



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL**

Evaluación de la efectividad biológica de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) en el control de gallina ciega *Phyllophaga obsoleta* B. (Coleoptera: Melolonthidae).



TESIS

DIRECCION GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL**

PRESENTA:

CHAVERO JARAMILLO JESÚS

CHAPINGO, MEX. JUNIO DE 2009



Evaluación de la efectividad biológica de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Seteinermatiae) en el control de gallina ciega *Phyllophaga obsoleta* B. (Coleoptera: Melolonthidae).

Tesis realizada por **JESÚS CHAVERO JARAMILLO** bajo la dirección del Dr. Samuel Ramírez Alarcón, aprobada por el comité asesor indicado, y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

DIRECTOR:



Dr. Samuel Ramírez Alarcón

ASESOR:



Dr. Víctor Manuel Pinto

ASESOR:



M. C. Jarquín Antonio Nieto

DEDICATORIA:

Una vez más me encuentro redactando esta dedicatoria a las personas más importantes de mi vida, que me hacen sentir un hombre muy afortunado y por ello ser feliz cuando la adversidad se hace sentir, gracias por todo:

A MIS PADRES:

Bertha Jaramillo Arreaga y Agustín Chavero Chávez

A MI HERMANO:

Fermin

Con toda mi gratitud y cariño, por que son la mejor familia que alguien puede tener. Los quiero mucho!!!

A LA FAMILIA:

Chavez Jaramillo

En agradecimiento por todo su apoyo ayer, hoy y siempre... Los quiero mucho!!!!

A MIS PRIMOS:

Oscar y Lupita

Gracias por su amabilidad y por su gran apoyo

DEDICATORIA

A MIS ABUELITOS:

Cleofas Jaramillo e Ignacia Arteaga

Bartolo Chavero y Anita Chávez (q.e.p.d)

Fuente de sabiduría y cariño. gracias por todo

A:



Mary

Gracias por todo ese cariño, por todos esos dulces momentos, por todo tu apoyo y por ser como eres. TE QUIERO MUCHO

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) que a través del financiamiento hacen posible estudios de maestría y doctorado en México y el extranjero

Al departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por formar a los mejores profesionales de la protección vegetal en México

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT), por el financiamiento otorgado para la culminación de este trabajo y por el apoyo a la generación de conocimiento científico en el estado de México

AL Dr. Samuel Ramírez-Alarcón por la gran disposición y apoyo, que me brindo cuando las cosas estuvieron difíciles

Al Dr. Víctor Manuel Pinto por mantener esa confianza en mi persona y por el apoyo y disposición para lograr sacar este trabajo adelante

Al M.C. Jarquín Antonio Nieto por ser un gran amigo y su apoyo en todo momento

A Mary secretaria de la coordinación de posgrado, por todo su gran apoyo administrativo y por su gran paciencia

DATOS BIOGRÁFICOS



Jesús Chavero Jaramillo nació en el Municipio de Nopala de Villagrán Hidalgo, el 25 de diciembre de 1981, realizó su educación básica en la localidad del Jagüey Hgo. y media superior en Nopala de Villagrán, Hgo. en el año de 1999 es aceptado para cursar el curso pre-universitario en la Universidad Autónoma Chapingo para un año después ingresar al Departamento de Fitotecnia, donde en 2004 se gradúa y obtiene el título de: Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia con una mención especial por el trabajo de tesis: CONTROL QUIMICO *In vitro* DE LA BACTERIOSIS DEL MAÍZ (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), mas tarde en el año 2006, es aceptado en el programa de posgrado en Protección Vegetal donde obtiene el Grado de Maestro en Ciencias.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 El género <i>Steinernema</i>	4
2.1.1 Morfología y taxonomía.....	4
2.1.2 Ciclo de vida y biología.....	6
2.1.3 Asociación simbiótica.....	7
2.1.4 Producción.....	9
2.1.5 Formulación.....	11
2.1.6 Almacenamiento y transporte.....	12
2.1.7 Productos comerciales.....	13
2.1.8 Métodos de aplicación.....	15
2.1.9 Rango de huéspedes.....	15
2.1.10 Factores que afectan su eficacia en campo.....	18
2.1.11 Impacto ambiental del uso de NEP's.....	22
2.2 Generalidades de <i>Phyllophaga</i> Harris, 1896.....	24
2.2.1 Taxonomía y nomenclatura.....	24
2.2.2 Distribución.....	25
2.2.3 Importancia y Daños.....	25
2.2.4 Hábitos.....	27
2.2.5 Biología.....	27

2.2.6 Control	29
2.3 Descripción de <i>Phyllophaga obsoleta</i> B.	33
2.3.1 Huevo	33
2.3.2 Larva	33
2.3.3 Pupa.....	33
2.3.4 Adulto	34
3. METODOLOGÍA Y MATERIALES	35
3.1 Localización del sitio experimental	35
3.2 Producto comercial.....	35
3.3 Métodos de aplicación de tratamientos	35
3.4 Distribución de tratamientos y diseño experimental.....	36
3.5 Evaluación y muestreo.	37
3.6 Método de evaluación de la afectividad biológica.....	38
3.7 Análisis estadístico	39
3.8 Análisis físico-químico del suelo.....	39
3.9 Identificación de especies colectadas.....	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1 Preevaluación.....	41
4.2 Evaluación 2	42
4.3 Evaluación 3	44
4.4 Evaluación 4	45
4.5 Especie de <i>Phyllophaga</i> identificada	48
4.6 Características físico-químicas del suelo.....	51
5. CONCLUSIONES	52
6. LITERATURA CITADA	53
7. APENDICE	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1	Tamaño de diferentes especies de Steinernematidos.....	5
2	Especies del genero <i>Steinernema</i> y especies de bacteria simbiótica del genero <i>Xenorhabdus</i>	9
3	Formulación y métodos de aplicación de nematodos entomopatógenos (steinernematidos y herorabditidos).....	12
4	Productos disponibles en el mercado a base de NEP's del genero <i>Steinernema</i>	14
5	Equipos y sistemas usados en la aplicación de nematodos entomopatógenos (Steinernematidos y Herorhabditidos).....	15
6	Eficacia en campo de <i>Steinernema</i> spp. sobre larvas de varias especies de insectos.	16
7	Dosis de ingredientes activos mas comúnmente utilizados en el control de gallina ciega (<i>Phyllophaga</i> spp.).	30
8	Distribución espacial de tratamientos en campo.	37
9	Número de larvas vivas de <i>Phyllophaga obsoleta</i> B. por kilogramo de suelo. Preevaluacion, septiembre 20 del 2008. Zamora, Michoacán.....	42
10	Número de larvas vivas de <i>P. obsoleta</i> por kilogramo de suelo. Segunda evaluación a los 7 días después de aplicados los tratamientos. Zamora, Michoacán.	43
11	Número de larvas vivas de <i>P. obsoleta</i> B. por kilogramo de suelo Tercera evaluación a los 14 días después de aplicación de tratamientos. Zamora, Michoacán.....	45

12	Número de larvas vivas de <i>P. obsoleta</i> B. por kilogramo de suelo Tercera evaluación a los 14 días después de aplicación de tratamientos. Zamora, Michoacán.....	46
13	Concentrado de datos: Número de larvas por kilogramo de suelo y porcentajes de eficacia, de todos los muestres realizados en el lote experimental en Zamora, Michoacán del 20 de septiembre al 11 de octubre de 2008.	47
14	Características físicas y químicas del suelo donde se aplico <i>S. carpocapsae</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Micrografía de <i>S. carpocapsae</i>	5
2	Ciclo biológico de Heterorhabditidae y Steinernematidae.....	7
3	Factores bióticos y abióticos que afectan la eficacia de los NEP's a nivel de campo.	18
4	Ciclo biológico anual de <i>Phyllophaga</i> spp.....	29
5	A) Larva normal obtenida del lote testigo absoluto, B) Larva parasitada por NEP's, obtenida de los lotes donde se aplico <i>S. carpocapsae</i>	44
6	Porcentaje de eficacia en cada una de las tres evaluaciones para cada uno de los tratamientos.	48
7	Principales características de <i>P. obsoleta</i> B. A). - Epifaringe sin <i>proplegmatia</i> , B). - Vista frontal de la frente, C). - Raster, D). - Detalle de palidia mostrando cada uno de los <i>pali</i> , E). - Uña mesotarsal, F). - Ultimo artejo antenal con una área sensorial ovalada dorsal.	50

Evaluación de la efectividad biológica de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Seteinermatidae) en el control de gallina ciega *Phyllophaga obsoleta* B. (Coleoptera: Melolonthidae).

Field evaluation of biological effectiveness of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Seteinermatidae) for white grub suppression *Phyllophaga obsoleta* B. (Coleoptera: Melolonthidae).

Jesús Chavero Jaramillo y Samuel Ramírez Alarcón

RESUMEN

Se evaluó la efectividad biológica en campo del nematodo entomopatógeno: *Steinernema carpocapsae* formulado comercialmente, con el objetivo de tener una alternativa biológica en el control de la plaga gallina ciega. El experimento se estableció en un lote cultivado con fresa en Zamora, Michoacán, conducido bajo un diseño bloques al azar, evaluando cinco tratamientos y cuatro repeticiones por cada uno. Los tratamientos consistieron en tres dosis de *S. carpocapsae* a 15×10^5 , 25×10^5 , y 35×10^5 IJ/m², Furadan 5G como testigo regional y un testigo absoluto. La aplicación se realizó sobre las hileras del cultivo con una aspersora de mochila. Se realizó una evaluación previa y tres evaluaciones a los 7, 14 y 21 días después de las aplicaciones de tratamientos. La única variable evaluada fue: el número de larvas por kg. de suelo, esta se transformó para su análisis a la función Log₁₀(x+1), y se sometió a una prueba de comparación de medias (TUKEY $\alpha = 0.05$). La eficacia biológica se obtuvo mediante la ecuación de Abbott. En la evaluación previa, hubo una infestación de entre 0.27 y 0.33 larvas por kg. de suelo para la última evaluación (21 días después) los porcentajes de efectividad fueron del 100 % para la dosis 25×10^5 IJ/m², del 95.6 % para 15×10^5 IJ/m² y del 94.8 % para 35×10^5 IJ/m² y del 80.41% del testigo regional (Furadan 5G); todos comparados con el 0% del testigo absoluto. No se observaron efectos fitotóxicos al cultivo en todos los tratamientos.

Palabras clave: Control Biológico, Nematodos entomopatógenos, fresa.

¹Tesista

²Director de tesis

ABSTRACT

It was evaluated the biological effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* as a biological alternative on strawberries white grubs control, the experiment was carried out in a commercial strawberry lot in Zamora, Mich. Mexico. It was lead under complete randomized block design evaluating five treatments with four replications for each one; the treatments were three concentrations of *S. carpocapsae*: 15×10^5 , 25×10^5 , y 35×10^5 IJ/m² sprayed in the crop furrows; Furadan 5G and an absolute control were used to compare the effectiveness of the nematode based treatments. One evaluation was made before treatment application and three more were made at 7, 14, and 21 days after application, the variable evaluated was the number of white grubs larvae/kg. of soil, this one were transformed using the logarithmical function Log₁₀(x+1), and subjected to Tukey's test means (P= 0.05), the biological effectiveness were calculated by Abbott's equation. In the previous evaluation it found an infestation among 0.27 and 0.33 larvae/kg. of soil, and for the last evaluation (21 days later) the effectiveness were of 100 % for the 25×10^5 IJ/m² dose; 95.6 for the 15×10^5 and 94.8 for 35×10^5 IJ/m² compared with 80.41% from Furadan 5G and 0% from absolute control. The white grub specie were identify as *Phyllophaga obsoleta* B. For all treatments we not observed phytotoxic effects to strawberry crop.

Key Words: Biological control, Entomopathogenic nematodes, Strawberry.

1. INTRODUCCIÓN

El complejo de la gallina ciega que incluye los géneros *Phyllophaga*, *Cyclocephala* y *Anomala* (Coleoptera: Melolonthidae), junto con el gusano de la raíz *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) están considerados como plagas de importancia económica tanto en el cultivo del maíz como otros tantos, constituyen las plagas de mayor distribución en las aéreas cultivadas de la región centro del país (Marín, 2001).

El desarrollo larval de estos insectos se lleva a cabo en el suelo e inicia su actividad después de las primeras lluvias, durante este periodo se alimentan de las raíces de una gran variedad de cultivos hortícolas, granos básicos como el maíz, árboles frutales, malezas y materia orgánica (Morón, 1983).

Las larvas del género *Phyllophaga* spp. son insectos polípagos de importancia en cultivos como maíz, frijol, fresa, café, trigo, caña de azúcar, flores, frutales, papa, camote, hortalizas, arroz, pastos y en viveros forestales.

Los adultos de algunas especies de gallina ciega pueden también causar grandes daños al alimentarse de partes vegetales aéreas como: hojas, flores y frutos (Grewal *et al*, 2005)

En ocasiones, las larvas pueden ocasionar la muerte en algunos casos hasta del 50% de las plántulas, con la consecuente disminución en el rendimiento de las cosechas (Morón 1984).

Aunque en el cultivo de fresa no se ha evaluado las pérdidas que ocasiona la gallina ciega cuando se constituye como plaga, en otros cultivos como en el maíz llega a causar la muerte de hasta un 50 % de plántulas de maíz equivalente a una pérdida de 1300 kg/ha. (Ríos y Romero, 1982).

De todos los nematodos estudiados en el control biológico de insectos, los que se encuentran en la familia Steinernematidae y Heterorhabditidae son a

los que se ha enfocado el mayor interés, y la información generada en los últimos 20 años ha crecido exponencialmente en todo el mundo (Kaya y Gaugler, 1993), se caracterizan por tener un amplio rango de hospederos (Glauger, 1987), estos agentes de control biológico son semejantes a los parasitoides en que los inmaduros se desarrollan a expensas de un solo huésped, son ecológicamente similares a parasitoides y depredadores en que el hospedero eventualmente muere; sin embargo difieren de parasitoides y depredadores en que los nematodos entomopatógenos (NEP's) están mutualísticamente asociados con una bacteria patógena la cual mata al insecto huésped (Ehler, 1990).

Las larvas de gallina ciega son parasitadas por un gran número de especies de nematodos entomopatógenos (NEP's), los cuales han sido los más extensamente estudiados en el control de esta plaga (Pionar, 1979, Grewal *et al*, 2005), entre las especies más importantes se encuentran: *S. glaseri*, *S. kushiadai*, *S. anomalli*, *S. carpocapsae*, *S. scarabaei*, *Herorhabditis bacteriophora*, *H. indica*, *H. megidis* y *H. zealandica*, originalmente descritos y colectados infectando de manera natural a larvas de gallina ciega y otras especies de insectos (Grewal *et al*, 2005).

Los nematodos entomopatógenos, tienen ciertas ventajas sobre los insecticidas químicos; por ejemplo, estos organismos son ambientalmente seguros y aceptables, buscan activamente a su huésped; debido a esta característica han demostrado tener una alta capacidad en el control de insectos barrenadores y algunas plagas del suelo, son además seguros a vertebrados, vegetales y a otros organismos no huéspedes, son fácilmente aplicados utilizando equipos convencionales de aspersión, compatibles con diversos plaguicidas y son factibles de selección genética.

En México estos agentes de control biológico son poco conocidos y por lo tanto no han sido explotados en todo su potencial; el interés por su uso surge en los últimos años para utilizarlos contra insectos plaga del suelo y hábitats crípticos.

Debido a las preferencias alimenticias y a los hábitos crípticos de desarrollo de la gallina ciega el control mediante insecticidas químicos que se ha venido realizando ha sido pobre o poco eficiente; los productos aplicados no llegan a los sitios donde se alojan las gallinas ciegas, lo que dificulta su control y encarece los costos de producción, para el control de plagas del suelo en el cultivo de la fresa se requiere aplicar una gran cantidad de productos químicos, lo que trae como consecuencia una alta concentración de plaguicidas que rebasa los límites permisibles para exportación, residualidad en el ambiente y generación de resistencia al ingrediente activo, de ahí que surge la necesidad de contar con herramientas de manejo de plagas, que sean económicamente viables y amigables con el ambiente, en México el uso de nematodos entomopatógenos para el control de plagas se ha investigado a niveles meramente experimentales y no así a niveles comerciales debido a la poca o nula existencia en el mercado de productos comerciales formulados.

Con base en la información anterior se llevo acabo el presente trabajo bajo los objetivos siguientes:

- ☒ Evaluar la efectividad biológica del insecticida microbial "Ninja SC", en comparación con el testigo absoluto, en el control de gallina ciega (*Phyllophaga* sp.) en un lote cultivado con fresa (*Fragaria* sp.).
- ☒ Realizar una revisión bibliográfica para contribuir, al conocimiento de los nematodos entomopatógenos.

Hipótesis

H1. Al menos uno de los tratamientos a base de *S. carpocapsae* tendrá efecto positivo en el control de gallina ciega *Phyllophaga* spp.

H2. Las características físicas y químicas del suelo son determinantes en la efectividad biológica del nematodo entomopatógenos *S. carpocapsae*

2. REVISIÓN DE LITERATURA

El control biológico es definido como la acción de enemigos naturales (artrópodos depredadores, parasitoides y agentes microbiales) que mantienen las poblaciones de sus hospederos a niveles más bajos de los que podrían ocurrir en ausencia de estos enemigos naturales (Ehler, 1990).

Los NEP's contribuyen a la regulación de las poblaciones de insectos, pero el interés principal se enfoca en que pueden ser utilizados como agentes de control biológico en aplicaciones inundativas. El éxito de los NEP's se le atribuye a la capacidad de encontrar a su huésped y a la asociación letal con su bacteria simbiótica. (Griffin *et al* 2005)

2.1 El género *Steinernema*

2.1.1 Morfología y taxonomía

Steiner describió el primer steinernematido como *Aplectana krausseri*, aislado en Alemania en 1923, en 1927 Travassos acuñó un nuevo género, *Steinernema*, en 1929 Steiner formuló el género. *Neoaplectana* pero no aseveró diferencias claras para separar este género de *Steinernema* (Gaugler y Kaya, 1990).

La familia Steinernematidae esta ubicada dentro del phylum Nematoda, Clase Secernentea, Orden Rhabditida (Tanada y Kaya, 1993), contiene dos géneros, *Steinernema* y *Neosteinernema* de los cuales se han descrito 17 especies del primero y una del segundo (Nguyen y Smart, 1996).

S. carpocapsae fue descrita por Weiser en 1954, al mismo tiempo que Dutky y Hough reportaron especies similares colectadas en el este de los Estados Unidos (Poinar, 1979).

De acuerdo con Weiser los juveniles del primer estadio tienen una longitud de alrededor de 500 μm y los juveniles del segundo estadio tienen una

longitud por encima de las 500 μm y cuando llegan a su último estadio llegan a medir hasta 720 μm (Poinar, 1979).

Cuadro 1. Tamaño de diferentes especies de Steinernematidos

Especie	Tamaño (Largo x ancho) μm.
<i>S. carpocapsae</i>	438-650 x 20-30
<i>S. feltiae</i>	736-950 x 22-29
<i>S. glaseri</i>	864-1448 x 31-50
<i>S. riobravis</i>	561-701 x 26-30
<i>S. scapterisci</i>	517-609 x 18-30

Fuente: Modificado de Grewal y Georgis 1999.

El estado juvenil infectivo, (IJ3) posee las aperturas bucal y anal cerradas, esto es una adaptación morfológica que poseen estos nematodos para poder permanecer en el medio sin alimentarse durante periodos prolongados. La faringe y el intestino están colapsados, la cola termina en forma de punta, los campos laterales son diferentes, la forma y posición de los pliegues y estrías constituyen estos campos, en algunas micrográficas electrónicas, muestran que estos campos a la mitad del cuerpo consisten en seis costillas longitudinales (Poinar, 1979).

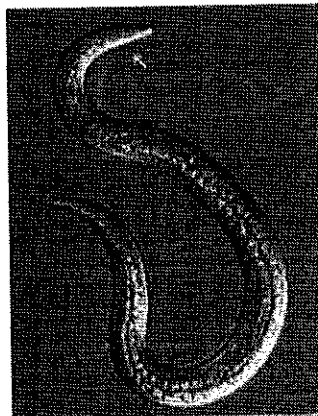


Figura 1. Micrografía de *S. carpocapsae*

Fuente: Tomada de Martens y Goodrich (2005)

2.1.2 Ciclo de vida y biología

La infección de steinernematidos es iniciada por el tercer estadio juvenil (J3) o juvenil infectivo, estos están adaptados para sobrevivir y buscar en el suelo a su huésped, algunas especies del género *Steinernema* buscan cerca o sobre la superficie del suelo y son poco móviles recibiendo el nombre de "Ambusher" (Alatorre Com. pers 2008).

Los estados infectivos al iniciar el proceso de búsqueda de un hospedero favorable se enfrentan a barreras que restringen su movimiento; el tipo de suelo, la humedad microambiental, juegan un papel importante el desplazamiento de los nematodos.

El ciclo de vida de *S. carpocapsae* inicia cuando se mueve a través de las películas de agua, alrededor de las partículas del suelo y activamente busca las larvas hospederas, una vez detectada la larva del insecto (Syngenta Agro, 2007), entra a su hospedero a través de aberturas naturales como la boca, espiráculos o el ano (Poinar, 1979). Una vez en el interior del cuerpo del insecto, los juveniles infectivos penetran al homocole a través de la pared del intestino medio o tráqueas, posteriormente el insecto es inoculado con las bacterias *Xenorhabdus* (*Steinernema*) o *Photorhabdus* (*Heterorhabditis*), la bacteria prolifera, causa la muerte del insecto por septicemia en 24 horas y establece condiciones favorables para la reproducción del nematodo (Georgis y Hage, 1991).

El ciclo de vida desde la infección del huésped por juveniles infectivos hasta el abandono del mismo por la nueva generación infectiva es entre 7 y 10 días (Kaya y Stimman, 1987). Dentro de un mismo huésped pueden ocurrir una o mas generaciones dependiendo de la disponibilidad de nutrientes y recursos (Griffin *et al*, 2005). El juvenil infectivo también es conocido como larva *dauer*, el cual está capacitado para permanecer y adaptarse en el ambiente por periodos prolongados de tiempo mientras encuentran insectos huéspedes (Woodring y Kaya, 1987).

La sobrevivencia de los NEP's en el suelo en ausencia de su huésped depende de la temperatura, humedad, tipo de suelo y enemigos naturales así de esta manera se tiene que *S. carpocapsae* sobrevive mejor en suelos arcillo-arenosos con baja humedad relativa (2-4%) (Kung *et al* 1990).

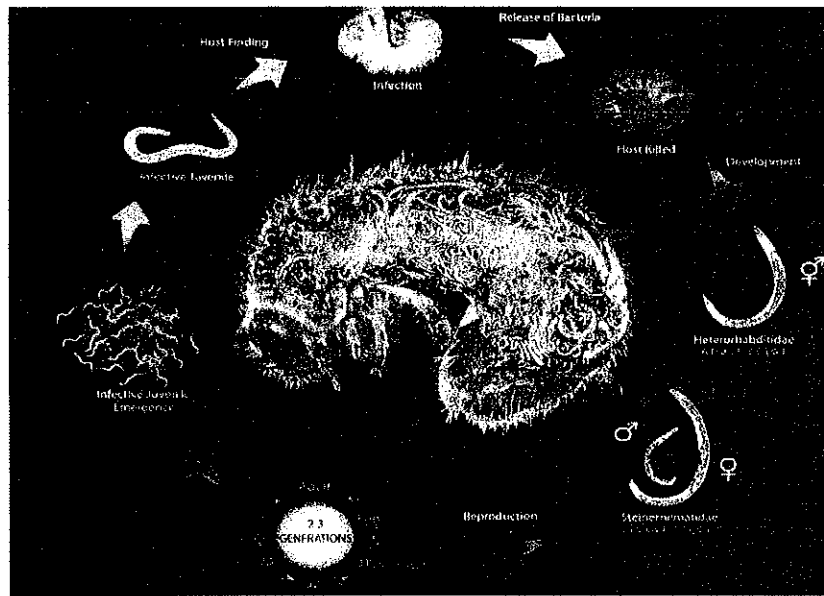


Figura 2. Ciclo de vida de Steinerneematidos y Heterorhabditidos

Fuente: xenorhabdus.danforthcenter.org/pix/fig1.jpg

2.1.3 Asociación simbiótica

El juvenil infectivo del tercer estadio posee en su tracto digestivo la bacteria *Xenorhabdus nemathopila*, esto fue descubierto por primera vez por Poinar en 1966 quien aseveró que esta bacteria estaba contenida en la región anterior del intestino del nematodo, en ese mismo año Thomas contribuyo significativamente al conocimiento del ciclo de vida de la bacteria y su asociación simbiótica con el juvenil infectivo (Martens y Goodrich, 2005).

En esta asociación el nematodo requiere de la bacteria (simbionte) para matar al insecto huésped, creando un ambiente favorable para su desarrollo mediante la producción de antibióticos que suprimen la competencia con microorganismos secundarios, además de que la bacteria degrada los

tejidos en nutrientes que son utilizados por el nematodo, mientras tanto que la bacteria necesita del nematodo para su protección del ambiente externo, para penetrar al interior del insecto, y muy posiblemente la inhibición de proteínas antibacteriales presentes en el hospedero (Kaya y Gaugler, 1993).

S. carpocapsae y su bacteria simbiótica parasitan varias especies de insectos los cuales matan y utilizan para su reproducción (Forst y Clarke, 2002 citado por Martens y Goodrich, 2005), al ser liberadas las células bacterianas en el interior del hospedero estas se propagan en el interior de la hemolinfa y lo matan por septicemia dentro de 48 horas (Kaya y Gaugler, 1993), la patogenicidad de la bacteria depende de su habilidad para entrar y reproducirse en la hemolinfa del insecto (Akurst y Boemare 1990), esta propiedad de la bacteria es conferida por los genes *nilA*, *nilB*, y *nilC* contenidos en su genoma (Cowles y Goodrich, 2008).

Cada especie de nematodo esta asociado con solo una especie de *Xenorhabdus* sin embargo una especie de *Xenorhabdus* puede estar asociada con más de una especie de nematodo, tal es el caso de *X. bovienii* (Kaya y Gaugler, 1993).

Estudios microscópicos realizados por Martens y Goodrich (2005) revelan que la eficiencia de *S. carpocapsae* para colonizar a sus huéspedes se centra en que *X. nematophila* se encuentra agrupada en dentro del intestino del nematodo en estructuras intravesiculares, estas no se encuentran unidas al intestino y son de forma esférica, el diámetro de estas estructuras varía entre 20 y 100 nm. (Puneet y Nirupama, 2003).

2.1.3.1 *Xenorhabdus nematophila* (*X. nematophilus*)

X. nematophila es una bacteria gram negativa, facultativamente anaeróbica, de forma alargada, no reduce nitratos a nitritos, difiere de otros miembros del genero en que no es luminiscente, y no posee actividad catalasa (Akhurst y Boemare 1990, Bradstreet 2004,), pertenece a la familia enterobacteriaceae dentro de esta familia se han descrito 5 especies (Kaya y Gaugler, 1993).

Cuadro 2. Especies del genero *Steinernema* y especies de bacteria simbiótica del genero *Xenorhabdus*

Genero	Especie	Especies del genero <i>Xenorhabdus</i>
Steinernema	<i>Affinis</i>	<i>Bovienii</i>
	<i>Anomali</i>	No descrita
	<i>Carpocapsae</i>	<i>nematophilus</i>
	<i>feltiae</i> (= <i>bibionis</i>)	<i>Bovienii</i>
	<i>Glaseri</i>	<i>Poinarii</i>
	<i>Intermedia</i>	<i>Bovienii</i>
	<i>Kushidai</i>	No descrita
	<i>Rara</i>	No descrita
	<i>Ritteri</i>	No descrita
	<i>Scapterisci</i>	No descrita
	No descrita	<i>Beddingii</i>

Fuente: Modificado de Kaya y Gaugler, 1993

2.1.4 Producción

La producción de nematodos entomopatógenos se ha desarrollado en los últimos 60 años, durante este periodo han sido generadas varias formas: por infección artificial de insectos (producción *In vivo*) o medios de cultivo artificiales (producción *In vitro*) (Friedman 1990), este último sistema ha sido el mas exitoso para la producción de NEP's a gran escala sin embargo sus costos de producción son elevados debido a los métodos y equipo que se utilizan (Kaya y Gaugler 1993).

2.1.4.1 Producción *In vivo*.

Estos métodos consisten en la inoculación, cosecha concentración y descontaminación, los insectos son inoculados con nematodos en cajas petri o en bandejas provistas de un sustrato absorbente después de 2 a 5 días, los insectos infectados son trasferidos a trampas blancas (cajas de cosecha), para ser cosechados y concentrados por gravedad o filtración (Ehlers y Shapiro 2005).

Las larvas de *Galleria mellonella* (Lepidóptera: Pyralidae) son frecuentemente las más utilizadas por la disponibilidad, facilidad de reproducción, susceptibilidad y por ser un excelente huésped de NEP`s. el promedio de producción usando a *G. mellonella* es de 30000 a 50000 juveniles infectivos por insecto (Woodring y Kaya 1988), en un estudio realizado por Molina *et al* (2004) se encontró que *Tenebrio molitor* y *Bombyx mori* son insectos que se pueden utilizar de manera alternativa para la producción de NEP`s.

2.1.4.2 Producción *In Vitro*

Existen diferentes metodologías para la producción masiva de NEP`s de estas la técnica más aceptada y utilizada es la desarrollada por Bedding (1981) en la cual utilizó como sustrato viseras de pollo sobre una esponja de poliéster-poliuretano. Aunque también se pueden usar diferentes medios de cultivo-agar sólidos contenidos en cajas petri, otro método usado a gran escala consiste en usar bolsas aireadas con una bomba para pecera y donde se inoculan aproximadamente 2000 juveniles/g. de medio, este sistema ha sido utilizado por compañías biotecnológicas como: Andermatt (Suiza), Bionema (Suecia), y Biologic (USA) (Ehlers y Shapiro, 2005).

También se pueden usar medios de cultivo sólidos, como los extractos de hígado crudo contenidos en frascos de vidrio y en constante agitación, o un sistema basado en un bioreactor que utiliza como medio liquido extractos de riñón animal y al ser inoculados los juveniles el bioreactor somete a

diferentes temperaturas y concentraciones de oxígeno, se pueden producir hasta 40000 juveniles/ml a cabo de 10 días (Ehlers y Shapiro, 2005).

2.1.5 Formulación

La formulación de productos a base de nematodos utiliza ingredientes que incluyen agentes biológicamente activos, arcillas, solventes, surfactantes, esponjas de poliéster-poliuretano, poliacril amidas formadoras de gel, capsulas y laminas de alginato (Georgis, 1990). Connick (1993), descubrió una nueva formulación granular hecha a base de harina de trigo, y otros aditivos en que los nematodos pueden ser aplicados si las condiciones de humedad en el suelo son idóneas, para evitar la deshidratación de los gránulos.

Los elementos inertes utilizados para formular algunos nematodos poseen propiedades que mejoran su manipulación, aplicación, persistencia y almacenamiento, estos inmovilizan o desecan parcialmente a los nematodos reduciendo su metabolismo y mejorando su tolerancia a condiciones extremas (Popiel y Hominick, 1992).

De manera generalizada se puede decir que la formulación se requiere para estabilizar un producto y mejorar su eficacia en campo, la formulación y almacenamiento de los NEP's, presenta diversos problemas en comparación con los ingredientes activos de los pesticidas de síntesis química, al tratarse de organismos vivos. (Georgis, 1990)

Para una correcta formulación de NEP's se requiere de conocer con exactitud los procesos involucrados en su producción, así como también la interacción del patógeno con plantas, insectos, otros invertebrados, mamíferos, suelo, aire y agua (Georgis 1990).

Cuadro 3. Formulación y métodos de aplicación de nematodos entomopatógenos (steinernematidos y herorabditidos)

Formulación	Métodos de aplicación
Capsulas de alignato	Capsulas en solución acuosa o dispersión de capsulas
Laminas de alignato	Aspersión acuosa después de las disolución del alignato
Cebos	Dispersión de cebos
Evaporetardantes	Aspersión acuosa
Poliacril amidas formadoras de gel	Aspersión acuosa de los nematodos extraídos
Laminas absorbentes	Trampas cebadas
Turba	Aspersión acuosa de los nematodos y turba
Espojas de poliéster-poliuretano	Aspersión acuosa de los nematodos extraídos
Vermiculita	Aspersión acuosa de los nematodos extraídos

Fuente: Georgis 1990.

2.1.6 Almacenamiento y transporte

Una vez producidos los juveniles infectivos se pueden transportar en una pasta semisólida en esponjas húmedas o algodón contenidos en hielo. El transporte en agua no se recomienda debido a que la aeración es mejor en algodón o esponjas húmedas (Woodring y Kaya 1988), bajo este supuesto se basan la mayoría de formulaciones comerciales que se pueden encontrar actualmente en el mercado.

En cuanto a la temperatura de almacenamiento, varía de acuerdo a la especie de nematodo de la que se trate, pero de manera general, la patogenicidad de steinernematidos se mantiene entre los 5 y 10 °C. (Georgis, 1990).

S. glaseri, *S. carpocapsae* y *S. arenarium* pueden sobrevivir hasta en un 95% de nematodos a temperaturas que estén dentro de los 8 a 20 °C ya que a temperaturas de 20 y 24 °C la sobrevivencia se reduce hasta el 78% (Acevedo *et al*, 2006).

2.1.7 Productos comerciales

El desarrollo de tecnologías para la producción masiva de NEP's ha permitido la disponibilidad en el mercado de varios productos a base de nematodos a precios comprables con los insecticidas de más amplio uso a nivel mundial (Cuadro 4).

Cuadro 4. Productos disponibles en el mercado a base de NEP's del genero *Steinernema*.

Formulación	Especie de NEP	Nombre comercial	Compañía
Capsulas de alignato	<i>S. carpocapsae</i>	Mioplant	Novartis
	<i>S. carpocapsae</i>	Boden-Nützlinge	Rhône-Poulenc
Gel humectable	<i>S. carpocapsae</i>	Biosafe	SDS Biotech
	<i>S. feltiae</i>	Exhibit	Novartis
	<i>S. feltiae</i>	Stealth	Novartis
Arcilla	<i>S. feltiae</i>	Nemasys	Microbio
		Entonem	Koppert
	<i>S. scapterisci</i>	Proactant Ss	Biocontrol
Gránulos dispersables en agua	<i>S. carpocapsae</i>	Biosafe	Termo Trilogy
		Biosafe-N	Termo Trilogy
		BioVector	Termo Trilogy
	<i>S. feltiae</i>	Helix	Novartis
		X-GNAT	E. C. Geiger
		Magnet	Amyl-Spawn Mate
	<i>S. riobravis</i>	Biovector	Termo Trilogy
		Vector MC	Lesco

Fuente: Grewal y Georgis 1999.

2.1.8 Métodos de aplicación

Los NEP's pueden ser aplicados con equipos convencionales de agroquímicos, incluyendo aspersoras pequeñas, aspersoras electrostáticas de ventilador, aspersoras de ventilador, y helicópteros (Georgis, 1990), o bien pueden ser aplicados en superficies pequeñas o de manera experimental con la ayuda de regaderas, pipetas o aspersores manuales (Poinar 1979).

Cuadro 5. Equipos y sistemas usados en la aplicación de nematodos entomopatógenos (Steinernematidos y Herorhabditidos).

Equipo y/o sistema	Cultivo
Aspersores convencionales	Varios
Helicópteros y avionetas	Almendros
Riego rodado	Arándano
Micro aspersión	Cítricos
Pivote central	Maíz
Riego por goteo	Pepino
Aspersión electrostática	Almendros
Nebulización	Almendros
Inyección al suelo	Céspedes, pastos y maíz

Fuente: Georgis 1990.

2.1.9 Rango de huéspedes

La eficiencia del complejo nematodo-bacteria que mata rápidamente al insecto huésped permite que los nematodos infecten a un rango grande de especies, bajo condiciones de laboratorio (Poinar 1979, Gaugler y Kaya 1993, Grewal y Georgis 1999), bajo condiciones de laboratorio donde el contacto con el huésped es seguro, las condiciones ambientales son las óptimas, no existen barreras ecológicas que afecten la infección *S. carpocapsae* por si solo puede infectar más de 250 especies de insectos de 75 familias (Poinar 1979, Grewal y Georgis 1999), de los ordenes: Himenóptera, coleóptera, díptera, lepidóptera, homóptera, heteróptera, isóptera, neuróptera, odonata y ortóptera (Poinar 1979). En condiciones de campo *S. carpocapsae* solo se ha encontrado infectando de manera natural

a siete especies de cuatro órdenes (Smart 1992, citado por Velásquez y Arredondo 1999).

Bajo condiciones de laboratorio y en altas concentraciones, los steinernematidos y herorabditidos pueden infectar un amplio rango de huéspedes incluyendo la mayoría de especies de insectos, extendiéndose a otros invertebrados. Sin embargo por sus hábitos y barreras ecológicas, su efectividad se reduce a insectos que habitan en el suelo y hábitats crípticos.

Cuadro 6. Eficacia en campo de *Steinernema* spp. sobre larvas de varias especies de insectos.

Especie de <i>Steinernema</i>	Insecto huésped	Control
<i>S. carpocapsae</i>	<i>Popillia japonica</i>	55 % 7-50 %
	<i>Graphognathus</i> spp.	38-50%
	<i>Cyclocephala borealis</i>	<40%
	Complejo gallina ciega	40%
	<i>Cyclocephala</i> , <i>Anomala</i>	
	<i>Phyllophaga</i>	
	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	82-91%
	<i>Curculio caryae</i>	67 %
	<i>Sphenophorus parvulus</i>	56-65 %
	<i>Cosmopolites sordius</i>	88- 100 %
	<i>Hylobius abietis</i>	89 %
<i>S. glaseri</i>	<i>Costelytra zealandia</i>	30% (de infección pero no reducción en la población)
	<i>Popillia japonica</i>	>90%
	<i>Rhizotrogus majalis</i>	<70%
	<i>Adoryphorus couloni</i>	35-52%

	<i>Cosmopolites sordidus</i>	100%
	<i>Otiorhynchus ovatus</i> y <i>O. Sulcatus</i>	82-91% y 82-91 resp.
<i>S. feltiae</i>	<i>Cyclocephala hirta</i>	65%
	<i>Cosmopolites sordidus</i>	75-100%

Fuente: modificado de Klein, 1990

2.1.10 Factores que afectan su eficacia en campo

De acuerdo con Grewal *et al* (2005), los factores que afectan la infección y la eficacia en campo de los NEP's son:

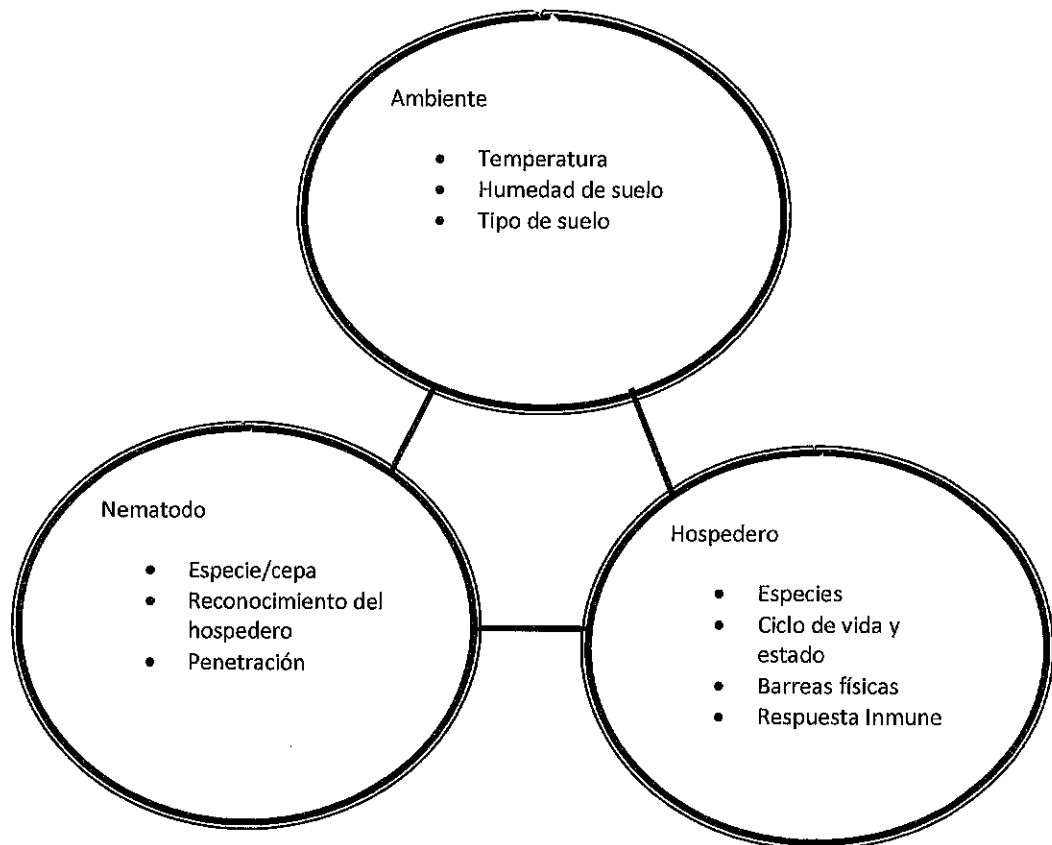


Figura 3. Factores bióticos y abióticos que afectan la eficacia de los NEP's a nivel de campo.

2.1.10.1 Estadio larval del huésped

Se ha encontrado de manera general que los terceros estadios de especies como *Popillia japonica* y *Anomala orientalis* son menos susceptibles que las larvas del primer y segundo instar, en *Phyllopertha horticola* la susceptibilidad del tercer instar se incrementa significativamente cuando se le aplico *S. glaseri*, en *Maldera castanea* el tercer instar resultó más

susceptible que el segundo instar al nematodo *S. scarabei* (Grewal *et al* 2005).

2.1.10.2 Profundidad de aplicación y movilidad

Se ha comprobado que *S. glaseri* se mueve a mayor profundidad que *S. carpocapsae* cuando ambos nematodos se han aplicado sobre la superficie de suelo cultivado con fresa (*Fragaria* sp.) (Wennemann *et al* 2004), de la misma forma *S. riobrave* se mueve verticalmente hasta 23 cm. En suelos arenosos cuando se ha aplicado sobre la superficie del suelo y cuando la humedad del suelo varia entre 2 y 14 % (Gouge *et al* 2000).

2.1.10.3 Suelo

Textura

Cuando juveniles infectivos de *S. carpocapsae* y *S. glaseri* fueron aplicados suelos arenosos, areno-limosos, arcillo-limosos, y arcillosos durante 16 semanas el porcentaje de sobrevivencia mas bajo se observó en el suelo arcilloso para ambas especies, la mayor sobrevivencia se observó en suelos areno-limosos y arenosos, esto debido a que el espacio poroso y la aireación son mas reducidos en suelos arcillosos (Kaya 1990). *S. carpocapsae* sobrevivió en el suelo 25 días después de haber sido aplicado en suelos arenosos cultivados con manzana (Liu, 1994).

Similares resultados fueron obtenidos por Chinnasri (1999) cuando evaluó la sobrevivencia de *S. carpocapsae* en tres suelos diferentes, observó que en un suelo arenoso la sobrevivencia fue del 59.3 %, en suelo arenoso de 47.5 %, mientras que en suelo areno-arcilloso y arcilloso fue de 7.2 y 6.6 % respectivamente.

pH

Ping Kung *et al* (1990) reportaron que *S. carpocapsae* sobrevive menos en un suelo con pH 10 que en suelos con pH 4, 6 y 8 después de 16 semanas

de ser aplicado, además de que su infectividad en larvas de *G. mollonella* también disminuye después de 1 una semana a pH 10.

Humedad

Una humedad óptima es extremadamente importante para una buena efectividad y sobrevivencia de los nematodos en el suelo Shetlar *et al* (citados por Grewal *et al* 2005) reportaron que se requiere de al menos una lamina de riego de 0.74 cm. Después de la aplicación de los nematodos para una buena actividad y establecimiento de NEP's en pastizales, de la misma manera el mantener una humedad moderada después de la aplicación es lo mas recomendable (Grewal *et al* 2005). Riegos a intervalos de 1 a 4 días resultan ser óptimos cuando se usan NEP's para el control de gallina ciega (Georgis y Gaugler 1991). Cuando la humedad se reduce de un 40 a un 25% también se reduce la mortalidad de larvas de *Popillia japonica* hasta un 50% (Klein 1990), Jackson *et al* (citados por Klein 1990), encontraron que para un mejor establecimiento de NEP's en el suelo se requiere de aplicarlos durante días con lluvia o antes de regar.

Las formas infectivas de *S. scapterisci* sobreviven durante tres semanas en suelo arenoso y areno-arcilloso en el punto en que ocurre la marchites de las plantas (PMP), demostrando con esto que los niveles de humedad no constituyen un factor critico para esta especie (Alatorre, 2002)

Temperatura

Se ha comprobado que bajas temperaturas del suelo limitan la actividad de los NEP's.

Cuando el rango de temperatura es de 21-30 °C se pueden llegar a tener porcentajes de eficacia de hasta el 80%, pero cuando el rango de temperatura esta entre los 12-16°C la eficacia disminuye hasta el 40 % (Georgis y Gaugler, 1989 citado por Klein 1990). El movimiento de los nematodos a través del suelo también se ve afectado cuando la temperatura del suelo es baja de esta forma se mueven menos cuando las temperaturas se incrementan (Susrluk 2008).

Las aplicaciones de NEP's echas a finales del verano y a principios del otoño resultan ser más efectivas que aquellas que se realizan durante la primavera de esta manera se asegura que las temperaturas estén por encima de los 20 °C logrando un máximo control de gallina ciega (Georgis y Gaugler 1991).

2.1.10.4 Prácticas agronómicas

La eficacia de los NEP's se ve afectada debido a varias prácticas agrícolas que se realizan a lo largo de los ciclos de cultivo, en suelos cultivados con maíz y con una cubierta de residuos vegetales de paja de frijol (75 % aprox.) la persistencia de *S. carpocapsae* resultó significativamente mayor que en suelos sin cobertura vegetal, además también se aumenta la eficacia, comprobando que el uso de coberturas vegetales en los sistemas de cultivo mejora la supresión de plagas por los NEP's (Shapiro *et al* 1999).

Otras prácticas como fertilización (NPK), riegos, y el uso del herbicida Trifuralina no afectan la sobrevivencia de *S. feltiae* (Susurluk, 2008a).

2.1.10.5 Compatibilidad con pesticidas

En los sistemas de manejo integral de plagas es muy común que los NEP's se utilicen de manera conjunta con otras estrategias de manejo químico, con el fin de lograr mayor eficacia en el control de plagas, sin embargo se ha encontrado que un gran número de productos químicos resultan antagónicos o sinérgicos a los NEP's, de esta forma se tiene que los extractos de Neem (*Azadiractina indica*) no tienen ningún efecto sobre la viabilidad y virulencia de *S. feltiae*, lo que no ocurre cuando a estos extractos vienen formulados con jabones (usados como surfactantes), fungicidas selectivos como el azoxystrobin se pueden usar de manera conjunta con steinernematidos, resultando seguros para estos (Krishnaya y Grewal 2002).

En un estudio realizado por Rovesti (1990), para determinar la compatibilidad de *S. carpocapsae* con varios agroquímicos, determinó que los juveniles infectivos toleran la mayoría de los agroquímicos evaluados,

viéndose seriamente afectados por ingredientes herbicidas como paraquat y alaclor, otros como el aldicarb, metomilo, flubenzimina, metam sodio, y fenamifos todos los anteriores resultaron ser muy tóxicos.

Por otro lado Alumani y Grewal (2004) reportan que ingredientes activos como: Alofenozide, imidacloprid, mfenoxan Clorpirifos, Thiametoxan y carbaril no presentan efectos significativos sobre la patogenicidad de *S. carpocapsae* caso contrario ocurre con el aluminio tris y el triclofon que reducen significativamente la patogenicidad sobre larvas de *G. mellonella* en condiciones de laboratorio.

2.1.11 Impacto ambiental del uso de NEP's

El uso del control biológico se ha considerado como ambientalmente seguro y libre de riesgos especialmente cuando se compara con el uso de insecticidas químicos, sin embargo en la gran mayoría de los estudios y experiencias no se ha documentado o evaluado con regularidad el impacto ambiental negativo (Howarth, 1991).

El uso de nematodos entomopatógenos como agentes de control biológico de plagas se encuentra en constante crecimiento (Kaya y Gaugler 1993), esto representa un aumento potencial en efectos (positivos y negativos) sobre aquellos organismos a los que no va dirigido el control con los nematodos entomopatógenos (Barbercheck y Millar 2000).

Los NEP's son susceptibles a la desecación y radiación UV cuando son aplicados contra insectos que afectan el follaje (Kaya y Gaugler 1991, Ehlers y Peters 1995), en medios acuáticos su movilidad y penetración es severamente reducida por las características propias del agua y otros compuestos presentes en ella, (Womersley 1990, citado por Ehlers y Peters 1995) por lo tanto el impacto ambiental de los NEP's solo ocurre a nivel del suelo (Ehlers y Peters 1995).

2.1.11.1 Riesgos

En varios escritos sobre NEP's se discute sobre si existen o no riesgos de estos al ser aplicados (Poinar 1979 y 1990, Gaugler y Kaya 1991 Ehlers y Peters 1995, Barbercheck y Millar 2000, Ehlers 2005),

Los NEP's introducidos en hábitats donde se han encontrado especies endémicas de NEP's tienen impactos negativos. El número de insectos infectados por *S. carpocapsae* en su hábitat endémico resultó mayor que en suelos donde existía la presencia de *S. riobrave*

Kaya (1978), reportó que *S. carpocapsae* afecta de manera importante a *Apanteles militaris* (Hymenoptera: Braconidae) que es un parasitoide que ataca a *Pseudaletia unipuncta*.

La aplicación de NEP's en trigo y áreas forestales reduce la densidad en poblaciones de arácnidos y coleópteros, esto se comprobó comparando los muestreos de otras áreas en donde no se aplicaron NEP's (Rethmeyer 1991, citado por Ehlers y Peters 1995).

Hasta ahora la información que se tiene para predecir el impacto ambiental de los NEP's es muy poca, sin embargo la evaluación de los riesgos se puede basar en todo el conocimiento que se tenga sobre el complejo nematodo-bacteria (Ehlers y Peters, 1995).

2.1.11.2 Beneficios

Uno de los beneficios de los NEP's es el establecimiento y la permanencia en el ambiente donde son aplicados en los casos que así ocurra, Fleming (1968) reportó que *S. glaseri* mantuvo su permanencia en el suelo durante 24 años después de su aplicación, otras especies como *S. scapterisci* persiste cerca de 6 años en el norte de Florida (Parkman *et al* citado por Barbercheck y Millar 2000).

S. carpocapsae parasita a un gran número de insectos bajo condiciones de laboratorio (Poinar 1979, Kaya y Gaugler 1993) lo permite tener un espectro de control mayor cuando se tienen diferentes especies de insectos plaga en

un mismo sitio, de manera contraria ocurre con *S. scapterisci* y *S. glaseri* que son parásitos específicos de las familias Gryllotalpiade y Scarabaeidae respectivamente, esto permite que no haya riesgos hacia otros organismos. (Parkman *et al* 1993, citado por Barbercheck y Millar 2000).

Los NEP's han sido encontrados en un rango amplio de habitats a lo largo de todos los continentes (a excepción del Antártico) (Poinar, 1990) lo que permite tener una gran diversidad genética y mejores posibilidades de adaptación en diferentes ambientes.

2.2 Generalidades de *Phyllophaga* Harris, 1896.

2.2.1 Taxonomía y nomenclatura

Bajo el nombre de gallina ciega se agrupan 13 géneros y al menos 520 especies de larvas de coleópteros que se desarrollan en el suelo. La mayoría de las especies se alimentan de materia orgánica (Morón 1986), otras tantas se alimentan de raíces, sabia y madera podrida, mientras que los adultos se alimentan del follaje, flores y frutos (Domínguez, 1996).

Las larvas y adultos del género *Phyllophaga* constituyen quizá una de las plagas más conocidas debido a que atacan a una gran diversidad de cultivos. En México su nombre común varía dependiendo de la región o lugar donde se presenten en adultos por ejemplo: mayates de junio y mayo, conchudos, ronrones, jobotos, mayates y chochos y en larvas: Gallina ciega, toxnhi, nixticuiles, yupos o gusanos blancos (Morón *et al* 1997).

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Coleóptera

Familia: Melolonthidae

Subfamilia: Melolontinae

Tribu: Melolothini

Subtribu: Rhizotrogina

2.2.2 Distribución

En México el género *Phyllophaga* se encuentra distribuido ampliamente en toda la república aunque en estados como Jalisco, Chiapas, Oaxaca y Edo. de México es donde se encuentra la mayor diversidad y cantidad de especies de este género (Morón *et al* 1997).

De acuerdo con Morón *et al* (1997), las especies más ampliamente distribuidas en México son: *P. ravidá*, *P. lenis*, *P. obsoleta*, *P. vetula*, *P. dentex*, *P. misteca*, y *P. tenuipilis*.

2.2.3 Importancia y Daños

Los daños más importantes son ocasionados por las larvas del tercer estadio, que al llegar a este presentan mandíbulas y músculos masticadores fuertes lo que les permite alimentarse de las raíces que están más a su alcance (Vallejo *et al* 2007). Las heridas causadas por efecto de las mordeduras favorecen la infección por microorganismos fitopatógenos (Lagunes *et al*, 1985).

Las plántulas atacadas por gallina ciega presentan marchitamiento, y una coloración púrpura, reducido vigor y hasta la muerte completa de la planta (King 1984). En tubérculos de papa y otros cultivos subterráneos las larvas se alimentan ocasionando huecos circulares, reduciendo su calidad comercial (Misra y Chandla, 1989).

Para el estado de Chiapas Sánchez (2002) reporta que durante los meses de junio, julio y agosto se presentan densidades de larvas de 16.58, 15.55 y 14.51 larvas/m² respectivamente, causando el acame de plantas de maíz en la etapa de espigamiento.

En el estado de Nayarit durante la zafra 1993-94 los daños causados por gallina ciega disminuyeron el rendimiento en la caña de azúcar entre un 20 y 70%, lo que se tradujo en pérdidas por 14.9 toneladas de caña (Morón 1998).

Márquez y Ralda, (2005) reportan que a una densidad de 16.6 larvas/m² en el cultivo de caña de azúcar se reduce el rendimiento en un 16 % representando una pérdida de 11.98 t/ha.

Para el estado de Tamaulipas la época de mayor daño se presenta de junio a noviembre debido al incremento en la población de larvas del segundo estadio (Loera y Vargas, 1987), en el cultivo de maíz las pérdidas se ven disminuidas en un 48% el equivalente a 1029 t/ha (Villalobos 1995), otro daño fuerte en maíz se expresa cuando las plantas se doblan hacia el suelo por falta de soporte radicular (acame), este daño se presenta entre la etapa fonológica de 10 hojas a fructificación (elote) (Ramírez y Castro, 2000).

En sorgo los afectos del ataque por gallina ciega se manifiestan con marchitez, caracterizada por un color morado inicial en las hojas, seguido de la muerte de pequeñas plantas y reducido vigor o debilitamiento de las más grandes (King, 1994).

2.2.4 Hábitos

Las larvas se alimentan de las raíces de más de 20 cultivos y de otras muchas especies silvestres, entre los cultivos de mayor importancia están: el maíz, trigo, caña de azúcar, papa, arroz, chile, pastos forrajeros, céspedes ornamentales, fresa, zanahoria, espinaca, betabel, jitomate, haba, cebolla, sorgo, maguey, palma de coco, jícama, frijol, cacahuate, brócoli, amaranto y espárrago (Morón, 1984, Morón, 1986).

Los adultos se alimentan de hojas tiernas, pétalos, polen, secreciones de savia y de frutos dulces o suaves y del follaje de árboles y arbustos: *Acacia cornigera*, *Agnus* sp. *Cassia villosa*, *Crataegus* sp. *Erythrina americana*, *Quercus* sp. *Rhus* sp. *Tamarindos indica*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Ulmus* sp. y *Juglans* sp. (Morón 1983, Morón *et al* 1997).

2.2.5 Biología

Los adultos se presentan poco tiempo después de iniciada la temporada de lluvias, e incrementan su número durante los meses de mayo, junio, y julio (Lagunes *et al* 1985), al ser de hábitos nocturnos y de fototropismo positivo los adultos salen al anochecer desde las 7:30 a 9 pm, incrementándose esta salida después de tres lluvias intensas (Ramírez y Castro, 200), después de emerger los adultos vuelan ruidosamente hacia las plantas hospederas alcanzando velocidades de vuelo de hasta 8 km/h (Bernhard, 1972). Durante el día los adultos permanecen ocultos bajo las rocas y la hojarasca (Morón, 1986), y llegan a vivir entre 20 y 40 días (Lagunes *et al* 1985).

La copula se lleva a cabo durante cuatro a siete minutos en el follaje de las plantas hospederas, dando inicio cuando los machos logran una posición favorable sobre las hembras, sujetándose del pronoto y de los bordes elitrales con sus uñas tarsales, una vez concluido el apareamiento, los machos se dejan caer al suelo, mientras que las hembras buscan un sitio

adecuado para enterrarse, comienzan a ovipositar a los nueve o diez días después de la copula (Morón, 1986).

Las hembras fecundadas depositan de 7 a 28 huevecillos en las capas superficiales del suelo junto a las raíces de cualquier planta susceptible de ser atacada, el periodo de incubación varía de dos a seis semanas (Morón, 1986, Lagunes, 1985), tras este tiempo emergen las larvas de primer estadio que inmediatamente comienzan a alimentarse de las raíces y materia orgánica en descomposición durante un periodo que varía entre 20 y 60 días, hasta aumentar su peso inicial de 10 a 15 veces (Morón, 1986)

El segundo instar transcurre de de 30 a 60 días tiempo en el cual incrementa de 5 a 7 veces su peso, el tercer instar coincide con las últimas semanas de verano en este aumenta de 6 a 8 veces su tamaño inicial, siendo este el estadio mas longevo (4 a 14 meses) y voraz (Morón, 1986).

Al llegar el otoño y al bajar la temperatura la larva profundiza en el suelo hasta 1 o 1.5 metros; (Lagunes, 1985) con la finalidad de encontrar mayor humedad y temperatura (Morón, 1986).

Al alcanzar un máximo desarrollo las larvas comprimen partículas de suelo para formar una celda ovalada de tierra donde se inmovilizan como prepupas durante una o dos semanas, para posteriormente dar origen a las pupas, estas invernan en suelo durante de 3 semanas a 4 meses en condiciones de campo, tiempo que se reduce de 4 a 6 semanas bajo condiciones de laboratorio (Ramírez y Castro, 2000).

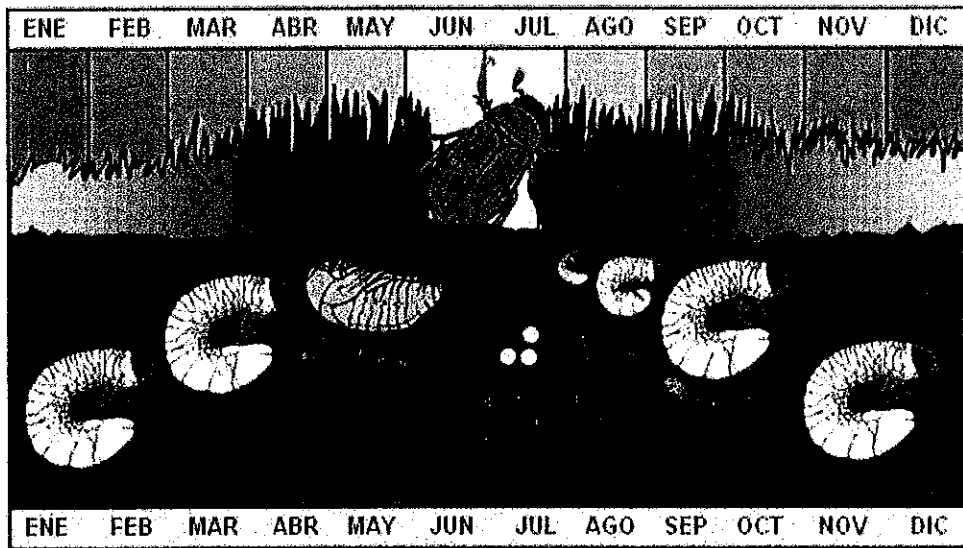


Figura 4. Ciclo biológico anual de *Phyllophaga* spp.

Fuente: entomology.unl.edu

2.2.6 Control

2.2.6.1 Químico

En la actualidad se utilizan diferentes ingredientes activos para el control de la gallina ciega: diazinon, terbufos, chlorpirifos, carbofuran, aldicarb, carbaryl, imidacloprid, endosulfan, aldrin (Cuadro 7) (Thompson, 2007).

Los fumigantes del suelo como la Cloropicrina, dazomet, metam zodio por su acción total son efectivos en el control de la gallina ciega (Salguero, 1994).

Cuadro 7. Dosis de ingredientes activos mas comúnmente utilizados en el control de gallina ciega (*Phyllophaga* spp.)

Ingrediente Activo	Dosis/ha
Carbofuran	20-30 kg
Diazinon	10-20 kg
Clorpirifos	40-60 kg
Terbufos	20 kg
Triclorfon	40.-60 kg
Isofenofos	25 kg
Difonate	20 kg

Fuente: Modificado de Lagunes, 1985 y Thompson, 2007

2.2.6.2 Cultural

La solarización es un método cultural que consiste en exponer a las larvas de gallina ciega a la acción de la radiación solar utilizando cubiertas de polietileno transparente que se colocan sobre la superficie del suelo, esto con el fin de elevar la temperatura y matar huevecillos y larvas (Aguilar, 1989), en el cultivo de fresa (*Fragaria* sp.) se ha comprobado la efectividad de la solarización ya que los rendimientos obtenidos en tratamientos con solarización son mayores a los rendimientos obtenidos donde no se aplico ningún método de control (Abarca *et al*, 1992).

Los barbechos y pasos de rastra oportunos son estrategias utilizadas para exponer las pupas, huevecillos y larvas a la acción del clima y enemigos naturales (Van, 1997).

La captura manual permite romper el ciclo biológico y disminuir las densidades poblacionales en ciclos de cultivo posteriores a los que se realizo la captura manual, esta se realiza sacudiendo las ramas de las

plantas hospederas sobre recipientes o mantas o colectando adultos donde haya una gran concentración, se recomienda llevar a cabo la captura entre las 19:30 y 21 hrs, de esta manera se tiene que se puede reducir de 17.3 larvas/m² a 1.5 larvas/m² (Cruz-López *et al*, 2001).

El uso de trampas de luz se utiliza bajo el hecho de que los adultos de gallina ciega tienen fototropismo positivo es decir, son atraídos por la luz, existen diferentes tipos de trampas a base de luz que pueden ser utilizadas para disminuir las poblaciones de adultos una de estas fue la utilizada por Aragón *et al* (2008) la cual consistió en una fuente de luz fluorescente negra de 20 W montada sobre un embudo que conduce a una cubeta provista con una solución de agua y detergente a una concentración del 1%, con este tipo de trampas se logra reducir las poblaciones y los daños ocasionados por adultos y larvas de *Phyllophaga*, en el mismo sentido, DuPont (1990) menciona que las trampas con fuente de luz ultravioleta suelen ser las más efectivas para la captura de adultos de gallina ciega.

2.2.6.3 Control Biológico

La gallina ciega en sus diferentes estados biológicos tiene un gran número de enemigos naturales entomófagos y entomopatógenos (González, 1996).

En el mundo el uso de parasitoides ha tenido un éxito parcial debido a que la cría masiva resulta muy difícil, sin embargo algunas especies de la familia Tachinidae, como *Dexia ventralis* que llega a parasitar hasta un 85 % de larvas de segundo y tercer instar, por otro lado la familia Bombyliidae del orden Diptera, parasitan a las pupas de *Phyllophaga* spp. (Hanson, 1996).

El endoparásitoide *Pelecinus polyturator* tiene la habilidad de localizar y parasitar larvas de gallina ciega que se encuentren cercanas a la superficie del suelo debido a la gran longitud de su abdomen (Bennett, 2003).

El uso de organismos entomopatógenos ha tenido un gran éxito en el control de la gallina ciega, de esta manera se puede mencionar lo reportado por

Chen *et al* (1995), quienes encontraron que el hongo *Metarhizium anisopliae* bajo condiciones de laboratorio puede causar un 100 % de larvas a concentraciones de 2.5×10^6 millones de esporas.

Otros hongos del grupo de los Deuteromicetos tales como *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Verticillium*, *Akanthomyces*, *Beauveria* han sido observados infectando larvas de escarabeidos; sin embargo, solamente los dos últimos han sido considerados como agentes con potencial para el desarrollo de un micoinsecticida. Ambos hongos son habitantes normales del suelo y están distribuidos globalmente, causando epizootias esporádicas bajo condiciones naturales (Hidalgo, 2001).

Por otra lado la bacteria *Bacillus popilliae* se encuentra asociada a larvas de gallina ciega causando la denominada “enfermedad lechosa”, esta bacteria es altamente patogénica y tiene una alta persistencia en el ambiente por lo que se ha utilizado de forma masiva para el control a largo plazo (Shannon, 1996). *B. Lentimorbus* es otra bacteria que infecta hasta un 60 % de larvas bajo condiciones de campo (Vora and Ramkrishnan, 1978).

2.2.6.4 Etológico

El uso de feromonas y atrayentes sexuales hasta ahora es un método poco utilizado, debido a que no se ha profundizado en la identificación de los compuestos que son determinantes en el comportamiento sexual de adultos de gallina ciega sin embargo Romero *et al* (2005) mencionan que recientemente se ha identificado de forma parcial algunos derivados de ácidos grasos, alcoholes grasos e hidrocarburos alifáticos como posibles constituyentes de la feromona sexual de *P. obsoleta*.

2.3 Descripción de *Phyllophaga obsoleta* B.

2.3.1 Huevo

Recién ovipositados son de color blanco y de forma ovalada, de 2.5 mm de largo y de 2.1 mm de ancho, después del tercer o cuarto día su forma cambia a esférica, próximos a la eclosión cambian a un color café oscuro y aumentan de tamaño a 3.9 y 3.3 mm de largo y ancho respectivamente (King 1994, Vallejo *et al* 2007)

2.3.2 Larva

Las larvas de *P. obsoleta* se distinguen por presentar la superficie de la frente lisa con 2 sedas proesterofrontales y 8-13 anterofrontales; epifaringe sin *propelegantia*; área estriduladota maxilar de 11 a 15 dientecillos, último artejo antenal con un área sensorial ovalada dorsal y dos áreas sensoriales ventrales, el diámetro de las placas respiratorias de los estigmas en los segmentos abdominales sexto y séptimo es similar al de la placa respiratoria del quinto segmento. Por estas características se asemeja a las larvas de *P. menetriesi* (Blanch.) pero puede distinguirse de ellas por su tamaño corporal menor, por la forma del palidia y el número menor de *pali* que la forman. Raster con un par de palidias longitudinales ligeramente convergentes en ambos extremos, con longitud de 1.50 a 1.83 mm cada *palidium* formado por 15-27 *pali* cortos ligeramente deprimidos. Longitud total del cuerpo de 3.11 cm en promedio, pero puede medir de 2.5 a 3.6 cm. El cuerpo es blanco ligeramente amarillento (Ramírez *et al*, 2000).

2.3.3 Pupa

La cabeza es glabra, fuertemente inclinada hacia abajo, piezas bucales claramente diferenciadas, frente convexa, prominente, clipeo cóncavo con los bordes engrosados, ojos compuestos hundidos; maza antenal claramente más larga que los artejos, en el tórax el pronoto es convexo, meso y metanoto bien diferenciados bien diferenciados, teca de los élitros

con surcos amplios y someros, teca de las alas ligeramente mas largas que las elitrales, la hembra se distingue por la menor longitud de la maza antenal. Longitud corporal de 16 a 21 mm (Ramírez *et al*, 2000)

2.3.4 Adulto

De 16 a 20 mm de longitud, coloración parda amarillenta, frente toscamente punteada y con escasas sedas laterales cortas, placa anal compleja, excavada, con el borde posterior lobulado con pronoto y los apéndices pardo rojizo. Parámetros cortos, angostos, fusionados en forma de anillo, con una proyección laminar, larga y recta. Dorso glabro y brillante. Antenas con 10 artejos. Uñas tarsales hendidas. Ambos espolones metatibiales apicales articulados (Morón *et al* 1997, Morón 1988, Ramírez *et al* 2000).

3. METODOLOGÍA Y MATERIALES

3.1 Localización del sitio experimental

El estudio se realizó en Zamora, Michoacán en un lote cultivado con fresa (*Fragaria* sp.) de la variedad "Camino Real" y donde se advirtió por el Comité Estatal de Sanidad Vegetal la presencia de la plaga rizófaga: gallina ciega y donde actualmente es un problema común, el lote se ubica a 20° 3'17.51" de latitud Norte y 102°15'49.89" de longitud Oeste y a una altitud sobre el nivel del mar de 1575 metros, propiedad del Sr. Sildardo Gutiérrez Negrete.

3.2 Producto comercial.

El nombre comercial del producto fue: "Ninja SC", el cual fue proporcionado por la empresa: Agro UX Biocontrol, la formulación es en esponjas de poliéster-poliuretano con al menos 25 millones de nematodos juveniles infectivos (IJ3).

Porcentaje del ingrediente activo: 1.84 %

Equivalente en gramos por litro: 18.4 g/L

3.3 Métodos de aplicación de tratamientos

La solución acuosa con la concentración inicial se preparó sacando una esponja por separado y colocándola en un recipiente con 10 litros de agua, cada esponja se dejó reposar durante 10 minutos, para después agitar suavemente con el fin de separar todos los nematodos de la esponja, una vez extraídos los nematodos se procedió a obtener las concentraciones para cada uno de los tratamientos, esto se logró tomando una alícuota de la concentración inicial y se le añadió agua hasta lograr la concentración final, la aplicación se realizó en forma de aspersion acuosa de los nematodos extraídos con una aspersora de mochila marca "Guarani" con capacidad de 15 litros, sin filtro y sin boquilla para facilitar la libre salida de los nematodos, de acuerdo con Georgis (1990), los nematodos de las familias

Steinernematidae y Heterorhabditidae pueden soportar presiones de aplicación de hasta 300 lb/pulgada cuadrada y ser liberados con aspersoras comunes con aberturas de 50 micras y con equipos de aspersion que no produzcan una elevada cantidad de calor por encima de los 32 °C, la aspersion se realizo en Drench sobre las hileras del cultivo.

La aplicacion se realizo a los 30 dias despues del trasplante de las plántulas de fresa inmediatamente despues del retransplante de plántulas dañadas por gallina ciega.

El furadan 5G utilizado como testigo regional se aplico de forma manual, en banda a ambos lados de la hilera del cultivo.

3.4 Distribución de tratamientos y diseño experimental.

El estudio se condujo bajo el diseño experimental de bloques al azar (DBA) utilizando 5 tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo conformada por 5 surcos de 6 m. de largo separados entre sí por 1 m. la parcela útil estuvo constituida por los tres surcos centrales excluyendo 1 m. de cada extremo.

Para establecer el lote experimental se selecciono una área donde el daño visual por gallina ciega se observo con mayor severidad, cada unidad experimental se delimito con hilo y estacas de madera, y para la identificación de los tratamientos se colocaron banderas de colores en las esquinas de cada lote, de esta manera se tuvo que cada unidad experimental consto de 30 m², para una área total de 600 m²

En el lote experimental los tratamientos tuvieron el siguiente arreglo espacial:

Cuadro 8. Distribución espacial de tratamientos en campo.

Bloque	TRATAMIENTOS				
I	A	B	C	D	E
II	B	E	A	D	C
III	C	A	E	B	D
IV	D	E	C	A	B

Tratamientos:

A= <i>S. carpocapsae</i> 15 x 10 ⁶ IJ/100 m ²	Blanco
B= <i>S. carpocapsae</i> 25 x 10 ⁶ IJ/100 m ²	Azul
C= <i>S. carpocapsae</i> 35x 10 ⁶ IJ/100 m ²	Morado
D= Furadan 5 G 30 kg./ha.	Rojo
E= Testigo absoluto.	Amarillo

3.5 Evaluación y muestreo.

Se realizaron 4 muestreos, uno antes de la aplicación de tratamientos y 3 posteriores a la aplicación a los 7, 14 y 21 días, para ello se seleccionaran aleatoriamente 4 sitios de muestreo dentro de cada parcela útil, tomando el suelo de dos plantas de fresa, esto se hizo con la ayuda de una pala recta, sacando el volumen de suelo contenido en una superficie de 30 x 30 cm. y 30 cm. de profundidad, (Ives y Warren, 1965), cada muestra se peso en una balanza portátil marca DYFSA con escala minima de 20 g.

Adicional a los muestreos para evaluación de tratamientos, se realizó un muestreo simple aleatorio (Tan, 1996) previo la aplicación de tratamientos para determinar algunas características físicas y químicas del suelo, esto siguiendo la metodología descrita por Maldonado (1997); dentro de los lotes de tratamientos se seleccionaran 5 sitios distribuidos en "5 de oros" en cada

sitio se tomó una superficie de 90 cm² y se eliminaron los primeros 10 cm de la superficie, tomando un volumen de suelo de 30 x 30 x 30, de estas 5 muestras se formó una compuesta, mezclando cada una de las anteriores para formar un "pastel" el cual se seccionó en 5 partes iguales, tomando una al azar, esta se colocó en una bolsa de plástico transparente identificándola con los datos respectivos para su manejo.

Otro muestreo se realizó con la finalidad de obtener larvas de gallina ciega y otras especies rizófagas, para realizar la identificación de las especies presentes en la rizosfera del cultivo, este muestreo se realizó de la misma forma descrita anteriormente, una vez obtenidas estas muestras se colectaron larvas de gallina ciega *Phyllophaga* sp. las cuales se colocaron en bolsas de plástico con tierra y restos de raíces de cultivo, y fueron llevadas al laboratorio de control biológico para su procesamiento e identificación.

3.6 Método de evaluación de la afectividad biológica.

De las muestras obtenidas de cada una de las unidades experimentales, se extrajeron todas las larvas de gallina ciega contabilizando el número de larvas vivas, el porcentaje de eficacia de los tratamientos se calculó mediante la ecuación de Abbott:

$$\% \text{ eficiencia} = ((A-B)/A)100$$

Donde:

A= % de infestación en la parcela testigo después de haber aplicado en las demás unidades experimentales

B= % de infestación en la parcela tratada después de la aplicación del tratamiento.

3.7 Análisis estadístico

De los datos obtenidos; la variable: número de larvas vivas, se transformó para su análisis a la función $\text{Log}_{10}(x+1)$. La variable transformada se sometió a un análisis de varianza (ANOVA $\alpha= 0.05$) para determinar si al menos uno de los tratamientos resulto diferente de los demás. Posteriormente los datos se sometieron a una prueba de comparación múltiple (Tukey, $\alpha= 0.05$) para ordenar la eficacia de los tratamientos bajo estudio, los anteriores análisis se realizaron con el programa SAS en su versión más actual al momento de realizar el análisis.

3.8 Análisis físico-químico del suelo.

La muestra compuesta de suelo, se llevó al laboratorio central universitario del Departamento de Suelos donde se determinó pH, Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC $\text{Cmol}(+)\text{Kg}^{-1}$), % de materia orgánica, Densidad aparente (Dap g/cm^3) y textura que el fin de conocer en qué condiciones edáficas se llevo a cabo la afectividad del nematodo *S. carpocapsae*. La metodología utilizada por el laboratorio central universitario fue la siguiente:

pH: Potenciométrico relación suelo-agua 1:2

Mo: Walkley y Black

CIC: Acetato de amonio 1.0 N pH centrifugación

Dap: Método de la probeta

Textura: Hidrómetro de Bouyoucos

3.9 Identificación de especies colectadas.

En el laboratorio de control biológico las larvas obtenidas en campo se procesaron para su fijación, primeramente se identificaron las larvas L3 ya que solo en este último estadio permite observar características para su identificación, estas se separaron del resto de las larvas L1 y L2, se limpiaron de residuos de tierra y con la ayuda de pinzas de disección se colocaron en un frasco con Xilol durante 5 horas para su fijación, transcurrido

este tiempo se sacaron y se enjuagaron con alcohol al 60 % y se colocaron en frascos con alcohol al 70 %, una vez fijadas las larvas se procedió a su identificación mediante sus características morfométricas y taxonomía clásica para ello se realizaron tomas fotográficas de sus principales características con la ayuda de una cámara WPI Dec-18 montada al ocular de un microscopio compuesto Olympus SC51, las claves utilizadas fueron las de Boving (1937) y Morón (2006).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aplicando la metodología anteriormente descrita y bajo las condiciones en las que se desarrolló el presente experimento se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1 Preevaluación

En cada una de las unidades experimentales de cada uno de los tratamientos se tuvo que el número promedio de larvas vivas por muestra de suelo fluctuó entre 0.5 y 2.75 lo que representa un intervalo de larvas por kilogramo de suelo de 0.27 a 0.33 como se muestra en el cuadro 9, con ello se tuvo la certeza de que en el lote la plaga se encontraba en tiempo y forma para poder llevar a cabo la aplicación de los tratamientos.

En México no existen umbrales definidos para el control de gallina ciega en el cultivo de fresa, por lo que los productores se basan en las recomendaciones establecidas en el control de la gallina ciega en el cultivo del maíz, de esta manera se comienza a realizar acciones de control químico cuando en los muestreos se encuentren 3 o más larvas en 10 muestras de suelo de 30x30x30 cm (CESAVEG, 2006), o 2 larvas en cinco cepellones muestreados de las mismas dimensiones, (CESAVEG, 2008) de esta forma la densidad de la plaga en el lote experimental resultó adecuada para la realización del experimento.

La distribución espacial de *P. obsoleta* B. dentro del lote experimental fue uniforme ya que no hubo diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha=0.05$) entre los promedios de cada bloque.

Cuadro 9. Número de larvas vivas de *Phyllophaga obsoleta* B. por kilogramo de suelo. Preevaluación, septiembre 20 del 2008. Zamora, Michoacán.

TRATAMIENTO	BLOQUE				PROMEDIO
	I	II	III	IV	
A = <i>S. carpocapsae</i>, 15x10⁶ IJ/100 m²	0.2846	0.2627	0.3355	0.2165	0.27482 a
B = <i>S. carpocapsae</i>, 25x10⁶ IJ/100 m²	0.3521	0.2727	0.2002	0.5112	0.33405 a
C = <i>S. carpocapsae</i>, 35x10⁶ IJ/100 m²	0.3201	0.3431	0.1903	0.3051	0.28965 a
D = Furadan 5G, 30 kg/ha	0.3368	0.2358	0.0947	0.4232	0.27262 a
E = TESTIGO ABSOLUTO	0.2099	0.2880	0.3618	0.2312	0.27272 a

^YLos valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $\alpha=0.05$). DMS= 0.0764

4.2 Evaluación 2

Después de 7 días de aplicados los tratamientos y de acuerdo al promedio de larvas por Kg. se presentaron diferencias estadísticas significativas entre el testigo absoluto y los tratamientos de *S. carpocapsae* (Tukey $\alpha=0.05$).

Con respecto a la eficacia calculada mediante la ecuación de Abbott, en el cuadro 10 se puede observar que la más alta corresponde a la dosis media de *S. carpocapsae* con un 96.07 % seguida de la dosis alta y baja con 95.36 y 94.81 % respectivamente. El testigo regional (Fradan 5G 30 kg/ha) presentó un 85.95 % de eficacia, de esta manera se tiene que después de 7 días la eficacia neta del NEP ya se pudo observar debido a que las dosis aplicadas resultan ser suficientes para lograr eficacias por arriba del 90%.

Cuadro 10. Número de larvas vivas de *P. obsoleta* por kilogramo de suelo. Segunda evaluación a los 7 días después de aplicados los tratamientos. Zamora, Michoacán.

TRATAMIENTO	BLOQUE				^z PROMEDIO	% Eficacia
	I	II	III	IV		
A = <i>S. carpocapsae</i>, 15x10⁶ IJ/100 m²	0.0000	0.0000	0.0573	0.0000	0.01432a	94.81
B = <i>S. carpocapsae</i>, 25x10⁶ IJ/100 m²	0.0000	0.0434	0.0000	0.0000	0.0185a	96.07
C = <i>S. carpocapsae</i>, 35x10⁶ IJ/100 m²	0.0000	0.0512	0.0000	0.0000	0.01280a	95.36
D = Furadan 5G, 30 kg/ha	0.0471	0.0444	0.0644	0.0000	0.03897a	85.90
E = TESTIGO ABSOLUTO	0.2919	0.4475	0.2006	0.1657	0.27642b	

^z Los valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $\alpha=0.05$). DMS= 0.0429

En los muestreos realizados para contabilizar el número de larvas vivas se pudo observar que las larvas parasitadas por los NEP's presentaban cuerpo flácido, y transparente así como una ligera coloración café oscura en la región abdominal, a diferencia de las lavas obtenidas en donde se estableció el testigo absoluto, las cuales se observaron normales.



Figura 5. A) Larva normal obtenida del lote testigo absoluto, B) Larva parasitada por NEP's, obtenida de los lotes donde se aplico *S. carpocapsae*

4.3 Evaluación 3

De la misma manera que en la evaluación 2, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de *S. carpocapsae* de forma contraria se observaron diferencias estadísticas entre el testigo absoluto y el resto de los tratamientos.

El porcentaje de eficacia biológica más alto entre los tratamientos se presentó en la dosis baja y alta con ausencia de larvas de gallina ciega mientras que el testigo regional el porcentaje fue de 82.25%.

Cuadro 11. Número de larvas vivas de *P. obsoleta* B. por kilogramo de suelo Tercera evaluación a los 14 días después de aplicación de tratamientos. Zamora, Michoacán.

TRATAMIENTO	BLOQUE				^z PROMEDIO	% Eficacia
	I	II	III	IV		
A = <i>S. carpocapsae</i> , 15x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.00000a	100.0
B = <i>S. carpocapsae</i> , 25x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0394	0.0000	0.0000	0.0000	0.00985 ^a	95.01
C = <i>S. carpocapsae</i> , 35x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.00000a	100.0
D = Furadan 5G, 30 kg/ha	0.0461	0.0943	0.0000	0.0000	0.03510 ^a	82.25
E = TESTIGO ABSOLUTO	0.1123	0.2005	0.1358	0.3425	0.19777b	

^z Los valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $\alpha=0.05$). DMS= 0.0441

4.4 Evaluación 4

Con respecto a la última evaluación que se realizó a los 21 días de aplicados los tratamientos se sigue observando (Cuadro 12), que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las dosis de *S. carpocapsae* y el testigo regional, pero si existen diferencias entre todos los anteriores y el testigo absoluto.

La eficacia calculada mediante la ecuación de Abbott muestra que se tuvieron porcentajes de 94.85 % para la dosis alta *S. carpocapsae* mientras que para la dosis media y baja se tuvieron porcentajes de eficacia del 100 y 95.66 respectivamente, el testigo regional presento un 80.04%.

Cuadro 12. Número de larvas vivas de *P. obsoleta* B. por kilogramo de suelo
Tercera evaluación a los 21 días después de aplicar los
tratamientos. Zamora, Michoacán.

TRATAMIENTO	BLOQUE				^z PROMEDIO	% Eficacia
	I	II	III	IV		
A = <i>S. carpocapsae</i> , 15x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0000	0.0398	0.0000	0.0000	0.00995 ^a	95.66
B = <i>S. carpocapsae</i> , 25x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.00000 ^a	100.0
C = <i>S. carpocapsae</i> , 35x10 ⁶ IJ/100 m ²	0.0000	0.0473	0.0000	0.0000	0.01182 ^a	94.85
D = Furadan 5G, 30 kg/ha	0.0868	0.0469	0.0462	0.0000	0.04497 ^a	80.41
E = TESTIGO ABSOLUTO	0.2794	0.4729	0.1206	0.0456	0.22962 ^b	

^z Los valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $\alpha=0.05$). DMS= 0.0628

En el cuadro 13 se puede apreciar que desde la evaluación 2 y hasta la última los porcentajes de eficacia de *S. carpocapsae* y los valores de número de larvas por kilogramo de suelo no varían y se mantienen constantes a lo largo del periodo que duró la evaluación, esto se puede atribuir a la alta eficacia de los NEP's ya que una vez localizada la larva huésped, se logra introducir a esta, inocular la bacteria y rápidamente causar la muerte hasta en un periodo de 24 horas.

De acuerdo con Bradford *et al* (1988), el movimiento de las larvas de gallina ciega hacia la superficie del suelo y la zona radical de los cultivos varía durante todo el ciclo de cultivo, es por ello que época de aplicación de NEP's es de importante consideración, en este caso la aplicación de los tratamientos se realizó en tiempo de que las larvas se encontraron cerca de la zona radical del cultivo, esto fue dentro de los primeros 10 cm de suelo, tal

y como se pudo observar en los muestreos previos para determinar la existencia de la plaga en cantidad y forma.

El testigo regional Furadan 5G no presentó diferencias estadísticas con respecto a cada una de las dosis de *S. carpocapsae*, en todas las evaluaciones.

La alta efectividad biológica de los tratamientos de *S. carpocapsae* probablemente se debió a que durante el establecimiento y después de este las condiciones en el suelo fueron las óptimas, así como también las temperaturas prevalecientes durante en periodo de evaluación.

Cuadro 13. Concentrado de datos: Número de larvas por kilogramo de suelo y porcentajes de eficacia, de todos los muestres realizados en el lote experimental en Zamora, Michoacán del 20 de septiembre al 11 de octubre de 2008.

TRATAMIENTO	EVALUACIÓN			
	1	2	3	4
A = <i>S. carpocapsae</i> , 15x10 ⁶ U/100 m ²	0.27482 a	0.01432 a (94.81)	0.00000a (100.0)	0.00995a (95.66)
B = <i>S. carpocapsae</i> , 25x10 ⁶ U/100 m ²	0.33405 a	0.01085 a (96.07)	0.00985a (95.01)	0.00000a (100.0)
C = <i>S. carpocapsae</i> , 35x10 ⁶ U/100 m ²	0.28965 a	0.01280 a (95.36)	0.00000a (100.0)	0.01182a (94.85)
D = Furadan 5G, 30 kg/ha	0.27262 a	0.03897 a (85.90)	0.03510a (82.25)	0.04497a (80.41)
E = TESTIGO ABSOLUTO	0.27272 a	0.27642 b	0.19777 b	0.22962 b

^z Los valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $\alpha=0.05$). Entre paréntesis se muestra el valor de los porcentajes de eficacia calculados mediante la ecuación de Abbott.

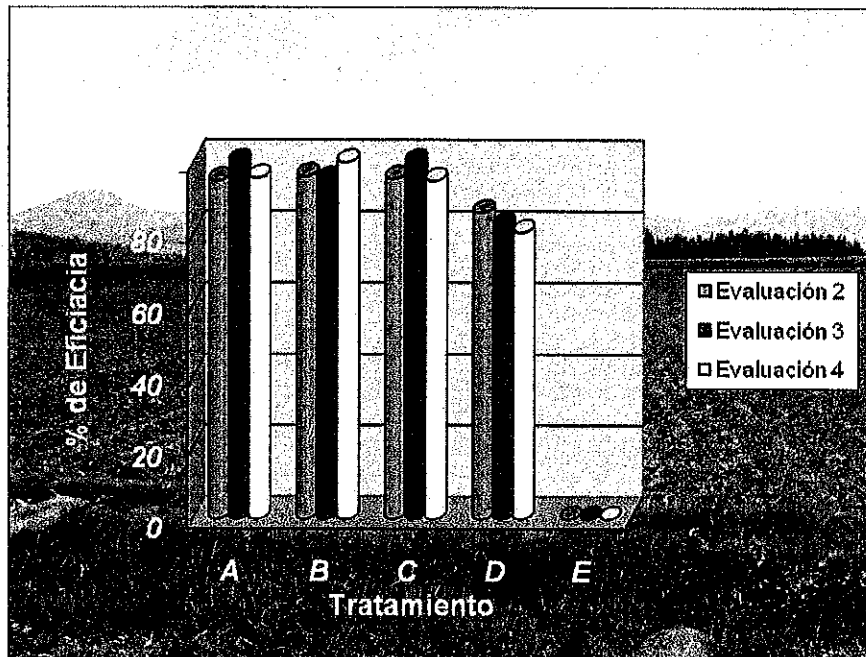


Figura 6. Porcentaje de eficacia en cada una de las tres evaluaciones para cada uno de los tratamientos.

4.5 Especie de *Phyllophaga* identificada

De un total de 8 larvas que se colectaron para su identificación solo 2 fueron del 3 instar, estas se identificaron como *Phyllophaga obsoleta* Blanch. De acuerdo a las siguientes características dadas en la clave de Ramírez *et al* (2000).

- 1' Epifaringe sin *proplegmatia*.....4
- 4 Diámetro Dorsoventral de las placas respiratorias de los segmentos abdominales 6° y 7° semejantes a la placa del 5° segmento. Diámetro de la placa cefálica 3.8-8 mm.5
- 5' Frente con 8-15 sedas anterofrontales y 2-4 sedas posterofrontales. *Palidia* paralelas o convergentes, cada *palidium* formado por menos de 30 *pali*. Anchura de la capsula cefálica 4.1-6.7 mm.6
- 6 Superficie de la frente casi lisa.7
- 7 *Palidia* ligeramente recurvadas, convergentes en ambos extremos, cada *palidium* formado por 15-27 *pali* cortos. Frente con 8-13 sedas

anterofrontales. Anchura de la capsula cefálica 4.1-4.8 mm. Distribuida en casi todo México.*P. obsoleta* (Blanch.)

Sin embargo el resto de las larvas presentaron características que indican que todas pertenecen a la misma especie, siendo esta la más abundante en la zona.

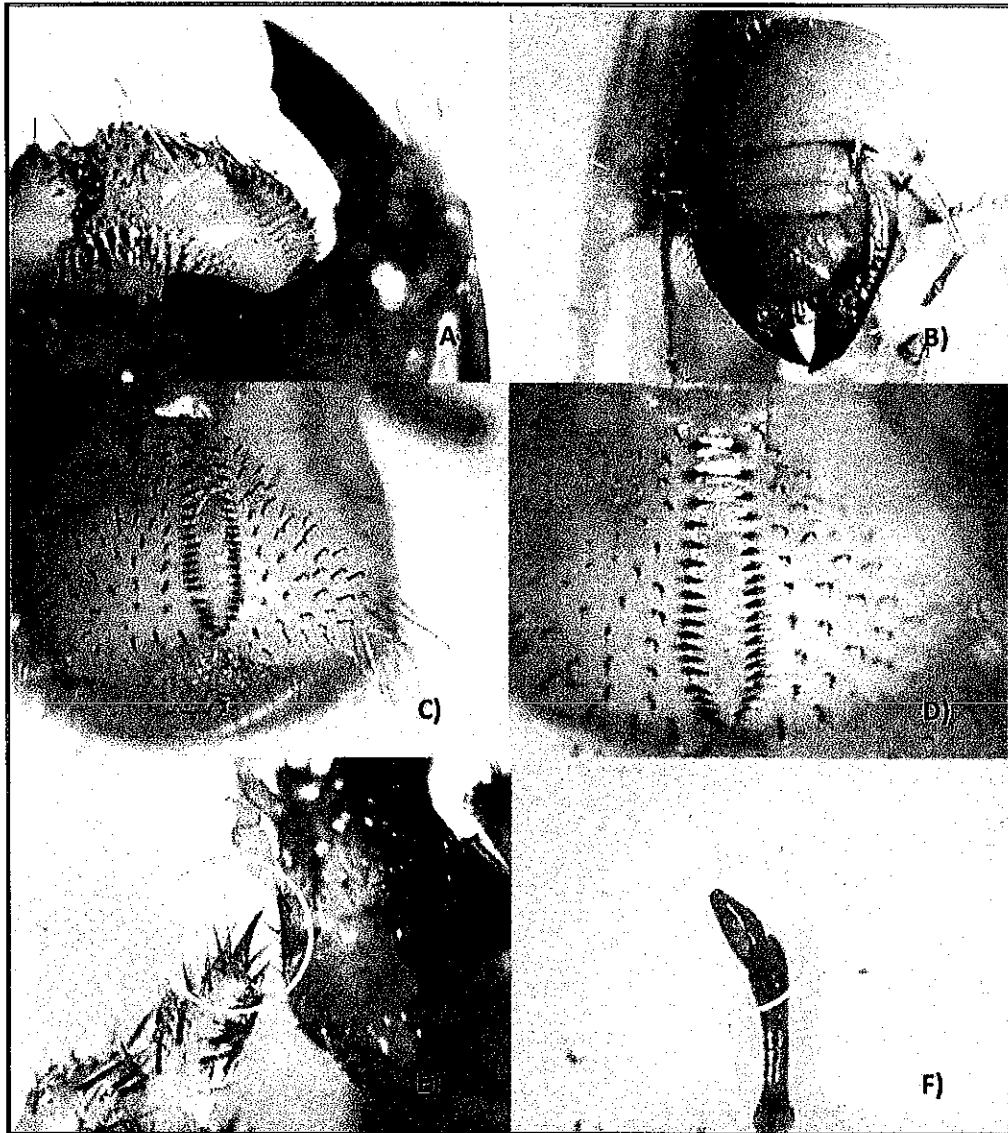


Figura 7. Principales características de *P. obsoleta* B. **A).**- Epifaringe sin *proplegmata*, **B).**- Vista frontal de la frente, **C).**- Raster, **D).**- Detalle de palidia mostrando cada uno de los *pali*, **E).**- Uña mesotarsal, **F).**- Último artejo antenal con un área sensorial ovalada dorsal.

4.6 Características físico-químicas del suelo.

De acuerdo con el Laboratorio Central Universitario, la muestra de suelo del lote donde se efectuó el experimento tiene un pH de 6.67, y de acuerdo con lo reportado por Ping Kung *et al* (1990) se tiene que este valor de es uno de los óptimos en los que *S. carpocapsae* suele ser más eficaz.

En cuanto a la textura se refiere, se tiene que el suelo esta compuesto por un 27.6 y 48.4 % de arena y arcilla respectivamente, dando una textura Arcillo-arenosa, esto aunado a la buena humedad que se tuvo antes, durante y después de aplicados los NEP's dio como resultado que las condiciones en que se desarrollo la actividad de los mismos, fueran las optimas; condiciones que se deben de tomar de manera importante antes de tener en cuenta la posibilidad de incluir a *S. carpocapsae* en algunos sistemas de Manejo integrado de plagas del suelo (MIP) ya que al ser organismos vivos estos requieren de condiciones óptimas y a veces especificas.

Cuadro 14. Características físicas y químicas del suelo donde se aplico *S. carpocapsae*

Ph	MO %	CIC Cmol(+)/Kg	Dap g/cm ³
6.67	1.34	35.6	1.02
Textura			
Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura
27.6	26.0	48.4	Arcillo-arenoso

5. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente experimento se concluye lo siguiente:

- ☉ La especie de gallina ciega sobre la cual *S. carpocapsae* actúo, se identifico como *Phyllophaga obsoleta* B.
- ☉ Dada la eficacia de *S. carpocapsae* formulado como producto comercial este puede ser incluido en los sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) del suelo, previo a tener en cuenta las condiciones en las que será aplicado con el fin de lograr altos índices en la eficacia.
- ☉ Las propiedades del suelo como pH, textura y humedad son determinantes en la actividad biológica de *S. carpocapsae* formulado comercialmente.
- ☉ Ninguno de los tratamientos a base del producto comercial provocó efectos fitotóxicos al cultivo.
- ☉ De acuerdo con el análisis estadístico todos los tratamientos presentan una eficacia similar, dado lo anterior se puede recomendar la aplicación de la dosis media y baja (15×10^6 y 25×10^6) con el fin de optimizar el producto.
- ☉ El producto "Ninja SC" es una alternativa biológica para el control de la gallina ciega *Phyllophaga obsoleta* Blanch.

6. LITERATURA CITADA

- ✓ Abarca G., E. Vargas, y R. Mata. 1992. Alternativas de combate del complejo de larvas de jobotos (*Phyllophaga* spp., *Anomala* spp., y *Cyclocephala* spp.) (Col.: Scarabeidae) en fresa (*Fragaria ananassa*). *Agronomía Costarricense* 16 (1): 45-54.
- ✓ Acevedo J, P. M., Moino J. A., Cavalcanti, R. S., Andalo, V. Mendonca, L. A. 2006. Effect of temperature, concentration and storage time on the survival of entomopathogenic nematodes. *Revista Colombiana de Entomología*. 32 (2): 24-30.
- ✓ Aguilar S. A. 1989. Desinfeste el sustrato de siembra por el método de medio de solarización de tubérculo-semillas de categoría básica de papa. INIAA-COYESU-CIP. Lima, Peru. 18 p.
- ✓ Alatorre R. R. 2002. Nematodos parásitos de insectos. *In*: Loaiza, V. J. M., R. Baez S. (Eds.) *Memorias del XIII Curso Nal. de Control Biológico*. Soc. Mex. de Control Biol. Hermosillo, Son. Pp. 106-111.
- ✓ Alumani, A., and P. S. Grewal. 2004. Tank-mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turf grass. *Biocontrol Science and Technology*. 14 (7): 725-730.
- ✓ Akurts R. J. y N. E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus* *In*: Gaugler R., y H. K. Kaya. (Eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press. Boca Raton, Fl. pp: 75-90.
- ✓ Aragón G. A., C. D. Nochebuena-Trujillo, M. A. Morón, y J. F. López-Olguín. 2008. Uso de trampas de luz fluorescente para el manejo de la gallina ciega (Coleóptera: Melolonthidae) en maíz (*Zea mays* L.). *Agrociencia*. 42: 217-223.

- ✓ Barbercheck, M. E. y L. C. Millar. 2000. Environmental impacts of entomopathogenic nematodes used for biological control in soil. *In*: Follet, P.A, Duan, J. J. (Eds.). Nontarget effects of biological control. Kluwer Academic Publishers. Norwel, Mass. USA. pp: 287-308.

- ✓ Beeding, R. A. 1981. Low cost *in vitro* production of *Neoplectona* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insects pests. *Nematologica* 27: 109-114.

- ✓ Bennett, A. M. R. 2003. Host location behaviour in *Pelecinus polyturator* (Hymenoptera: Pelecinidae). *Journal of the Entomological Society of Ontario*. 134: 131-134.

- ✓ Bernhard, G. 1972. Grzimek's animal life encyclopedia. Van Nostrand Compañy, New York. 643 pp.

- ✓ Boving, A. G. 1937. Keys to the larvae of 4 groups and 43 species of the genus *Phyllophaga*. Bureau of entomology and Plant Quarantine. USDA. 19 p.

- ✓ Bradford, M. R. K, F. P Hain y W. M. Brooks. 1988. Field supresión of threee White grubs species (Coleoptera: Scarabeidae) by the entomogenous nematodos *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis* *Journal of Economic Entomology*. 87 (4): 1033-1039.

- ✓ Bradstreet, C. 2004. *Xenorhabdus nematophilus*. http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2004/X_nematophilus.htm. fecha de consulta: 11 de noviembre 2008.

- ✓ CESAVEG. 2006. Campaña de manejo fitosanitario de cultivos básicos. Maíz. Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato. Irapuato, Gto., México. 18 pp.

- ✓ CESAVEG. 2008. Campaña de manejo fitosanitario de maíz. Información Técnica: Recomendaciones para el control de plagas de la raíz (gallina ciega – diabrotica) en el cultivo de maíz en Guanajuato. Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato. Irapuato, Gto., México. 4 pp.

- ✓ Chen ZA, Xie PH, Huang JR, Pan LC, Feng HY, Zhang YZ, 1995. Infectivity of *Metarhizium anisopliae* against the mulberry brown chafer *Holotrichia parallela*. (Abstract) Chinese Journal of Biological Control, 11(2):54-55.

- ✓ Coles, C. E. and B. H. Goodrich. 2008. The *Xenorhabdus nematophila* nilABC genes confer the ability of *Xenorhabdus* spp. to colonize *Steinernema carpocapsae* nematodes. Journal of Bacteriology 190 (12): 4121-4128.

- ✓ Connick, W. J., Jr. 1993. "Pesta", new granular formulation for *Steinernema carpocapsae*. Journal of Nematology 25 (2): 198-203.

- ✓ Cruz-López J. A., A. E. Castro R., C. Ramírez S. y B. Gómez G. 2001. Supresión manual de adultos de *Phyllophaga* spp. y *Anomala* spp. en maíz en México. Manejo integrado de plagas. 59: 41-47.

- ✓ Thompson. 2007. Diccionarios de especialidades agroquímicas. Versión 2007.

- ✓ Domínguez R. R. 1996. Taxonomía II. Neuróptera y Coleóptera, claves y diagnostico. Departamento de Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo, México

- ✓ Dupont, M. 1990. Manejo integrado de plagas. Documento de apoyo. ALTERNATEC. Nochistlan, Oaxaca, Mex. pp: 26-33.

- ✓ Ehler, L. E. 1990. Some contemporary issues in biological control of insects and their relevance to the use of entomopathogenic nematodes. *In*: Gaugler R., y H. K. Kaya. (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press. Boca Raton, Fl. pp. 1-19.

- ✓ Ehlers, R. U. y A. Peters. 1995. Entomopathogenic nematodes in biological control: feasibility, perspectives and possible risks. *In*: Hokkanen, H. M. T. y Lynch. J. M. (Eds.). Biological control: Benefit and risks. Cambridge University Press. New York. pp. 119-136.

- ✓ Ehlers, R. U., y D. I Shapiro-Ilan. 2005. Mass production. *In: Grewal, P. S., R. U Ehlers, D. I. Shapiro-Ilan. (Eds.). Nematodes as biocontrol agents. CABI publishing. Wallingford U. K. pp. 65-77.*
- ✓ Gaugler, R., y H. K. Kaya. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press. Boca Raton, Fl. 365 p.
- ✓ Georgis, R. y N. G. M. Hage. 1991. Nematodes as biological insecticides. *Pestic Outlook* 2:29-32.
- ✓ Georgis, R. 1990. Formulation and application technology. *In: Gaugler R., and H. K. Kaya. (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press. Boca Raton, Fl. pp: 173-191.*
- ✓ Georgis, R. y R. Gaugler. 1991. Predictability *In: biological control using entomopathogenic nematodes. Journal of Economic Entomology. 84 (3): 713-720.*
- ✓ Gonzales, H. H. 1996. Control biologico de plagas agricolas. *In: Control alternativo de insectos plaga. C. Rodriguez H. (Ed.). FUNDEA-CP. Tepoztlán, Mex. pp: 73-8.*
- ✓ Gouge, D. H., K. A. Smith, L. L. Lee, and T. J. Henneberry. 2000. Effect of soil depth and moisture on the vertical distribution of *Steinernema riobrave* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology. 32 (2): 223-228.*
- ✓ Grewal, P. S. and R. Georgis. 1999. Entomopathogenic nematodes. *In: Frnaklin R. H., Menn, J.J. (Eds.) Biopesticides: Use and Delivery. Humana Press. Totawa, New Jersey. pp. 271-298.*
- ✓ Grewal, P. S., A. M. Koppenhöfer, and H. Choo. 2005. Lawn, Turfgrass and pasture applications. *In: Grewal, P. S., R. U. Ehlers, and D. I. Shapiro-Ilan, (Eds.). Nematodes as biocontrol agents. CABI Publishing. Wallingford, UK. 505 p.*

- ✓ Griffin, C. T., N. E. Boemare, and E. E. Lewis. 2005. Biology and behaviour. *In: Grewal P. S., R. U. Ehlers, and D. I. Shapiro-Ilan (Eds.). Nematodes as biocontrol agents.* CABI publishing. Wallingford U. K. pp: 47-59.
- ✓ Hanson, P. 1996. Control biológico de Phyllophaga. Depredadores y parasitoides. *In: Memoria del seminario Taller Centroamericano sobre biología y control de Phyllophaga spp.* Turrialba, C. R. pp. 74-79.
- ✓ Hidalgo, E. 2001. Uso de microorganismos para el control de *Phyllophaga spp.* Revista Manejo integrado de Plagas. Hoja Técnica N° 37. CATIE. Costa Rica.
- ✓ Howarth, F. G. 1991. Environmental impacts of classical biological control. *Annual Review of Entomology.* 35: 485-509.
- ✓ Kaya, H. K. 1978. Interaction between *Neoplectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) and *Apanteles militaris* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the armyworm, *Pseudoaletia unipuncta* *Journal of invertebrate Pathology.* 31: 358-364.
- ✓ Kaya, H. K. and M. W. Stimman. 1987. Parasitic nematodes in biological control of insects pests. University of California Cooperative Extension Service. University of California, Berkely, Ca. 2 p.
- ✓ Kaya, H. K. 1990. Soil ecology. *In: Gaugler, R., y H. K. Kaya. (Eds.) Entomopathogenic nematodes in biological control.* CRC Press. Boca Raton, Fl. pp. 93-115.
- ✓ Kaya, H. K., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomology.* 38:181-206.
- ✓ King, A. B. S. 1994. Biology and identification of white grubs (Phyllophaga) of economic importance in Central America. *Tropical Pest Management,* 30(1):36-50.
- ✓ Klein, G. M. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insects pests. *In: Gaugler, R. and H.K. Kaya (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control.* CRC Press. Boca Raton Fl. pp. 195-214.

- ✓ Krishnaya, P. V. y P. S. Grewal. 2002. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Biocontrol science and technology* 12 (2): 259-266.
- ✓ Kung S., P., R. Gaugler., and H. K. Kaya. 1990. Soil type and entomopathogenic persistence. *Journal of Invertebrate Pathology*. 55: 401-406.
- ✓ Lagunes T., A., R. Domínguez, R., y C. Rodríguez M. 1985. Plagas del maíz en la mesa central. Documento de trabajo, Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Posgraduados y Depto. De Parasitología Agrícola UACH. 100 pp.
- ✓ Liu, S. J. 1994. The application of *Steinernema carpocapsae* Agriotos in sandy beach orchard. (Abstract). *Journal of Laiying Agricultural College* 11: 158-160.
- ✓ Loera G. J., y Vargas C. J. 1987. Ciclo biológico de la gallina ciega y su impacto en la agricultura regional. Desplegado para productores. INIFAP, Campo experimental Rio Bravo, Tamps.
- ✓ Marín, J. A. 2001. Abundancia del complejo gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae) asociado al cultivo del maíz en el centro de México. *Agricultura técnica en México*. 27 (2):119-131.
- ✓ Marquez, J. M., and G. Ralda. 2005. Effect of whitegrubs (*Phyllophaga* sp.) and wireworms (*Dipropus* sp.) on sugarcane yield in Guatemala (Abstract). *Sugar Cane International* 23 (5): 15-23.
- ✓ Martens, C. E., and B. H. Goodrich. 2005. The *Steinernema carpocapsae* intestinal vesicle contains a subcellular structure with which *Xenorhabdus nematophila* associates during colonization initiation. *Cellular Microbiology* 7 (12) :1723-1735.
- ✓ Misra, S.S., and V. K. Chandla. 1989. White grubs infesting potatoes and their management. *Journal Indian Potato Association*, 16(1/2):29-33.

- ✓ Molina J. P., J. A. Moino, and R. S. Cavalcanti. 2004. Production in vivo of entomopathogenic nematodes in different host insects. *Arquivos do Instituto Biológico*. 71 (3): 347-354.
- ✓ Morón M. A. 1983. Introducción a la biosistemática y ecología de los coleópteros Melolonthidae edafícolas del México. II Mesa redonda sobre plagas del suelo. Chapingo, Mex. p 14.
- ✓ Morón M. A. 1984. Escarabajos 200 millones de años de evolución. Publicación 14. Instituto de Ecología. México. 132 pp.
- ✓ Morón M. A. 1988. Las especies de *Phyllophaga* en México (Coleóptera: Melolonthidae) con mayor importancia agrícola en México. *In: Memoria de la III Mesa redonda sobre plagas del suelo. Sociedad Mexicana de Entomología*. pp. 81-102.
- ✓ Morón M. A. 1998. Las especies de *Phyllophaga* (Coleóptera: Melolonthidae) con importancia agrícola en Nayarit, México. *In: Morón M. A. y A. Aragón. (Eds.). Avances en los estudios de la diversidad, importancia y manejo de los Coleópteros edáficos americanos. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y Sociedad Mexicana de Entomología A. C. Puebla, México. pp. 79-98.*
- ✓ Morón M. A., C. Ratcliffe, B. y C. Deloya. 1997. Atlas de los escarabajos en México, Coleóptera: Lamellicornia, Vol. I Familia Melolonthidae. CONABIO y Sociedad Mexicana de Entomología. 278 pp.
- ✓ Morón M. A. 2006. Revisión de las especies de *Phyllophaga* (*Phytalus*) grupos obsoleta y pallida (Coleóptera: Melolonthidae; Melolonthinae). *Folia Entomológica Mexicana*. 45 (1): 1-104.
- ✓ Nguyen, K. B., and G. C. Smart. 1996. Identification entomopathogenic nematodes in the steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata: Rhabditida). *Journal of nematology* 28 (3): 286-300.

- ✓ Ping Kung, S., R. Gaugler, and H. K. Kaya, 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. *Journal of Nematology*. 22 (4): 440-445.
- ✓ Poinar, G. O. 1979. *Nematodes for biological control of insects*. CRC Press. Boca Raton, Fl. 277 p.
- ✓ Poinar Jr., G. O. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Herorhabditidae.. *In*: Gaugler, R. y H. K.Kaya. (Eds.). *Entomopathogenic nematodes in Biological control*. CRC Press. Boca Raton, Fl. Pp. 54-58.
- ✓ Popiel I., W. M. and Hominick. 1992. Nematodes as biological control agents. *Advances in Parasitology* 31: 381-433.
- ✓ Puneet, K. and B. B. Nirupama. 2003. Insecticidal Activity Associated with the Outer Membrane Vesicles of *Xenorhabdus nematophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 (4): 2032-2037.
- ✓ Ramírez S. C., y A. E. Castro R. 2000. El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el cultivo del maíz, en el municipio del Amatenango del Valle, Chiapas, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana*. 79: 17-41.
- ✓ Ramírez S. C., M. A. Morón y A. Castro R. 2000. Descripción de los estados inmaduros de 6 especies de *Phyllophaga* (Coleóptera: Melolonthidae; Melolonthiae) de la región Altos de Chiapas, México. *Folia Entomológica Mexicana*. 109:73:106.
- ✓ Ríos R. F., y S. Romero P. 1982. Importancia de los daños por insectos del suelo en el estado de Jalisco, México. *Folia Entomológica. Mex*. 52: 41-60.
- ✓ Rovesti, L. 1990. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda:Steinernematidae). *Nematologica* 36 (2): 237-245.

- ✓ Salguero N. V. 1994. Control químico de plagas del suelo con énfasis en *Phyllophaga*. Seminario-Taller Centroamericano sobre la biología y control de *Phyllophaga* spp. Costa Rica. pp: 94-100.
- ✓ Shannon, J. P. 1996. Control microbiano de *Phyllophaga* spp. (Col: melolonthidae). *In: Memoria Seminario taller Centroamericano sobre la biología y control de Phyllophaga* spp. Turrialba, C. R. pp. 80-93.
- ✓ Shapiro, D.I., J. J. Obrycki, L. C. Lewis, and J. J. Jackson. 1999. Effects of crop residue on the persistence of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology*. 32 (2): 517-519.
- ✓ Susurluk I.A. 2008. Influence of temperature on the vertical movement of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (TUR-S3) and *Heterorhabditis bacteriophora* (TUR-H2), and infectivity of the moving nematodes. *Nematology* 10: 137-141.
- ✓ Susurluk I.A. 2008a. Effects of various agricultural practices on persistence of the inundative applied entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema feltiae* in the field. *Russian Journal of Nematology*. 16 (1): 23-32.
- ✓ Tanada, Y. y H. K. Kaya. 1993. Nematodes; nomatomorphs and Platyhelminthes. *In: Insect Pathology*. Academic Press. San Diego, Ca. pp: 459-491.
- ✓ Tan. K. H. 1996. Soil Sampling, preparation and analysis. Marcel Dekker Inc. New York, NY. 407 p.
- ✓ Van, D. J. W. 1997. Insect pest management in fiel corn. NCCES. http://ipm_www.ncsu.edu/corn/acounting/scout.html. fecha de consulta: 08 de noviembre 2008.
- ✓ Vallejo F., M. A. Morón, y S. Orduz. 2007. Biología de *Phyllophaga obsoleta* (Coleóptera: Melolonthidae), especie rizófaga del complejo "chisa" en Colombia. *Boletín científico. Museo de Historia Natural*. 11: 188-204.

- ✓ Velásquez H. M. V. y C. H. Arredondo B. 1999. Consideraciones para la introducción y liberación de nematodos entomopatógenos (Rhabditida; Steinernematidae, Heterorhabditidae). *In*: Velásquez H. M. V., C. H. Arredondo B. y J. Molina O. (Eds.). Potencial de nematodos entomopatógenos en el control de plagas. Universidad de Colima, Col. Mex. pp: 79-92.

- ✓ Villalobos F. J. 1995. El manejo sostenible de plagas del suelo: El caso de larvas Melolonthidae. *In*: Aragon A. (Ed.). Control de plagas con métodos alternativos al químico. Sociedad Mexicana de Entomología A. C. Puebla, México. pp: 68-89.

- ✓ Vora VJ, Ramakrishnan N, 1978. Studies on the milky disease of white-grub, *Holotrichia consanguinea* Blanchard (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Entomological Research*, 2(2):136-141.

- ✓ Wennemann, L., C. H. Shanks, and K. A. Smith. 2004. Movement of entomopathogenic nematodes in soils of *Fragaria* spp. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 69 (3): 347-357.

- ✓ Woodring, J.L y H. K. Kaya. 1988. Steinernematid and heterorhabditis nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern Cooperative Series Bulletin 331. AAES. Fayetteville, Arkansas 30 p.

7. APENDICE

**PROMEDIO DE LARVAS VIVAS DE GALLINA CIEGA POR SITIO MUESTREADO
MUESTREO PREVIO**

		Muestra				Σ	X			Muestra				Σ	X
BLOQUE I		1	2	3	4			BLOQUE II		1	2	3	4		
Trat.								Trat.							
A		3	1	1	1	6	1.50	A		0	2	3	1	6	1.50
B		4	1	1	2	8	2.00	B		0	2	1	3	6	1.50
C		2	1	0	4	7	1.75	C		3	2	1	2	8	2.00
D		3	1	1	3	8	2.00	D		0	1	2	2	5	1.25
E		2	1	1	1	5	1.25	E		3	1	3	0	7	1.75

		Muestra				Σ	X			Muestra				Σ	X
BLOQUE III		1	2	3	4			BLOQUE IV		1	2	3	4		
Trat.								Trat.							
A		2	4	0	2	8	2.00	A		1	0	3	1	5	1.25
B		1	3	1	0	5	1.25	B		1	3	2	5	11	2.75
C		0	2	1	1	4	1.00	C		1	1	5	0	7	1.75
D		1	0	0	1	2	0.50	D		3	1	0	5	9	2.25
E		4	2	1	1	8	2.00	E		0	1	1	3	5	1.25

RESUMEN DE DATOS

MUESTREO PREVIO

		Muestra				Σ	X			Muestra				Σ	X
BLOQUE I		1	2	3	4			BLOQUE II		1	2	3	4		
Trat.								Trat.							
A		0.5454	0.1872	0.1968	0.2092	1.1386	0.2846	A		0.0000	0.3401	0.5244	0.1865	1.0510	0.2627
B		0.6993	0.1953	0.1915	0.3225	1.4086	0.3521	B		0.0000	0.3460	0.1592	0.5859	1.0911	0.2727
C		0.3144	0.1968	0.0000	0.7692	1.2804	0.3201	C		0.5357	0.3322	0.1644	0.3401	1.3724	0.3431
D		0.4360	0.1562	0.1872	0.5681	1.3475	0.3368	D		0.0000	0.1718	0.3984	0.3731	0.9433	0.2358
E		0.3154	0.1547	0.1930	0.1766	0.8397	0.2099	E		0.4934	0.1858	0.4731	0.0000	1.1523	0.2880

		Muestra						Muestra							
BLOQUE III	Trat.	1	2	3	4	Σ	X	BLOQUE IV	Trat.	1	2	3	4	Σ	X
	A	0.3802	0.5970	0.0000	0.3649	1.3421	0.3355		A	0.1858	0.0000	0.5172	0.1633	0.8663	0.2165
	B	0.1661	0.4761	0.1587	0.0000	0.8009	0.2002		B	0.1937	0.5494	0.3690	0.9328	2.0449	0.5112
	C	0.0000	0.3891	0.1838	0.1886	0.7615	0.1903		C	0.1915	0.1700	0.8591	0.0000	1.2206	0.3051
	D	0.1689	0.0000	0.0000	0.2100	0.3789	0.0947		D	0.5703	0.1865	0.0000	0.9363	1.6931	0.4232
	E	0.7407	0.3401	0.1712	0.1953	1.4473	0.3618		E	0.0000	0.2083	0.1865	0.5300	0.9248	0.2312

EVALUACIÓN 1

		Muestra						Muestra								
BLOQUE I	Trat.	1	2	3	4	Σ	X	BLOQUE II	Trat.	1	2	3	4	Σ	X	
	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.1736	0.1736	0.0434	
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.2049	0.0000	0.0000	0.0000	0.2049	0.0512	
	D	0.1886	0.0000	0.0000	0.0000	0.1886	0.0471		D	0.0000	0.0000	0.1779	0.0000	0.1779	0.0444	
	E	0.4347	0.0000	0.2590	0.4739	1.1676	0.2919		E	0.6024	0.7462	0.2325	0.2092	1.7903	0.4475	

		Muestra						Muestra								
BLOQUE III	Trat.	1	2	3	4	Σ	X	BLOQUE IV	Trat.	1	2	3	4	Σ	X	
	A	0.2293	0.0000	0.0000	0.0000	0.2293	0.0573		A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	D	0.0000	0.0000	0.0000	0.2577	0.2577	0.0644		D	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	E	0.1915	0.0000	0.4201	0.1908	0.8024	0.2006		E	0.0000	0.0000	0.4347	0.2283	0.6630	0.1657	

RESUMEN DE DATOS

EVALUACIÓN 2

		Muestra								Muestra					
		Trat.	1	2	3	4	Σ			X	Trat.	1	2	3	4
BLOQUE I	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	BLOQUE II	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	B	0.0000	0.0000	0.1577	0.0000	0.1577	0.0394		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	D	0.1845	0.0000	0.0000	0.0000	0.1845	0.0461		D	0.0000	0.0000	0.3773	0.0000	0.3773	0.0943
	E	0.1612	0.1497	0.0000	0.1385	0.4494	0.1123		E	0.0000	0.3154	0.3003	0.1865	0.8022	0.2005

		Muestra								Muestra					
		Trat.	1	2	3	4	Σ			X	Trat.	1	2	3	4
BLOQUE III	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	BLOQUE IV	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	D	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		D	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	E	0.0000	0.5434	0.0000	0.0000	0.5434	0.1358		E	0.3937	0.3906	0.0000	0.5859	1.3702	0.3425

EVALUACIÓN 3

		Muestra								Muestra					
		Trat.	1	2	3	4	Σ			X	Trat.	1	2	3	4
BLOQUE I	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	BLOQUE II	A	0.0000	0.1592	0.0000	0.0000	0.1592	0.0398
	B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.1893	0.0000	0.0000	0.0000	0.1893	0.0473
	D	0.0000	0.0000	0.0000	0.3472	0.3472	0.0868		D	0.0000	0.0000	0.1879	0.0000	0.1879	0.0469
	E	0.3891	0.0000	0.3472	0.3816	1.1179	0.2794		E	0.1694	0.5747	0.3663	0.7812	1.8916	0.4729

		Muestra								Muestra					
		Trat.	1	2	3	4	Σ			X	Trat.	1	2	3	4
BLOQUE III	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	BLOQUE IV	A	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		B	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000		C	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	D	0.0000	0.1851	0.0000	0.0000	0.1851	0.0462		D	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	E	0.1628	0.0	0.1510	0.1689	0.4827	0.1206		E	0.1824	0.0000	0.0000	0.0000	0.1824	0.0456

