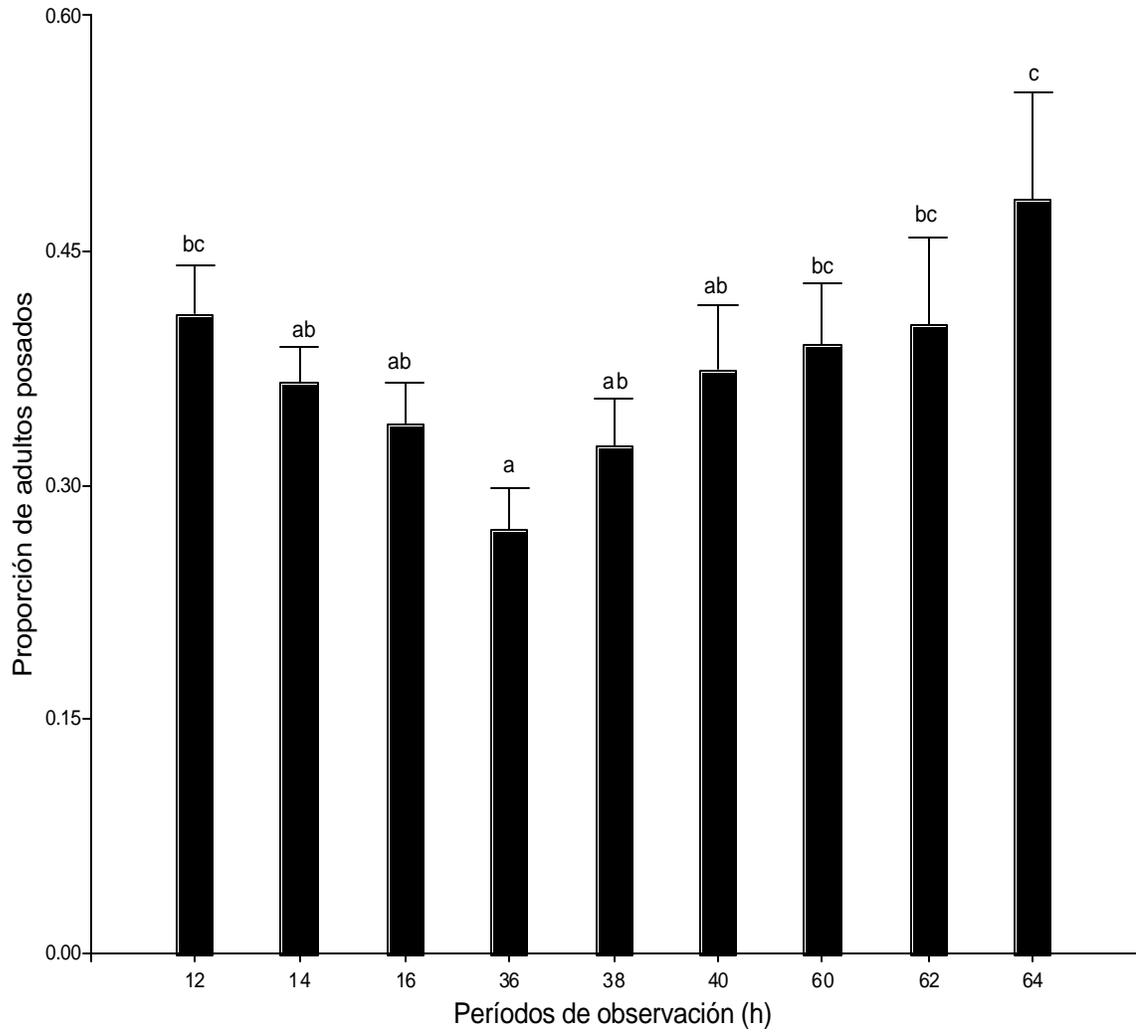


Fig. 30. Promedio del total de adultos posados en la malla que cubría la plántula de cedro en los diferentes periodos de evaluación. Los promedios seguidos por una misma letra no difieren estadísticamente ($P = 0,05$).

7. DISCUSION

De los miembros de la familia Pyralidae, *H. grandella* es una de las pocas especies importantes como plagas para la cual han sido escasamente estudiadas o desarrolladas las técnicas para repelerla o atraerla, como parte de un enfoque de manejo integrado de plagas.

En realidad, es escaso el avance en el conocimiento de la ecología química de esta plaga (Grijpma y Gara 1970, Holsten y Gara 1974, Newton *et al.* 1998, Macías 2001), incluyendo la posible relación de la actividad biológica de las meliáceas y los compuestos feromonales sobre *H. grandella*, lo cual limita la posibilidad de manipular sus poblaciones.

Son pocos o casi nulos los estudios que se han realizado para conocer esta interacción *H. grandella*-hospedante, los cuales podrían ayudar a clarificar muchas dudas. En cuanto a repelentes es nulo, exceptuando los hallazgos sobre compuestos fagodisuasivos con las larvas (Mancebo *et al.* 2000, 2001, Soto 2000), mientras que en relación con atrayentes ya se han determinado algunos componentes de su feromona sexual, e incluso se han evaluado en el campo (Efraim 1997, Hilje *et al.* 2002), pero sin determinar cuáles de estos compuestos generan una fuerte atracción sexual de la hembra.

Repelentes. Inicialmente, se había planeado efectuar primero los experimentos en el túnel de vuelo y posteriormente realizar la fase de campo, pero se decidió invertir el orden para aprovechar que se aproximaban los meses en que se presenta el máximo pico poblacional de *H. grandella* en Turrialba (Taveras 1999). Newton *et al.* (1998) señalaron que el pico máximo de ataque de *H. grandella* sobre *C. odorata* se presenta aproximadamente a las ocho semanas de iniciada la producción de los nuevos brotes. Esto coincide con lo observado, ya que al realizar el primer experimento (en mayo), los brotes tenían muchos montículos de aserrín, lo cual sugiere que pocas semanas antes se había presentado el pico de ataque.

Al evaluar las sustancias volátiles en el campo, se encontró que hubo una gran variación y contraste entre el primero y el segundo experimento. Ello quizá obedeció a la presión de ataque de *H. grandella*, que fue más intensa durante el primer experimento (en mayo-julio). Por tanto, aunque sea aventurado asegurarlo, quizás sean más confiables los resultados del primer experimento, pero subsiste la duda de por qué en éste uno de los

testigos no fue atacado (en cambio, en el segundo experimento solo dos testigos fueron atacados, y más bien hacia el final del experimento).

Así, en el primer experimento los brotes tratados con eugenol, cinamaldehído, verbenona y perialdehído fueron fuertemente atacados, lo cual indica que estas sustancias no repelieron a *H. grandella*. De éstos, en el segundo experimento el tratamiento más atacado fue el de perialdehído, lo cual pareciera confirmar (aún en ausencia de análisis estadístico) su nulo efecto como repelente de dicha plaga. En general, pareciera que ninguno de los aldehídos confirió protección.

Por el contrario, en el primer experimento hubo varias sustancias que protegieron los brotes durante varias semanas, como la lavándula, 1-hexanol y salicilato de metilo. Sin embargo, éstas en general no coincidieron con las mejores del segundo experimento (verbenona, benzaldehído y alcohol bencílico), excepto para la lavándula, cuyos brotes no resultaron atacados. No obstante, en este experimento el tratamiento con eugenol no fue atacado, mientras que en el primero había sido el más afectado, lo cual representa una paradoja.

Estas incongruencias podrían tener varias explicaciones. En primer lugar, no se pudo contar con suficientes repeticiones de cada tratamiento debido al alto costo de formular estas sustancias en dispensadores, lo cual limitó sensiblemente no solo la obtención de datos, sino también su análisis estadístico. En segundo lugar, y por esa misma razón, los brotes tratados debieron “competir” con una gran cantidad de árboles con brotes sin tratar (que fueron 654 árboles sumados a los de Poró y café, en contraste con 36 árboles tratados). Es decir, éstos actuaron como testigos “funcionales”, disminuyendo la probabilidad de que las hembras de *H. grandella* se posaran en los brotes tratados y, sobre todo en los testigos reales; curiosamente, en ambos experimentos no todos los testigos resultaron afectados, lo cual da sustento a esta hipótesis.

En tercer lugar, como algunos árboles eran muy altos, al igual que sus brotes, es posible que algunos brotes utilizados estuvieran infestados con huevos o larvas de *H. grandella* de primer instar, difíciles de ver a simple vista, lo cual habría sesgado las evaluaciones. Finalmente, puesto que la parcela estaba conformada por varias procedencias de cedro, este factor podría haber influido en la variabilidad de los resultados; no obstante se ha

demostrado ampliamente que ninguna de estas procedencias es tolerante a la plaga (Carlos Navarro 2003, CATIE, com. pers.).

El hecho de que en ambos experimentos el daño por lo general se incrementara de manera paulatina, posiblemente obedeció al patrón de colonización de la parcela por parte de la plaga, progresivo. Sin embargo, también podría haber influido la vida media del compuesto volátil en el dispensador que, aunque en teoría corresponde a 7-8 semanas (Lilliana González 2003, ChemTica International, com. pers.), podría haberse reducido en algunos tratamientos. La sustancia que está en el dispensador, tiene una concentración y una tasa de liberación que va disminuyendo con el tiempo debido a las adversidades de las condiciones ambientales, como lluvia, sol, partículas de polvo, etc.

No obstante, en el segundo experimento se observó, que aún cuando los árboles de cedro se habían recuperado del fuerte daño sufrido en los meses anteriores (mayo-julio), y había disponibilidad de brotes frescos en toda la parcela, la presión de ataque disminuyó, en comparación con el primer experimento. Esto parece ser un hecho inexplicable, que ha sido observado anteriormente por varios investigadores (Yamazaki *et al* 1990, Taveras 1999). Algunos atribuyen esto a una variación de la constitución física o química de los brotes (metabolitos secundarios) en ciertas épocas del año, cuando por ejemplo el flujo de resina en la caoba podría permitir al árbol resistir mejor un ataque de *H. grandella* (Whitmore 1976). Esto se acentuaría con la falta de homogeneidad genética en la plantación, con distintas proveniencias que pudieran variar en sus características físico-químicas (Taveras 1999).

Cunningham y Floyd (2002), al observar que *H. robusta* causó diferentes intensidades de daño en una plantación de *T. ciliata* de distintas poblaciones, manifestaron que ésta podría ser producto de una variación en la composición de sus tejidos posiblemente influenciada por el genotipo y por el medio ambiente. Sin embargo, en este estudio esta presunción no fue confirmada, al no encontrarse diferencias entre el daño según la procedencia. No obstante, en este caso se careció de homogeneidad en el número de repeticiones por procedencias, lo cual restaría confiabilidad en los datos. Por tanto, no se puede determinar con certeza que esta variación en la intensidad de ataques de *H. grandella* fuera producto de la heterogeneidad de las procedencias.

Otra posible respuesta a este hecho inexplicable, es que los árboles de cedro al estar repetidas veces expuestos a ataques, liberen sustancias (mecanismo de defensa) que repelan a *H. grandella* o atraigan enemigos naturales para su control, reduciendo de esta manera el ataque. Vrkovoca (2000), reportó este mecanismo de defensa en árboles de encinos o robles (*Quercus* spp.) al observar que liberaban (E)- β -ocimene, un compuesto terpénico que atrae enemigos naturales del coleóptero *Scolytus intricatus* (Scolytidae).

Algunas de las sustancias evaluadas han demostrado ser repelentes de otras especies de insectos. Por ejemplo, la verbenona es una feromona de antiagregación en el escolítido *Dendroctonus frontalis* y también un compuesto volátil liberado por su planta hospedante (*Pinus* spp.), que de manera muy eficaz interrumpe la respuesta de la feromona de agregación (frontalina) (Dickens *et al.* 1992, Dubbel 1992).

Asimismo, el alcohol bencílico y el 1-hexanol, al igual que la mezcla binaria o terciaria de varios de estos compuestos volátiles de angiospermas no hospedantes, pueden interrumpir la respuesta de *D. pseudotsugae* a trampas cebadas con atrayentes, demostrando su potencial para la protección de sus hospedantes (Hubber y Borden 2001). La mezcla del 1-hexanol con el hexanal es una de las combinaciones de compuestos volátiles liberados por los árboles, que interrumpe la respuesta a la feromona de agregación de tres especies de escolítidos (*D. frontalis*, *Ips avulsus* e *I. grandicollis*) que descortezan los pinos (Dickens *et al.* 1992).

Por su parte, el salicilato de metilo es un inhibidor de cópulas adicionales en hembras de *Pieris napi* (Pieridae), ya que es transferido en el proceso de apareamiento del macho (por el espermátforo) a la hembra, dejándola no atractiva para otros machos (Norin 2001). Además, dicha sustancia es conocida como una feromona de alarma, ya que es liberada por plantas infestadas para atraer enemigos naturales (kairomona) y también puede enmascarar los compuestos volátiles de plantas hospedantes del áfido *Aphis fabae* (Pickett *et al.* 1992, Hardie *et al.* 1994, Bernasconi *et al.* 1998).

No obstante, Zhu *et al.* (2001), evaluaron ocho aceites esenciales activos contra insectos y encontraron que al probarlos contra termitas existía una relación inversa entre volatilidad y bioactividad. Ellos reportaron, en orden decreciente de volatilidad a: eucalyptol, citronellal, citral, citronellol, cinamaldehído, eugenol, thujopsene y, α y β -vetivone.

Sin embargo, a pesar de que algunas de estas sustancias han ejercido algún tipo de efecto disuasivo sobre otras especies, en *H. grandella* los resultados sugieren que no existe un efecto repelente marcado, lo cual quizás podría lograrse con una tasa de liberación más alta o por mezclas de sustancias.

En cuanto a los experimentos en el túnel de vuelo, en realidad no contribuyeron a resolver las incongruencias detectadas en el campo. Realmente fue un poco difícil trabajar con este insecto, ya que se necesita controlar muchas variables que podrían alterar su comportamiento, tales como la humedad, la temperatura y la ventilación. Por ejemplo, Taveras (1999) notó que *H. grandella* necesita tener una corriente de aire para iniciar su vuelo de cortejo y apareamiento, y Fazoranti (1985) observó que el vuelo previo es necesario para realizar su cópula y oviposición. Además, Mo y Tanton (1996) encontraron que para *H. robusta* también es necesario el flujo de aire para iniciar y concretar la cópula.

Lamentablemente, en el túnel no había mucho flujo de aire, lo cual posiblemente influyó en el comportamiento del insecto. Fue por esto que se decidió colocar las parejas en una jaula de cópula dos días antes de transferirlos al túnel, para que el apareamiento fuese exitoso. No obstante, las corrientes de aire son importantes no solo para el vuelo de cortejo, sino también para la búsqueda del hospedante, lo cual pudo de alguna manera afectar este proceso.

En los resultados, hubo mucha variabilidad entre las repeticiones en cuanto al número de machos y de hembras. Además, en algunos casos aparentemente el apareamiento no fue exitoso, a juzgar por la baja cantidad de huevos depositados en relación con la cantidad de hembras incluídas en cada experimento. Esto también fue observado por Grijpma (1973), quien registró un valor de oviposición de apenas 60 huevos, cuando lo normal es que ellas depositen 200-300 huevos.

Por su parte, Eiras (2000) obtuvo un bajo grado de cópula en condiciones de laboratorio, sugiriendo que no todas las hembras vírgenes entraron en el comportamiento de llamado, aún cuando las condiciones (edad y hora de escotofase) parecían ser favorables, por lo que dicho autor especuló que pudieron intervenir varios factores que influenciaron a las hembras para iniciar el llamado y aparearse. Es probable que el estado fisiológico del insecto y las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa y velocidad del viento), influenciaran el comportamiento de llamado.

Otra posibilidad es que ellos necesiten detectar los compuestos volátiles de su planta hospedante, ya que en varias especies de insectos el apareamiento ocurre en la planta hospedante (Eiras 2000), e incluso en muchos casos ambos sexos son atraídos en presencia de los compuestos volátiles de la planta hospedante.

Pudo notarse que algunas veces en que hubo más hembras que machos, la cantidad de huevos depositados fue mayor (en especial con lavándula y algunas otras repeticiones) que cuando estaban en una proporción de 1 a 1 (como en el testigo). Taveras (1999), así como Grijpma (1973) y Samaniengo y Sterringa (1976) encontraron que la proporción de sexos casi siempre es de 1:1.

En promedio, la cantidad de huevos colocados por hembras de *H. grandella* frente a las sustancias fue similar, excepto en el testigo, en el cual fue menor el número de huevos colocados por cada hembra. Este tipo de respuesta podría sugerir que la hembra al estar expuesta a la sustancia por un período tan largo, de alguna manera haya desarrollado una cierta tolerancia a su olor o cierta desensibilización. Schoonhoven (1990) indica que los insectos pueden perder su sensibilidad al disuasivo o sustancia repelente después de estar repetidas veces expuestos y después de largos períodos de abstención de sitios de alimentación o de oviposición.

Mafra-Neto y Baker (1996) reportaron que cuando el insecto está pre-expuesto por largos períodos a una sustancia, su respuesta puede verse influenciada por dos mecanismos fisiológicos: adaptación sensorial (a nivel neuronal de la antena) y habituación (a nivel del sistema nervioso central). Esto lo comprobaron al evaluar la respuesta en un electroantenograma (EAG) de una antena normal y otra pre-expuesta de *Cadra cautella* (Pyralidae) a una feromona; se obtuvo que la antena pre-expuesta mostró largos términos de adaptación y no respondió a la dosis que causaría una reacción. No obstante, Cunningham y Floyd (2002) sugieren que la eficacia de los repelentes depende del estado fisiológico y la respuesta etológica del insecto.

Cabe señalar que hubo huevos fértiles colocados en otras partes del túnel, como el cedazo y algunas hojas de papel toalla usadas para cubrir orificios del túnel. Estos huevos no se contabilizaron, ya que no estaban sobre la malla de malín. Sin embargo, ésta pudo ser una de las causas por las cuales en algunos casos la cantidad de huevos en la malla fue baja, como lo observaron Samaniengo y Sterringa (1976). Ellos evaluaron dos tipos de

cajas, donde colocaban a las hembras copuladas para que ovipositaran y, puesto que en la caja había cedazo y bastidores de madera, ellas ovipositaban ahí; esto dificultaba el recuento de los mismos, a tal punto que se perdía casi el 50% de los huevos colocados en otras partes que no fuera el papel toalla.

Por otra parte, también pudo darse el caso que las primeras hembras en ovipositar liberaran feromonas que reprimieran la oviposición de las demás hembras en esa parte de la malla, llamadas feromonas disuasivas de oviposición, los cuales son compuestos kairomonales liberados durante o después de la oviposición (Morgan y Mandava 1999).

Vale mencionar que los adultos estuvieron 48 h en la jaula de cópula, aún cuando Samaniego y Sterringa (1976), sugieren que sea de 72-96 h, para obtener la mayor oviposición. En este estudio se redujo a 48 h, ya que en experimentos preliminares se observó que generalmente los adultos morían prematuramente, posiblemente debido a las condiciones artificiales del túnel de vuelo y a la falta de alimentación (azúcares). Otra posible explicación de su muerte temprana son los cambios de temperatura y humedad que se presentaron algunas veces dentro del túnel de vuelo durante cada experimento, ya que ambos factores suelen ser determinantes en los procesos fisiológicos de *H. grandella* así como en la longevidad de los adultos (Taveras 1999).

En cuanto a la cantidad de adultos posados en los diferentes períodos de observación de cada día, se esperaba que la mayor cantidad apareciera al inicio del experimento y durante las primeras horas de observación, ya que éste se asemejaría al comportamiento que exhiben en la naturaleza, puesto que ellas son más activas a partir de 10-12 h después de iniciada la escotofase. También se esperaba que con el transcurso de los días el total de adultos fuera decreciendo, debido a su mortalidad. Sin embargo, de alguna manera es lo que se observó en los tratamientos de cinamaldehído y lavándula, pero en los demás esto no fue así, por lo que se desconoce qué pudo motivar este comportamiento.

La cantidad de adultos posados según el tratamiento (aún cuando no hubo diferencias significativas) fue mayor con la lavándula, pero esto obedeció a que fue la sustancia que tuvo la mayor cantidad de adultos involucrados en los experimentos. Sin embargo, aunque la lavándula y el alcohol bencílico fueron los que tuvieron más adultos involucrados (85 y 88, respectivamente), en el segundo caso hubo menos adultos

posados sobre la malla. Por su parte, el cinamaldehído, a pesar de ser uno de los que menos adultos tuvieron, resultó igual que la lavándula, con más adultos posados. En realidad, en este estudio el comportamiento de *H. grandella* frente a las sustancias y el testigo fueron muy aproximadas, excepto en la oviposición, donde se obtuvieron valores extremos en el testigo (286 huevos) y la lavándula (1363 huevos), demostrando una clara diferencia, pero aún no se podría determinar la causa. Estas podrían deberse a que las hembras no hubiesen copulado, a pesar de recibir el mismo trato que las demás, por las razones antes mencionadas. Lo más recomendable hubiese sido que una vez concluido el experimento se disectaran las hembras que participaron, para determinar cuáles habían copulado, y realizar una comparación más acertada.

Feromonas. En la evaluación de feromonas en el campo, lamentablemente los resultados fueron nulos en ambos experimentos, pues no se capturó ni un solo macho de *H. grandella*, aún cuando las condiciones eran favorables y en la parcela de caoba había daños recientes. En las trampas, y principalmente en las Unitrap, cayeron especímenes de varias familias de insectos, entre ellos algunos pirálidos, lo cual ocurrió de manera fortuita o quizás porque algunos componentes también son parte de su feromona.

Los compuestos evaluados se seleccionaron con base en las capturas (unos 35 machos) obtenidas en Tapachula, México, con la mezcla de Z9-14Ac y Z9-E12-14Ac en una proporción de 1:1 y colocando 1 mg de esta combinación en la septa (Hilje *et al.* 2002). Sin embargo, la ausencia de capturas de *H. grandella* posiblemente obedeció a que los machos no son muy atraídos por combinaciones binarias, sino por combinaciones terciarias. Bosson y Gallois (1982) mencionan que *H. robusta* fue capturada con combinaciones binarias [Z9-E12-14OAc + Z11-16OAc], en una proporción de 1:0.5, pero las capturas aumentaron con mezclas terciarias, a una concentración de 0.5 mg (Macías 2001). Algo análogo fue observado por Evenden *et al.* (2000) en *Choristoneura rosaceana* (Tortricidae).

Otra posibilidad pudo ser que los compuestos evaluados no hayan sido los más activos para *H. grandella* procedente de esta región. Por ejemplo, en especímenes de Cuba se encontró el compuesto Z3-16Ac [(Z)-3-hexadecenyl acetato], que no se ha hallado en especímenes de otros países (Borek *et al.* 1991, citado por Macías 2001). También se han observado diferencias en los compuestos feromonales entre poblaciones de *H. robusta*,

posiblemente debido a que algunas veces las poblaciones distan grandemente una de otras, lo cual puede causar variación en los compuestos o sus proporciones (Bellas 2001).

Sin embargo, Effraim (1997) logró identificar como antenalmente activos al Z9-14OH, Z9-E12-14OH y Z9-E12-14OAc, en especímenes de Costa Rica, y evaluó los compuestos individualmente y en combinaciones, para probarlos en el campo en Costa Rica, pero obtuvo capturas mínimas. De igual manera, Hilje *et al.* (2002) obtuvieron capturas en Tapachula, México, aunque un poco bajas, pero no en Costa Rica, aun cuando había presencia de daño en la parcela de cedro, e incluso se habían liberado 85 machos.

Fue llamativo que en extractos glandulares de especímenes de México se obtuvo solamente el Z9-14OH, mientras que en emanaciones volátiles se identificó al Z9-E12-14Ac, Z9-14Ac y un compuesto nuevo, el E-(11)-tetradecenyl acetato (presente únicamente en 12 hembras vírgenes). Pero al extraer los compuestos de hembras de Costa Rica hubo algunas diferencias, ya que en extractos glandulares se obtuvo al Z9-14Ac y un compuesto nuevo, el E/Zx-12Ac (cuya estructura exacta y la posición del doble enlace no fue determinada), pero no se realizó extracción por emanaciones volátiles. No obstante, se evaluó la actividad antenal con machos provenientes de Costa Rica frente al Z9-E12-14OH, Z9-14OH, Z9-E12-14Ac y Z9-14Ac, con resultados positivos, pero sin determinar cuáles compuestos fueron realmente activos feromonalmente.

No obstante, en México, los compuestos sí capturaron machos, aunque en cantidades bajas (1-6 machos), y se determinó que el Z9-14Ac y Z9-E12-14Ac fueron los que más los atrajeron. A pesar de ello, Hilje *et al.* (2002) afirman que aunque la combinación de Z9-14Ac y Z9-E12-14Ac permitió capturar machos, dicha mezcla no parece ser lo suficientemente atractiva.

La selectividad entre especies de insectos en la naturaleza, depende de combinaciones apropiadas mediante mezclas de compuestos con una única composición. Por esto, es muy importante conocer cuál es el principal atrayente o repelente al momento de utilizarlos para el manejo de plagas, y también es importante determinar en sus antenas cuáles son los receptores selectivos para estos componentes (Norin 2001). Quero *et al.* (1996) reportaron que en *Spodoptera littoralis* hay seis componentes feromonales, de los cuales el Z9-11E-14Ac es el que causa mayor respuesta de atracción en los machos. Además en su antena se observaron dos tipos de sensillas fisiológicamente importantes.

La sensilla más común contenía una neurona que respondió específicamente a este componente activo, y la otra sensilla tenía dos receptores neuronales que respondían al componente Z9-14OH; no se encontraron neuronas sensibles a los demás componentes menos activos.

Es imprescindible que al utilizar atrayentes feromonales para el combate de una plaga, se conozca la mezcla de compuestos adecuada, ya que alteraciones menores de la composición feromonal pueden inhibir el efecto de atracción (Grant *et al.* 1990, Norin 2001). Esto fue corroborado por Huang *et al.* (1998), cuando analizaron la combinación feromonal de *Ostrinia zaguliaevi* (Pyralidae) por los métodos de cromatografía de gases y electroantenogramas (GC-EAD), espectrometría de masas (MS-GC) y una serie de experimentos en túnel de vuelo. En pruebas de EAG con extractos glandulares de la hembra, encontraron cuatro componentes activos, pero en experimentos de túnel de vuelo evaluaron mezclas terciarias, las cuales inducían las mismas respuestas en los machos que con hembras vírgenes; ellos notaron que al remover un compuesto de esta mezcla disminuyó la respuesta de los machos. También observaron que al añadir a esta combinación terciaria el cuarto compuesto, no hubo efecto en los machos, por lo que la mezcla activa o atrayente de esta especie es una combinación terciaria, de Z9-14OAc, E11-14OAc y Z11-14OAc, en una proporción de 45:5:50, respectivamente.

Por ello, es importante conocer los posibles efectos ya sean sinergistas o inhibitorios de las combinaciones feromonales, a fin de encontrar trampas atrayentes que sean económicas y eficientes. Además, no se puede obviar el papel que juega la concentración y la dosis de estos compuestos dentro del sistema de manipulación de una plaga. Mafra-Neto y Baker (1996) encontraron que machos de *C. cautella* volaron hacia septas que contenían 50 y 500 ng de la feromona, pero no hacia las que contenían 5 y 50 µg. Finalmente, Koch *et al.* (2002) recomiendan conocer la temperatura, la humedad y la velocidad del viento específica a las cuales se expondrá el dispensador feromonal en el campo, para que su formulación sea adecuada a esas condiciones ambientales.

Un caso interesante posiblemente pudo ser lo que ocurrió en este estudio, es el reportado por Davis *et al.* (1993). Al realizar pruebas con trampas para machos de *Hulstia undulatella* (Pyralidae), aquellas con solamente Z9-14Ac lograron algunas capturas, y al combinar Z9-14Ac + Z9-14OH no se incrementaron las capturas, pero al combinar Z9-14Ac + Z11-16Ac éstas se anularon. Sin embargo, al mezclar los tres compuestos, las

capturas incrementaron en siete veces, determinándose que la combinación correcta para el monitoreo de esta especie es una septa que contenga Z9-14Ac (200 µg) + Z9-14OH (16 µg) + Z11-16Ac (42 µg). De igual manera, con la feromona de *Agrotis ipsilon* (Noctuidae), se notó que una mezcla terciaria superó en cinco veces las capturas con mezclas binarias (Gemeno y Haynes 1998).

Es posible también que el causante de la atracción de *H. grandella* sea solamente un componente activo, que necesite estar presente en las combinaciones, o algún compuesto menor que juega un papel clave en la atracción, y que aún no ha sido identificado y caracterizado, lo cual podría lograrse con equipo muy refinado y moderno, inexistente actualmente en Costa Rica (Cam Oehlschager 2003, ChemTica Int., com. pers).

En términos aplicados, el comportamiento del insecto puede ser alterado por la concentración de las feromonas y la cantidad utilizada por hectárea. Serrano *et al.* (1998) documentaron la ausencia de capturas en las trampas (posiblemente por confusión sexual) al utilizar 100, 70 y 45 septas, pero no al colocar 10 y 25 septas por hectárea, por lo que sugieren que a mayor distancia entre cada trampa, menor será el riesgo de que ocurra confusión sexual.

Finalmente, el diseño de las trampas y/o el color (Mitchell *et al.* 1989), pueden ser otros factores que posiblemente afecten la respuesta del macho, ya que algunas trampas suelen ser un poco cerradas, lo que dificulta el paso del viento para dispersar eficientemente la feromona. Rocchinni *et al.* (2003) aseguran que el comportamiento de vuelo del insecto puede determinar el tipo de trampa eficiente para su especie. Esto sin olvidar el papel importante que juega la combinación feromonal, ya que muchos machos pueden llegar a la trampa y revolotear en ella sin ser capturados, debido a la incompleta composición de la feromona (Holloway *et al.* 1977, citado en Rocchinni *et al.* 2003).

En pruebas en un túnel de vuelo, los machos de *Heliothis subflexa* (Noctuidae) no fueron atraídos a combinaciones terciarias en las cuales faltaba el Z9-16Al o Z11-16OH, e inclusive observaron que los machos eran tan sensibles al Z11-16OH, que respondían a cantidades pequeñas (10 ng) de este compuesto (Vickers 2002). Esto coincide con los hallazgos de Roelofs (1978), quien notó que una mínima concentración de la feromona apropiada para determinada especie, es suficiente para inducir respuestas en los machos.

Rocchini *et al.* (2003) evaluaron en campo dos modelos de trampas (Unitrap y Wingtrap) y distintas concentraciones feromonales, en *Synanthedon novoensis* (Sesiidae), sin encontrar diferencias significativas entre los diseños de trampas, pero sí entre las concentraciones de la feromona. También Malo *et al.* (2001) evaluaron diferentes diseños de trampas y atrayentes de distintas compañías para capturar machos de *S. frugiperda* (Noctuidae), y encontraron interacciones entre la trampa y el cebo, concluyendo que las trampas Delta con el cebo de ChemTica capturaron más machos.

Otros autores sugieren que el color del sustrato utilizado para liberar la feromona puede influir en la atracción de los machos. En *Plutella xylostella* (Plutellidae), una mayor cantidad de machos fueron capturados con mezclas feromonales depositados en una septa gris que en una roja (Mayer y Mitchell 1999).

En años previos, se han desarrollado otras tácticas de manejo, aunados a la técnica de atrayentes feromonales. Esta toma fuerza al reconocer que el mayor daño en las plantas es causado por las hembras al colocar sus huevos, por lo que se podría combinar el atrayente feromonal con un compuesto volátil atrayente de hembras, y de esta manera capturar ambos sexos, lo cual ejercería un impacto mayor en las generaciones subsecuentes de la plaga (Foster y Harris 1997, Meagher y Mitchell 1999, Bruce *et al.* 2002). Otra opción es atraer machos hacia feromonas sexuales cercanas a una fuente que contenga patógenos y de esta manera facilitar el contacto del adulto, para que posteriormente sea diseminado en su población, causando un efecto directo en la plaga (Foster y Harris 1997).

8. CONCLUSIONES

?? Los adultos de *Hypsipyla grandella* no fueron repelidos por ninguna de las sustancias evaluadas, en el campo ni en el laboratorio, pero se desconoce si fue por factores biológicos o logísticos.

?? Las combinaciones binarias de los dos compuestos feromonales más promisorios de *H. grandella* no ejercieron atracción alguna sobre los machos de esta especie, lo cual sugiere que falta algún componente crítico para la atracción.

9. RECOMENDACIONES

- ?? Realizar evaluaciones en laboratorio con posibles sustancias repelentes que hayan sido utilizados en la misma familia de insectos en este caso Pyralidae, para posteriormente evaluarlos en campo durante los meses en que se dan los picos poblacionales de *H. grandella*.

- ?? Evaluar las sustancias con posible actividad repelente en una plantación de cedro o caoba nueva y homogénea (con árboles de una misma edad y procedencia).

- ?? Revisar cuidadosamente los brotes antes de colocar los dispositivos de liberación controlada, para cerciorarse de que no tuvieran huevos o larvas de primer instar.

- ?? Colocar los dispositivos de liberación controlada al menos una semana antes del pico de abundancia de *H. grandella*.

- ?? En las evaluaciones en el túnel de vuelo, trabajar con hembras copuladas, y al finalizar cada experimento disectarlas para confirmar que copularon, y así poder determinar el grado de oviposición en función del número de hembras copuladas.

- ?? Profundizar los estudios sobre la composición feromonal de *H. grandella*, para determinar todos los componentes activos, así como las proporciones a las cuales ejercería una atracción fuerte sobre los machos.

- ?? Realizar evaluaciones en el campo y el laboratorio con mezclas terciarias de los componentes feromonales, a diferentes concentraciones.

- ?? Utilizar plantaciones y trampas que permitan la circulación del aire por todos sus costados, para una eficiente diseminación de los repelentes o los atrayentes.

- ?? Identificar cuales son los compuestos en *Toona ciliata* que causan la muerte de las larvas de *H. grandella*.

- ?? Identificar cuales son los compuestos en *Cedrela odorata* que ejercen una fuerte atracción sobre hembras de *H. grandella*, y cómo evitar que sean detectados por ella.

- ?? Continuar estudios en plantaciones mixtas, buscando aquellas plantas que son hospedantes de depredadores de *H. grandella*, en control biológico, en insecticidas sistémicos y en injertos de *Cedrela odorata* sobre patrones de *Toona ciliata*, como medidas de control de *H. grandella*.

10. LITERATURA CITADA

- AERTS, R; MORDUE, J. 1997. Feeding deterrence and toxicity of neem triterpenoids. *Journal of Chemical Ecology*, 23(9): 2117-2132.
- ALLAN, G; GARA, R; WILKINS, R.1970. The evaluation of some systemic insecticides for the control of larvae in *Cedrela odorata* L. *In* Grijpma, P. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication No. 101. v.1, p. 40-48
- ANGOSTHINO, S; DA SILVA, F; FERNANDES, J; VIERA, P; VILELA, A. 1994. Limonoids from *Toona ciliata* and speculations on their chemosystematic and ecological significance. *Biochemical systematics and ecology*, 22(3): 323-332.
- ARCE BENAVIDES, H. 1998. Comments on species profiles for Costa Rica. UNEP World Conservation Monitoring Centre. 2001. http://www.unep-wcmc.org/species/tree_study/americas/esp/2-22.htm. Vistada el 14 de abril del 2003.
- ARN, H; TOTH, M; PRIESNER, E. 1992. List of sex pheromone of Lepidoptera and related attractants. Segunda edicion, Switzerland : OILB/IOBC-WPRS. 179p.
- BARQUERO, M. 2000. País destruyó bosques de caoba. *La Nación*, San José, CR, oct.23: 40A.
- BAKKE, A; LIE, R. 1989. Mass trapping. *In* Justum, A. R. & R. F. S. Gordon (eds.). *Insect pheromone in plant protection*. WILEY, Chichester. p 67-87.
- BECKER, V.O. 1976. Microlepidópteros asociados con *Carapa*, *Cedrela* y *Swietenia* en Costa Rica. *In* Whitmore, J.L. ed. *Studies on the shootborer Hypsipyla grandella*

- (Zeller). Lep. Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication No. 101. v. 2, p. 75-101.
- BECKER, V.O. 1973. Microlepidopteros asociados con *Carapa*, *Cedrela* y *Swietenia* en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA. 108p.
- BELLAS, T. 2001. Semiochemicals of *Hypsiphyla* shoot borers. CSIRO Project. Informe 2001.p 16-117.
- BERNASCONI, M; TURLINGS, T; AMBROSETTI, L; BASSETTI, P; DORN, S. 1998. Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 87: 133-142.
- BERRIOS, M; GARCIA, A; MENENDEZ, J; ECHEVARRIA, E; VALDES, H.1987. Prueba de insecticidas quimicos en el control del taladrador de las meliaceas *Hypsiphyla grandella* en vivero. Revista Forestal Baracoa, 17: 7-16.
- BIRKETT, M; CHAMBERLAIN, K; GUERRIERI, E; PICKETT, J; WAGHAMS, L; YASUDA, T. 2003. Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. Journal of Chemical Ecology, 29(7): 1589-1600.
- BOREK, V; KALINOVA, B; VALTEROVA, I; HOCHMUT, R; VRKOC, J. 1991. Sex pheromone gland volatiles from *Hypsiphyla grandella* females (Lepidoptera, Pyralidae, Phycitinae). Acta Entom. Bohemoslavaca, 88: 181-186.
- BOSSON, G; GALLOIS, M. 1982. Analyze de la sécrétion phéromonale émise par les femelles vierges de la Mineuse des pousses de l'Acajou: *Hypsiphyla robusta* (Moore) (Lepidoptera: Pyralidae). C.R. Acad. Sc. Ser. III. Paris, VIE 294: 819-822.
- BOWERS, W; ARGULLIN, M. 1987. Discovery and identification of an antijuvenile hormone from *Chrysanthemum coronarium*. Proceedings of the International Symposium on Insect Physiology, Biochemistry and Control. Rio de Janeiro, Brasil, 10-13 Noviembre 1987.

- BRUCE, T; CORK, A. 2001. Electrophysiological and behavioural responses of female *Helicoverpa armigera* to compounds identified in flowers of African marigold, *Tagetes erecta*. *Journal of Chemical Ecology*, 27(6): 1119-1131.
- BRUCE, T; CORK, A; HALL, D; DUNKELBLUM, E. 2002. Laboratory and field evaluation of floral odours from African marigold, *Tagetes erecta*, and sweet pea, *Lathyrus odoratus*, as kairomones for the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *IOBC wprs Bulletin*, 25(*): s.p.
- BYERS, J. 2002. Internet programs for drawing moth pheromone analogs and searching literature database. *Journal of Chemical Ecology*, 28(4): 807-817.
- CAMPION, D; CRITHLEY, B; McVEIGH, L. 1989. Mating disruption. *In* Justum, A. R. & R. F. S. Gordon (eds.). *Insect pheromone in plant protection*. WILEY, Chichester. p 89-119.
- CARTER, M; FEENY, P. 2002. Host plant chemistry influences oviposition choice of the spicebush swallowtail butterfly. *International Society of Chemical Ecology*, 19th Annual meeting. University of Hamburg, Germany. August 3-7, 2002.
- CHAMPAGNE, D; KOUL, O; ISMAN, M; SCUDDER, G; TOWERS, G. 1992. Biological activity of limonoids from the rutales. *Phytochemistry*, 31: 377-394.
- CIBRIAN, D; MENDEZ, J. T; CAMPOS, R; YATES III, H. O; FLORES, J. E. 1995. *Insectos forestales de México*. Universidad Autónoma de Chapingo-Comisión Forestal de América del Norte (COFAN). Publ. No. 6. 453 p.
- CINTRÓN, B. 1990. *Cedrela odorata* L. Cedro hembra, Spanish cedar. *En*: Burns, Russell M.; Honkala, Barbara H., eds. *Silvics of North America: 2. Hardwoods*. Agric. Handb. 654. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 250-257.
- CITES, 2001. Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestre. Undécima reunión del comité de flora Langkawi, Malasia, 3-7 sept 2001. 12p.

- CUNNINGHAM, S; FLOYD, R. 2002. Differences in terpenoid chemistry associated with different rates of *Hypsiphyla robusta* damage to *Toona ciliata*. Insect resistance and silvicultural control of the shoot borer, *Hypsiphyla robusta*, feeding on species of Meliaceae in the Asia-Pacific region. ACIAR Project. Final report. 158-
- CUNNINGHAM, S; FLOYD, R. 2002. Leaf compositional differences predict variation in *Hypsiphyla robusta* damage to *Toona ciliata* in field trials. Insect resistance and silvicultural control of the shoot borer, *Hypsiphyla robusta*, feeding on species of Meliaceae in the Asia-Pacific region. ACIAR Project. Final Report. 141-147.
- DA SILVA, F; ANGOSTHINO, S; DE PAULA, J; NETO, J; CASTRO, I; RODRIGUES, E; FERNANDES, J; VIEIRA, P. 1999. Chemistry of *Toona ciliata* and *Cedrela odorata* grafo (Meliaceae): chemosystematic and ecological significance. Pure Appl. Chem. 71(6): 1083-1087.
- DAVIS, H; McDONOUGH, L; CHAPMAN, P; SMITHHSLER, C; BROWERS, D; VOERMAN, S. 1993. Sugar beet crown borer, *Hulstia undulatella* (Clemes): Identification and field tests of female sex pheromone gland components. Journal of Chemical Ecology, 19(3): 433-440.
- DE PAULA, J; VIEIRA, I; DA SILVA, M; RODIGUES, E; FERNANDES, J; VIEIRA, P; PINHEIRO, A; VILELA, E. 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsiphyla grandella*. Phytochemistry, 44 (8): 1449-1454.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. CAB International, United Kingdom. p. 604.
- DETHIER, A. 1947. Chemical insect attractants and repellents. The Maple Press Company, E.U. 289 p.
- DICKENS, J; BILLINGS, R; PAYNE, T. 1992. Green leaf volatiles interrupt aggregation pheromone response in bark beetles infesting southern pines. Experientia, 48: 523-525.

- DOUROJEANNI, R. 1963. El barrenado de los brotes (*Hypsiphyla grandella*) en cedro y caoba. *Agronomía-Perú*, 30 (1): 35-43.
- DUARTE, A; MENENDEZ, J; LUJAN, M. 1988. Susceptibilidad de las larvas de *Hypsiphyla grandella* (Lepidoptera: Phycitidae) a biopreparados de *Metarrizhium anisoplae* en condiciones de laboratorio. *Revista Forestal Baracoa*, 18: 71-79.
- DUBBEL, V. 1992. The effectiveness of pine oil as a repellent against the striped ambrosia beetle *Trypodendron lineatum* (Coleoptera: Scolytidae). *J. Appl. Entomol.*, 114(1): 91-97.
- EFFRAIM, N. 1997. Biology, economic impact and potential for semiochemical-based control of Mahogany shootborer, *Hypsiphyla robusta* (Moore) (Lepidoptera: Pyralidae), african rhinoceros beetle, *Oryctes monoceros* (Oliver) (Coleoptera: Scarabaeidae) and maize weevil, *sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). M.P.M. Professional Paper, Simon Fraser University, Canada.
- EIGENBRODE, S; BERNAYS, E. 1997. Evaluation of factors affecting host plant selection, with an emphasis on studying behaviour. *In* Dent, D.R. and Walton, M.P. (eds.). *Methods in ecological and agricultural entomology*. CAB International. Wallingford. P 147-169.
- EIRAS, A. 2000. Calling behaviour and evaluation of sex pheromone glands extract of *Neoleucinodes elegantis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) in wind tunnel. *An. Soc. Entomol. Brasil*, 29(3): 453-460.
- EVENDEN, M; JUDD, G; BORDEN, J. 2000. Investigations of mechanisms of pheromone communication disruption of *choristoneura rosaceana* (Harris) in a wind tunnel. *Journal Insect Behavior*, 13(4): 499-510.
- FADAMIRO, H. 1996. Influence of stimulus dose and wind speed on the orientation behavior of *Prostephanus truncates* (Coleoptera: Bostrichidae) to pheromone. *Bulletin of Entomological Research*, 86: 659-665.

- FASORANTI, J; GARA, R; GEISZLER, D. 1985. Laboratory studies on the flight capacity of the mahogany shoot borer, *Hypsiphyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). Z. fur. Anger. Entomol., 93: 182-186.
- FOSTER, S; HARRIS, M. 1997. Behavioral manipulation methods for insect pest-management. Annu. Rev. Entomol., 42:123-146.
- FRA, 2000. Global Forest Resources Assessment. Main Report. FAO Forestry Paper 140. 237p. <http://www.fao.org/forestry/fo/fra/main/index.jsp>. Visitada el 09 de octubre del 2003.
- GARA, R; ALLAN, G; WILKINS, R; WHITMORE, J. Comportamiento en vuelo y seleccion de hospedero del barrenador de las meliaceas, *Hypsiphyla grandella* ZELLER (Lepidoptera, Phycitidae). *In*: Whitmore J (ed.). 1976. Studies in shootborer *Hypsiphyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. 138p. vol. 2.
- GEMENO, C; HAYNES, K. 1998. Chemical and behavioral evidence for a third pheromone component in a North American population of the black cutworm moth, *Agrotis ipsilon*. Journal of Chemical Ecology, 24(6): 999-1010.
- GOVINDACHARI, T; SURESH, B; BANUMATHY, B; MASILAMANI, S; GOPALAKRISHNAN, G; KRISHNA, G. 1999. Antifungal activity of some B, D-seco limonoids from two meliaceous plants. Journal of Chemical Ecology, 25: 923-933.
- GRANT, G. 1991. Development and use of pheromones for monitoring lepidopteran forest defoliators in North America. Forest Ecology and Management. 39: 153-162.
- GRANT, G; KATOVICH, S.; HALL, D; LOMBARDO, D; ALESSOR, K. 1993. Sex pheromone identification and trapping of *Doryctria resinosella* (Lepidoptera: Pyralidae). Env. Entomol. 22(1): 154-161.
- GROOT, A; TIMMER, R; GORT, G; LELYVEL D; DRIJFHOUT, F; VAN BEEK, T; VISSER, J. 1999. Sex-related perception of insect and plant volatiles in *Lygocoris pabulinus*. Journal of Chemical Ecology, 25(10): 2357-2371.

- GRIJPMA, P; ROBERTS, S.C. 1976. Biological and chemical screening for the basis of resistance of *Toona ciliata* M. J. Roem. var. *australis*. **In** Whitmore, J. L. ed. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Costa Rica.. IICA Misc. Publ. No. 101. v. 2, p. 102-109.
- GRIJPMA, P. 1974. Contribution to integrated control programme of *Hypsipyla grandella* (Zeller) in Costa Rica. Ph.D. Dissertation. The Netherlands, University of Wageningen. 147p.
- _____, P. (ed.). 1973. Studies on the shoot borer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication. No. 101. v. 1, 91p.
- _____, P; RAMALHO, R. 1973. *Toona* spp., posibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las Meliaceae en América Latina. **In** Grijpma, P. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. IICA Misc. Publ. No. 101. v 1, p. 3-17.
- _____, P; RAMALHO, R. 1969. *Toona* spp., posibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las meliáceas en América Latina. Turrialba 19(4): 531-547.
- _____,P; GARA, R. 1970. Studies on the shoot borer *Hypsipyla grandella* (Zeller). I. Host selection behaviour. Turrialba, 20(2): 233-240.
- HARCOURT, C; SAYER, J. (eds.). 1996. The conservation atlas of tropical forests: the Americas. Simon & Schuster, Singapore.
- HARDIE, J; ISAACS, R; PICKETT, J.A; WADHAMS, L.J; WOODCOCK, C.M. 1994. Methyl salicylate and (-)-(1R,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae). Journal of Chemical Ecology, 20 (11): 2847-2855.

- HAYNES, K; BAKER, T. 1989. An analysis of anemotactic flight in female moths stimulated by host odour and comparison with the male's response to sex pheromone. *Physiol. Entomol.* 14: 279-289.
- HIDALGO-SALVATIERRA, O. 1973. Determinación del sexo en pupas. *In* Grijpma, P. (ed). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San Jose, Costa Rica. IICA miscellaneous Publication N° 101. v.1. 49-60.
- HIDALGO-SALVATIERRA, O. 1976. Control de *Hypsipyla grandella* (Zeller) por métodos microbiológicos. En: J.L. Whitmore (ed.) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. Vol. III. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- HILJE, L; OEHLISCHLAGER, C; MACIAS, J.2002. Desarrollo comercial de la feromona sexual de *Hypsipyla grandella*: Informe final. CATIE. 14p.
- HILJE, L. 2001. Prácticas agrícolas, control biológico y criterios de decisión para el manejo de plagas. *In* 5 semana científica (Turrialba, Costa Rica). Memoria. p. 71-90.
- HILJE, L; CORNELIUS, J. 2001. Es inmanejable *Hypsipyla grandella* como plaga?. Revista Manejo Integrado de Plagas N° 38: i – iv pp.
- HOCHMUT, R. 1981. Métodos silviculturales para la protección de las meliaceas contra el ataque del barrenador *Hypsipyla grandella*. Boletín de Reseñas Forestales. N° 1. La Habana. 19p.
- HOLSTEN, E. 1977. Mating behavior of the mahogany shootborer, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), in Costa Rica. Ph.D. Thesis. Seattle, University of Washington. 146 p.
- HOLSTEN, E; GARA, R. 1974. Attraction and ovipositional response of *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera:Pyralidae) in Costa Rica. *Zenschrift fur angewandte Entomologie*, 75: 645-653.

- HOWARD, F. 1991 Seasonal incidence of shoot infestation by mahogany shoot borer (Lepidoptera: Phycidae) in Florida. Florida Entomologist, 74: 150-151.
- HUANG, Y; HONDA, H; YOSHIYASU, Y; HOSHIZAKI, S; TATSUKI, S; ISHIKAWA, Y. 1998. Sex pheromone of the butterbur borer, *Ostrinia zaguliaevi*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 89: 281-287.
- HUBER, D; BORDEN, J. 2001. Protection of lodgepole pines from mass attack by mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae*, with nonhost angiosperm volatiles and verbenone. Entomologia Experimentalis et Applicata, 92: 131-141.
- HUBER, D; BORDEN, J. 2001. Angiosperm bark volatiles disrupt response of Douglas-fir beetle, *Dendroctonus pseudotsugae*, to attractant-baited traps. Journal of Chemical Ecology, 27(2): 217-223.
- ITTO. 1995. Elements for the annual review and assessment of the world tropical timber situation. International Tropical Timber Organization (ITTO).
- ITTO. 1997. Annual review and assessment of the world tropical timber situation 1996. International Tropical Timber Organization (ITTO).
- JACKUS, R; DUDOVA, A. 1999. Experimental use of aggregation and anti-aggregation pheromones against the spruce bark beetle (*Ips typographus*) in decaying spruce stands with a lower level of canopy closure. Journal of Forest Science (Prague), 45: 525-532.
- JAMES, D. 2003. Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: Methyl Salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. Journal of Chemical Ecology, 29(7): 1601-1609.
- JANTAN, I; ZAKI, Z 1998. Development of environment-friendly insect repellents from the leaf oils of selected Malaysian plants. ASEAN Review of biodiversity and environments conservation (ARBEC). Article VI. p. 7.

- JAYASEKARA, T; STEVENSON, P; BELMAIN, S; FARMAN, D; HALL, D. 2002. Identification of methyl salicylate as the principal volatile component in the methanol extract of root bark of *Securidaca longepedunculata* Fers. *Journal of Mass Spectrometry*, 37: 577-580.
- JIMENEZ, F. 1994. Resumen acumulado de datos agroclimáticos. CATIE., Costa Rica. s.p. (Mimeografiado).
- JORDAN, M. 2001. Brasil asesta un hachazo al tráfico ilegal de caoba. *The Wall Street Journal Americas*. La Nación, San José, CR, nov. 20: 30A
- JUTSUM, A; GORDON, R. 1989. *Insect pheromones in plant protection*. WILEY. Chichester. p. 369.
- JUX, A; KOCH, T; PIEL, J; BOLAND, W. 2002. Cellulysin is a high molecular elicitor of plant volatile biosynthesis. *International Society of Chemical Ecology*, 19th Annual meeting. University of Hamburg, Germany. August 3-7, 2002.
- KETTLER, R; FISCHER, S; STORTKUHL, K; HOVEMANN, B. 2002. Odor perception: from specificity to behaviour. 9th Regional *Drosophila* spp. Meeting. 21-22 June 2002. Ruhr-univeritat Bochum. p. 24.
- KOCH, U; QUASTHOFF, M; KLEMM, M; BECKER, J. 2002. Methods for reliable measurement of pheromone dispenser performance. *IOBC wprs Bulletin* 25 (*): s.p.
- KOUL, O; SHANKAR, J; MEHTA, N; TANEJA, S; TRIPATHI, A; DHAR, K. 1997. Bioefficacy of crude extracts of *Aglaia* species (Meliaceae) and some active fractions against lepidopteran larvae. *J. Appl. Ent.*, 121: 245-248.
- KOUL, O. 1992. *Neem allelochemicals and insect control*. *In: Allelopathy: basic and applied aspects*. Rizvi, S. and Rizvi, R. London: Chapman and Hall, p.389-412.

- KOUL, O; ISMAN, M. 1992. Toxicity of the limonoid allelochemical cedrelone to noctuid larvae. *Entomologica experimentalis et applicata*, 64: 281-287.
- MACIAS, J. 2001. Interacciones químicas entre *H. grandella* y sus plantas hospedantes. Costa Rica. *Revista Manejo Integrado de Plagas*, 60: 15-21.
- MAFRA-NETO, A; BAKER, T. 1996. Elevation of pheromone response threshold in almond moth males pre-exposed to pheromone spray. *Physiological Entomology*, 21: 217-222.
- MAIA, B; DE PAULA, J; SANTANA, j; DA SILVA, F; FERNADES, J; VIEIRA, P; COSTA, M; OHASHI, O; SILVA, J. 2000. Essential oils of *Toona* and *Cedrela* species (Meliaceae): Taxonomic and ecological implications. *J. Braz. Chem. Soc.*, 11(6): 629-639.
- MALO, E; MEDINA, N; VIRGEN, A; CRUZ, L; ROJAS, J. 2002. Electroantennogram and field responses of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) to plant volatiles and sex pheromone. *Folia Entomologica Mexicana*, 41(3): 329-338.
- MALO, E; CRUZ, L; VALLE, J; VIRGEN, A; SANCHEZ, J; ROJAS J. 2001. Evaluation of comercial pheromone lures and traps for monitoring male fall armyworm (Lepidoptera. Noctuidae) in the coastal region of Chiapas, México. *Florida Entomologist*, 84(4): 659-664.
- MANCEBO, F; HILJE, L; MORA, G; CASTRO, V; SALAZAR, R. 2001. Biological activity of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) and *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Revista de Biología Tropical*, 49 (2): 501-508.
- MANCEBO, F; HILJE, L; MORA, G; SALAZAR, R. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. *Revista Manejo Integrado*, 55: 12-23.
- MATEUS, E; FARRAL, H; ZHANG, Q; PAIVA, R. 2002. Relationship between the attack level by the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* and volatile monoterpene

composition for twelve pine species. International Society of Chemical Ecology, 19th Annual meeting. University of Hamburg, Germany. August 3-7, 2002.

MATTHEWS, M. 1991. Classification of the Heliothinae, Bulletin N° 44. Natural Resources Institute, Chatham Maritime.

MATTHEWS, R; MATTHEWS, J. 1978. Insect behavior. New York. WILEY. p. 507.

MAYER, M; MITCHELL, MITCHELL, E. 1999. Differences between attractive diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), sex pheromone lures are not determinable through analysis of emissions. Agric. Forest. Entomol., 1: 229-236.

MEAGHER, R; MITCHELL, E. 1999. Nontarget hymenoptera collected in pheromone and synthetic floral volatile-baited traps. Environ. Entomol., 28: 367-371.

MILLER, J; ROELOTS, W. 1977. Sustained-flight túnel for measuring insect responses to wind-borne sex pheromones. Journal of Chemical Ecology, 4(2): 187-198.

MITCHELL, E; AGEE, H; HEATH, R. 1989. Influence of pheromone trap color and design on the capture of male velvetbean caterpillar and fall armyworm moths (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Chemical ecology, 15: 1775-1784.

MO, J; TANTON, T. 1996. Diel activity pattern and effects of wind on the mating success of cedar tip moth, *Hypsipyla robusta* Moore (Lepidoptera. Pyralidae). Australian Forestry, 59(1): 42-45.

MONTI, L; LALANNE-CASSOU, B; LUCAS, P; MALOSSE, C; SILVAIN, J. 1995. Differences in sex pheromone communication systems of closely related species: *Spodoptera latifascia* (Walker) and *S. descoinsi* Lalanne-Cassou & Silvain (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Chemical Ecology, 21(5): 641-659.

- MOURA, I; VILELA, E; FERREIRA, J. 1998. Una trampa con feromona para el control de *Rhynchophorus palmarum* en palma africana. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 50: 55-59.
- MOZURAITIS, R, STRADEN, M; RAMIREZ, M; BROG-KARLSON, A; MUSTAPARTA, H. 2002. (-)-Germacrene D increases attraction and oviposition by the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. Chem. Senses, 27: 505-509.
- MWANGI, J; ADDAE-MENSAH, I; MURIUKI, G; MUNAVU, R; LWANDE, W; HASSANALI, A. 1992. Essential oils of Lippia species in Kenya. iv. Maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellancy and larvicidal activity. International Journal of Pharmacognosy, 30 (1): 9-16.
- NEWTON, A; CORNELIUS, J; MESEN, J; COREA, E; WATT, A. 1998. Variation in attack by the mahogany shoot borer, *Hypsiphyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae), in relation to host growth and phenology. Bull. Entomol. Res., 88: 319-326.
- NEWTON, A; BAKER, P; RAMNARINE, S; MESEN, J. F; LEAKEY, R.R.B. 1993. The mahogany shoot borer: Prospects for control. Forest Ecology and Management, 57: 301-328.
- NORIN, T. 2001. Pheromones and kairomones for control of pest insects. Some current results from a Swedish research program. Pure Appl. Chem., 7(3): 607-612.
- NORRIS, D. 1990. Repellents. *In* Morgan, E.; Mandava, N. eds. CRC Handbook of natural pesticides. V.6. Insect attractants and repellents. Boca Raton, Florida, CRC Press. p. 135-149.
- OIIMELUKWE, P; ADLER, C. 2002. Potentials of cinnamaldehyde and methylchavicol as grain protectants against four insect pests of stored products. Working group "integrated protection in stored products", proceedings of the meeting in Lisbon (Portugal), 3-5-september, 2001. Adler, C; Navarro, S; Scholler, M; Stengard-Hansen, L. IOBC/wprs Bulletin vol. 25 (3): 147-152.

- OMURA, H; HONDA, K; HAYASHI, N. 1999. Chemical and chromatic bases for preferential visiting by the cabbage butterfly, *Pieris rapae* to rape flowers. *Journal of Chemical Ecology*, 25(8): 1895-1906.
- PATIÑO, F. 1997. Recursos genéticos de *Swietenia* y *Cedrela* en los neotropicos: Propuestas para acciones coordinadas. Roma, Italia, FAO. p.58.
- PEREZ, M; VILLALOBOS, M. 1999. Efectos del aceite esencial de inflorescencias de *Chrysanthemum coronarium* L. en mosca blanca y plagas de almacén. *Prod. Prot. Veg.*, 14 (1-2): 249-258.
- PICKETT, J; WADHAMS, L; WOODCOCK, C; HARDIE, J. 1992. The chemical ecology of aphids. *Annu. Rev. Entomol.*, 37: 67-90.
- PILLMOOR, J; WRIGHT, K; TERRY, A. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical ecology. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 64: 149-156.
- QUERO, C; LUCA, P; RENO, M; GUERRERO, A. 1996. Behavioral responses of *Spodoptera littoralis* males to sex pheromone components and virgin females in wind tunnel. *Journal of Chemical Ecology*, 22(6): 1087-1101.
- RAMÍREZ-SANCHEZ, J. 1964. Investigación preliminar sobre biología, ecología y control de *Hypsipyla grandella* (Zeller). *Boletín del Instituto Forestal Latino Americano de Investigación y Capacitación* 16: 54-77.
- RENWICK, J. 1990. Oviposition stimulants and deterrents. *In* Morgan, E.; Mandava, N. eds. *CRC handbook of natural pesticides. Insect attractants and repellents*. Boca Ratón, Florida, CRC Press. p. 151-160.
- ROCCHINI, L; LINDGREN, B; BENNET, R. 2003. Douglas-fir pitch moth, *Synanthedon novaroensis* (Lepidoptera: Sesiidae) in North-Central British Columbia: flight period and the effect of trap type and pheromone dosage on trap catches. *Environmental Entomology*, 32(1): 208-213.

- ROELOFS, W. 1978. Threshold hypothesis for pheromone perception. *Journal of chemical ecology*, 4: 685-699.
- ROOVERS, M. 1971. Observaciones sobre el ciclo de vida de *Hypsipyla grandella* Zéller en Barinitas, Venezuela. *Boletín Instituto Forestal Latino Americano de Investigación y Capacitación*. No 38: 3-46.
- ROSTELIEN, T; BORG-KARLSON, A; FALDT, J; JACOBSSON, U; MUSTAPARTA, H. 2000. The plant sesquiterpene germacrene D specifically activates a major type of antennal receptor neuron of the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. *Chem. Senses*, 25: 141-148.
- SAMANIEGO, A; STERRINGA, J. T. 1976. Un nuevo método para obtener oviposición en cautividad. *In* Whitmore, J. L. (ed.). *Studies on the shootborer Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication. No. 101. v. 2, p. 47-49
- SANCHEZ MONSALVO, V; VELASQUEZ ESTRADA, C. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller), barrenador de brotes de las meliaceas. *Revista Ciencia Forestal en México*, vol. 23 N° 83: 33-39.
- SCHOONHOVEN, L; JERMY, T; VAN LOON, J. 1998. *Insect-plant biology: from physiology to evolution*. Chapman & Hall: New York. 623p.
- SCHOONHOVEN, L. 1990. Host-marking pheromones in Lepidoptera, with special reference to two *Pieris* spp. *Journal of chemical ecology*, 16: 3043-3052.
- SCHOONHOVEN, L.M. 1982. Biological aspects of antifeedants. *Entomologia experimentalis et applicata*, 31:57-69.
- SCHOONHOVEN, L.M. 1980. Perception of Azadirachtin by some lepidopterous larvae. *In* Schumetter, H.; Ascher, K.; Rembold, H. ed. *Natural pesticides from neem tree (Azadirachta indica A. Juss)*. Eschborn, Germany, GTZ. p. 105-108.

- SERRANO, C; GIL, M; ALFARO, F. 1998. Ensayo de eficacia de diferentes concentraciones de feromona en el control por confusión sexual de *Chilo suppressalis* Walter (Lepidoptera: Pyralidae). Boletín de sanidad vegetal-plagas, España, 24(4): 841-848.
- SLIWA, D; BECKER, V. 1976. Observations on emergence and mating of adult in captivity. *In* Whitmore, J. L. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication. No 101. v. 2, p. 42-46.
- SMART, L; BLIGHT, M. 2000. Response of the pollen beetle, *Meligethes aeneus*, to traps baited with volatiles from oilseed rape, *Brassica napus*. Journal of Chemical Ecology, 26(4): 1051-1064.
- SOON, L; BOTTRELL, D. 1994. Neem pesticides in rice: potencial and limitations. Manila, Philippines, IRRI. 69p.
- SOTO, F. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Zeller) y su sistemicidad en arboles de cedro. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 104P.
- TAVERAS, R. 1999. Aspectos bioecológicos y caracterización del daño de *Hypsipyla grandella* (Zeller) en caoba, en Turrialba, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 83p.
- TAYLOR, F. 1981. Ecology and evolution of physiological time in insects. American Naturalist 117: 1-23.
- TEAL, P; HEATH, R; DUEBEN, B; COFFELT, J; VICK, K. 1995. Production and release of (Z,E)-9,12-tetradecadienal by sex pheromone glands of females of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Chemical Ecology, 21(6): 787-798.

- TILLMANS, H. 1964. Apuntes bibliográficos sobre *Hypsipyla grandella* (Zeller). Boletín Instituto Forestal Latino Americano de Investigación y Capacitación. No. 14: 82-92.
- TINGLE, F; MITCHELL, E; HEATH, R. 1990. Preferences of mated *Heliothis virescens* and *Heliothis subflexa* females for host and nonhost volatiles in a flight tunnel. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 2889-2898.
- TURLINGS, T; GOUINGUENE, S; DEGEN, T. 2002. Factors that determine variability in herbivore-induced odor emissions in corn plants. International Society of Chemical Ecology, 19th Annual meeting. University of Hamburg, Germany. August 3-7, 2002.
- UDAYAGIRI, S; JONES, R. 1993. Variation in flight response of the specialist parasitoid *Macrocentrus grandii* Goidanich to odours from food plants of its European corn borer host. *Entomological Experimentalis et Applicata*, 69: 183-193.
- UNNITHAN, G; SAXENA, K. 1990. Diversion of oviposition by *Atherigona soccata* (Diptera: Muscidae) to nonhost maize with sorghum seedling extract. *Environmental Entomology*, 19: 1432-1437.
- VAN POECKE, R; POSTHUMUS M; DICKE, M. 2001. Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula*: chemical, behavioral, and gene-expression analysis. *Journal of chemical ecology*, 27(10): 1911-1928.
- VARGAS, C; SHANNON, P; TAVERAS, R; SOTO, F; HILJE, L. 2001. Un Nuevo método para la cría masiva de *Hypsipyla grandella*. *Manejo Integrado de Plagas* No. 62: i-iv.
- VICKERS, N. 2002. Defining a synthetic pheromone blend attractive to male *Heliothis subflexa* under wind tunnel conditions. *Journal of Chemical Ecology*, 28(6): 1255-1267.
- VRKOVCA, P; KINDL, J; VRKOC, J; KOUTEK, B. 2002. Induction of isoprenoid volatile synthesis during oak bark beetle *Scolytus intricatus* maturation feeding.

International Society of Chemical Ecology, 19th Annual meeting. University of Hamburg, Germany. August 3-7, 2002.

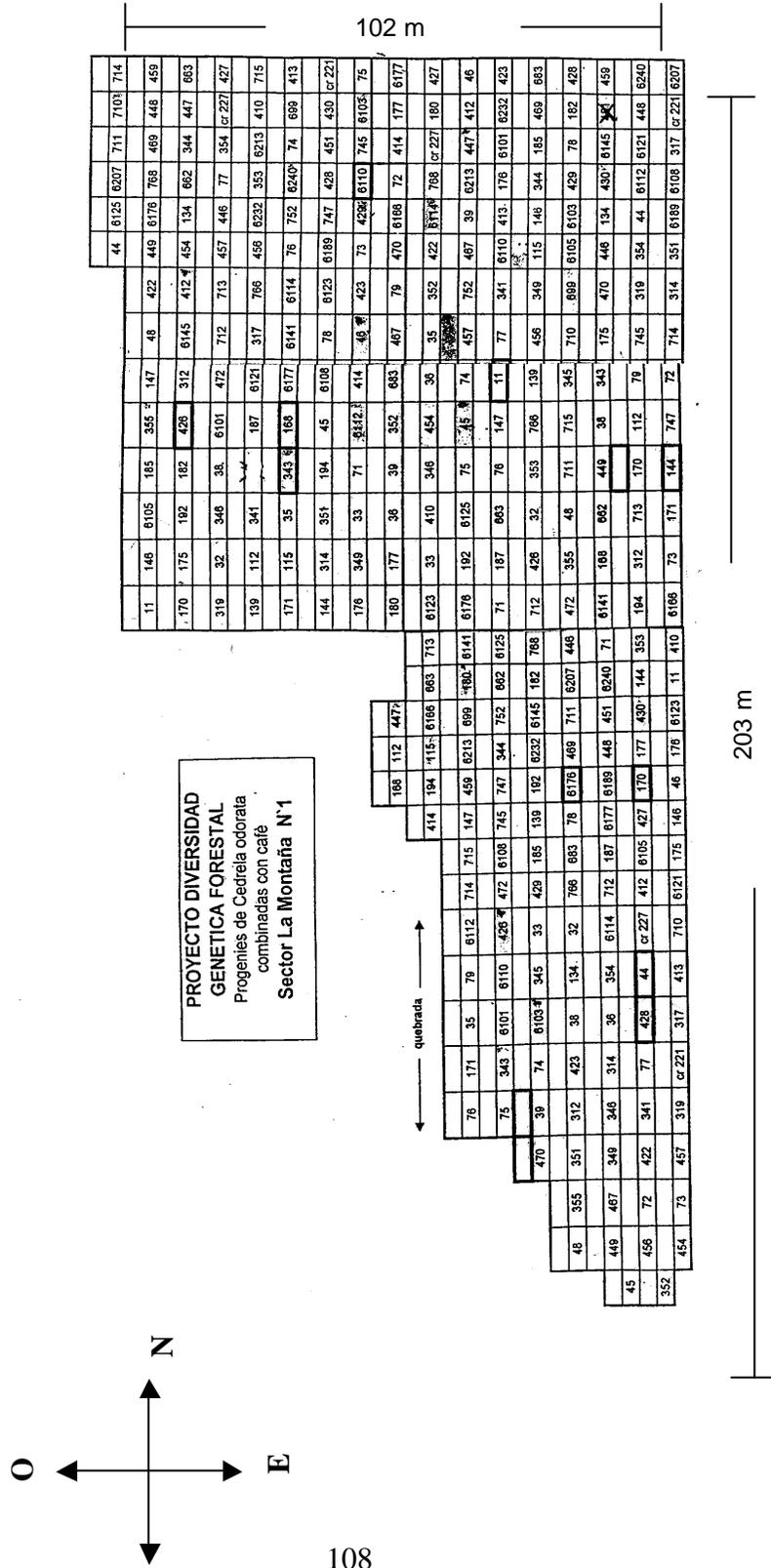
- WALL, R. 1989. Sexual responses of males of *Glossina morsitans* Westwood and *G. pallipides* Austen (Diptera: Glossinidae) to traps and targets in the field. *Bulletin Entomological Research*, 79(2): 335-345.
- WARTHEN, J.D. 1990. Part A: Insect feeding deterrents (1976-1980). *In* Morgan, E.D. and Mandava, N.B., (eds.) *CRC Handbook of natural pesticides*, V. 6 : Insect attractants and repellents. Boca Ratón, Florida, CRC Press. p. 23-134.
- WILKINS, R; ALLAN, G; GARA, R. 1976. Protection of Spanish cedar with controlled release insecticides. *In*: Whitmore, J. L. (ed.). *Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae.* San José, Costa Rica. IICA Miscellaneous Publication. No 101. v.3, p. 63-70.
- WIMALARATNE, P, SLESSOR, K; BORDEN, J, CHONG, L; ABATE, T. 1996. Isolation and identification of house fly *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinus molle* L. *Journal of Chemical Ecology*, 22 (1): 49-59.
- WHITMORE, J.L. ed. 1976. *Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep., Pyralidae.* Costa Rica. IICA Misc. Publ. No 101. v.2, 139p.
- YAMAMOTO, R; JENKINS, R; McCLUSKY, R. 1969. Factors determining the selection of plants for oviposition by the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Entomol. Exp. Appl.* 12: 504-508.
- YAMAZAKI, S; TAKETANI, A; FUJITA, K; VASQUES, C; IKEDA, T. 1990. Ecology of *Hypsipyla grandella* and its seasonal changes in population density in Peruvian Amazon forest. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 24: 149-155.
- YAN, F; BENGTSSON, M; WITZGALL, P. 1999. Behavioral response of female codling moths, *Cydia pomonella*, to apple volatiles. *Journal of chemical ecology*, 25(6): 1343-1351.

- YOUNGMAN, R; BAKER, T. 1989. Host odor mediated response of female navel orangeworm moths (Lepidoptera: Pyralidae) to black and white sticky traps. *Journal of economic entomology*, 82(5): 1339-1343.
- ZHANG, H; SCHLYTER, F; ANDERSON, P. 1999. Green leaf volatiles interrupt pheromone response of spruce bark beetle, *Ips typographus*. *Journal of Chemical Ecology*, 25(12): 2847-2861.
- ZHU, B; HENDERSON, G; CHEN, F; HUIXIN, F; LAINE, R. 2001. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the Formosan subterranean termite. *Journal of Chemical Ecology*, 27(8): 1617-1625.

11. ANEXOS

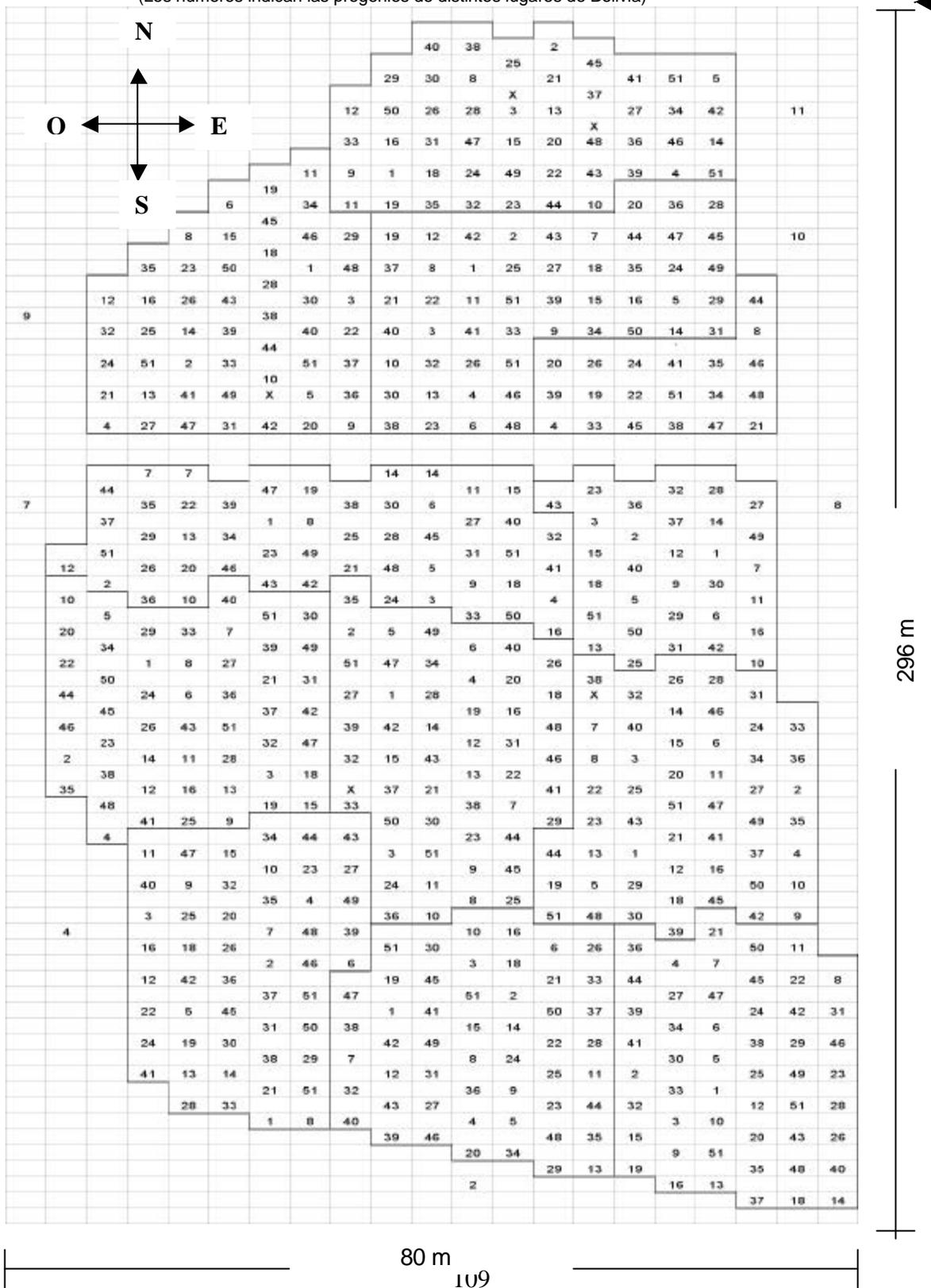
Anexo 1. Croquis de la plantación de cedro en la Estación experimental "La Montaña". CATIE, Turrialba, Costa Rica

Los números indican las progenies de distintos países como: México, Guatemala, Honduras, Costa Rica y Panamá.



Anexo 2. Croquis de la pl ∞ ión de caoba en la estación experimental "La Montaña".
 CATIE, Turrialba, Cos ∞ a.

(Los números indican las progenies de distintos lugares de Bolivia)



80 m
 109

296 m

Anexo 3. Estructuras químicas de los compuestos feromonales utilizados en la plantación de caoba en la estación experimental "La Montaña". CATIE, Turrialba, Costa Rica.



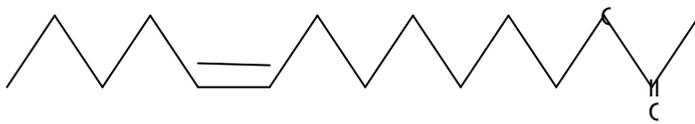
Z9-E12-14Ac



Z9-E12-14OH



Z9-14OH



Z9-14Ac

*Fuente: web www-pherolist.slu.se/index.html

Anexo 4. Análisis de la varianza para la variable huevos depositados por hembra, en los experimentos en el túnel de vuelo.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	310.79	4	77.70	0.67	0.6547
Tratamiento	310.79	4	77.70	0.67	0.6247
Error	1747.25	15	116.48		
Total	2058.04	19			

Anexo 5. Análisis de la varianza para la variable transformada “huevos depositados por hembra”, en los experimentos en el túnel de vuelo.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	60.12	4	15.03	15.03	< 0.0001
Tratamiento	60.12	4	15.03	15.03	< 0.0001
Error	15.00	15	1.00		
Total	75.12	19			

Anexo 6. Prueba de Duncan (0.05) para la variable “huevos depositados por hembra”, en los experimentos en el túnel de vuelo.

Tratamiento	Medias	n	Significancia
Alcohol bencílico	1.16	4	A
Cinamaldehído	1.28	4	A
Lavándula	1.73	4	A
Salicilato de metilo	1.75	4	A
Testigo	5.78	4	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p = 0,05$)

Anexo 7. Análisis de la varianza para la variable adultos posados en la malla, en los experimentos de túnel de vuelo.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.80	59	0.05	1.70	0.0071
Horas	0.56	8	0.07	2.53	0.0140
Repetición	0.19	3	0.06	2.22	0.0894
Tratamiento	0.38	4	0.10	3.47	0.0339
Trat * Rep	0.42	15	0.03	0.99	0.4654
Horas * Trat	1.04	32	0.03	1.17	0.2680
Error	3.34	120	0.03		
Total	6.14	179			

Anexo 8. Prueba de LSD Fisher (0,05) para la variable “total de adultos posados” en cada tratamiento, en los experimentos en el túnel de vuelo.

Tratamiento	Medias	n	
Alcohol bencílico	0.31	36	A
Salicilato de metilo	0.33	36	AB
Testigo	0.37	36	ABC
Cinamaldehído	0.41	36	BC
Lavándula	0.44	36	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Anexo 9. Prueba de LSD Fisher (0,05) para la variable “total de adultos posados” en diferentes períodos, en los experimentos en el túnel de vuelo.

Horas	Medias	n	
36.	0.27	20	A
38	0.33	20	AB
16	0.34	20	AB
14	0.36	20	AB
40	0.37	20	AB
60	0.39	20	BC
62	0.40	20	BC
12	0.41	20	BC
64	0.48	20	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Anexo 10. Promedio de la humedad relativa (%) y de la temperatura (°C), de cada experimento en el túnel de vuelo.

	Humedad relativa máxima	Humedad relativa mínima	Temperatura máxima	Temperatura mínima
Alcohol bencílico				
1	84.7	75.6	27.0	25.0
2	84.5	70.0	27.0	24.5
3	85.0	70.0	27.0	24.5
4	81.0	71.0	27.0	24.3
Cinamaldehído				
1	82.3	70.0	27.0	25.0
2	85.3	67.0	26.0	25.0
3	76.7	67.5	26.5	25.0
4	86.3	65.5	25.8	24.8
Lavándula				
1	84.3	62.5	27.0	24.2
2	86.5	71.0	26.5	24.0
3	87.3	67.5	27.0	24.7
4	88.3	71.5	27.5	24.9
Salicilato de metilo				
1	84.0	68.5	25.3	25.0
2	87.1	68.0	26.5	25.0
3	79.7	68.4	26.8	24.8
4	87.1	70.0	25.4	25.2
Testigo				
1	85.6	75.0	27.0	24.5
2	86.3	75.0	27.2	25.0
3	83.7	67.5	25.5	25.0
4	85.7	70.0	26.6	24.7

$$X_{\text{máx.}} = \text{SHR}_{1:00\text{pm}} / 2\text{días} \quad X_{\text{mín.}} = \text{SHR}_{5:00\text{am}} / 3\text{días}$$

$$X_{\text{máx.}} = \text{ST}^{\circ}_{1:00\text{pm}} / 2\text{días} \quad X_{\text{mín.}} = \text{ST}^{\circ}_{5:00\text{am}} / 3\text{días}$$