

## 2. Métodos de Estudio

L. A. RODRÍGUEZ-DEL-BOSQUE<sup>1</sup>, M. B. NÁJERA-RINCÓN<sup>2</sup> Y J. RUIZ-VEGA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Río Bravo, Km 61 Carretera Matamoros-Reynosa, Río Bravo, Tam 88900 MEXICO, rodriguez.luis@inifap.gob.mx

<sup>2</sup>INIFAP, Campo Experimental Uruapan, Av. Latinoamericana No. 1101, Col. Revolución, Uruapan, Mich. 60500 MEXICO

<sup>3</sup>CIIDIR-Oaxaca, IPN, Calle Hornos 1003, Santa Cruz, Xoxocotlán, Oax. 71230 MEXICO.

### RESUMEN

Se presenta un breve análisis histórico sobre las metodologías y herramientas utilizadas para el estudio de las plagas del suelo. Se analizan los métodos para la colecta y preservación de especímenes y su utilidad para los estudios taxonómicos y morfológicos. Se discuten los principales materiales y métodos utilizados en campo, invernadero y laboratorio para dilucidar aspectos sobre la biología, comportamiento y manejo de los insectos rizófagos de importancia económica, con énfasis en los estudios desarrollados en México sobre "gallinas ciegas" (Melolonthidae), gusano raicero (*Diabrotica* spp.), gusano saltarín (*Elasmopalpus lignosellus*) y palomilla de la papa (*Phthorimaea operculella*). Se discuten las ventajas y desventajas de algunos sistemas modernos de monitoreo de insectos subterráneos desarrollados durante los últimos años, tales como los sensores acústicos, microtomografía por rayos-X y el radar armónico. Se analizan los retos y perspectivas para el estudio de las plagas del suelo en México durante la próxima década, con un enfoque hacia el holismo, interacciones multitróficas y solución de problemas multiobjetivo. Finalmente, se enfatiza en la necesidad de fomentar la sinergia entre investigadores e instituciones para generar alternativas de manejo de plagas en el menor tiempo posible.

### ABSTRACT

A brief historical analysis on methodologies and tools used for the study of soil insect pests is presented. Methods for collecting and preserving specimens and their use for taxonomic and morphological studies are analyzed. The main materials and methods used in field, greenhouse, and laboratory to elucidate aspects on the biology, behavior, and pest management of rizophagous insects are discussed with emphasis on studies conducted in Mexico on white grubs (Melolonthidae), corn rootworms (*Diabrotica* spp.), lesser cornstalk borer (*Elasmopalpus lignosellus*) and potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*). Advantages and disadvantages of modern methods for monitoring subterranean insects, such as acoustic sensors, X-ray microtomography, and harmonic radar are discussed. Challenges and perspectives for the study of soil insect pests in Mexico during the next decade, focussing on holism, multitrophic interactions and multiobjective problem solving, are analyzed. Finally, the need for a major interaction among research scientists and institutions to offer pest management alternatives as quick as possible is emphasized.

## INTRODUCCIÓN

El trabajo presentado por McColloch (1929) en el IV Congreso Internacional de Entomología celebrado en E.U.A inició así: “El control de las plagas del suelo representa uno de los problemas más antiguos y difíciles que los entomólogos han tenido que enfrentar”. Lo anterior parece prevalecer 80 años después, ya que una revisión de la literatura mundial sobre la interacción insecto-planta durante las últimas dos décadas reveló que menos del 2% de los trabajos se dedicaron a insectos rizófagos, como consecuencia de la dificultad para su estudio por sus hábitos subterráneos (Hunter 2001, Gange 2005, Johnson *et al.* 2007). Para superar los obstáculos que presentan los insectos edafícolas, se ha logrado el desarrollo ingenioso de diversos aparatos, herramientas y métodos especializados para dilucidar aspectos sobre su biología, etología y manejo. Aunque algunas técnicas para el estudio de las plagas del suelo son universales y tienen casi un siglo de haberse desarrollado (Cameron 1913, Davis 1915, Hayes 1917, McColloch 1917), recientemente se han propuesto otros procedimientos no destructivos que permiten ahorros en tiempo y costo mediante el uso de herramientas modernas como los sensores acústicos, microtomografía por rayos-X y radar armónico (Johnson *et al.* 2007), todos ellos aun no utilizados en México, por lo que su validación o adecuación es una oportunidad en el corto y mediano plazo.

El presente capítulo ofrece un breve análisis sobre los materiales y métodos utilizados tradicionalmente para el estudio de las plagas del suelo y se discuten las ventajas y desventajas de algunos sistemas modernos de monitoreo desarrollados durante los últimos años. Para examinar con mayor detalle los métodos para el estudio de los insectos subterráneos se sugiere consultar a King (1939), Macfadyen (1962), Ritche (1966), Krysan y Miller (1986), Morón (1986), Southwood (1987), Brown y Gange (1990), Salvadori *et al.* (2004), Gange (2005), Vidal *et al.* (2005) y Johnson *et al.* (2007).

## COLECTA, PRESERVACIÓN Y CLASIFICACIÓN

La recolección de insectos tiene como objetivo la captura de especímenes para su preservación con fines morfológicos y taxonómicos, sin considerar los atributos poblacionales (Morón y Terrón 1988). La colecta de insectos subterráneos debe realizarse en primera instancia con métodos directos en la rizósfera y base del tallo de las plantas hospederas, donde ocurre la interacción insecto-planta y se producen los daños. Los métodos directos capturan principalmente los estados inmaduros del insecto, por lo que algunos especímenes deberán preservarse como tales y otros deberán criarse en laboratorio para obtener adultos, ya que en la mayoría de los casos es la única forma de identificar la especie (Morón 1986). Complementariamente, existen diversos métodos indirectos para la colecta de adultos por lo general con fines faunísticos, aunque éstos deben interpretarse con reserva ya que en numerosas ocasiones los especímenes capturados no corresponden con las especies rizófagas, además de desconocerse su procedencia y hábitos alimenticios (Méndez *et al.* 2005).

El método directo más común para la recolección de insectos subterráneos es el muestreo de suelo mediante la extracción de un cepellón que incluya la raíz de la planta hospedera (ver detalles más adelante en la sección “muestreo”). Una vez que se obtienen manualmente los inmaduros, éstos se matan en líquido Kahle (28 partes de alcohol etílico 96%, cuatro partes de ácido acético glacial, 11 partes de formol al 5% y 57 partes de agua destilada) o en líquido de Pampel (27 partes de alcohol etílico al 96%, 11 partes de formol al 5%, siete partes de ácido acético glacial y 55 partes de agua destilada); en ambos casos, los inmaduros se transfieren unos días después a alcohol etílico al 70%, donde se conservan permanentemente. Un método sencillo para preservar las larvas consiste en sumergirlas vivas durante 3-4 minutos en un recipiente con agua

hirviendo, para posteriormente conservarlas en alcohol etílico al 70% (Morón y Terrón 1988).

El método de recolecta indirecto más utilizado para coleópteros adultos con hábitos crepusculares o nocturnos es la trampa de luz, la cual se basa en el fototropismo positivo de dichos insectos. Esta trampa puede ser de dos tipos: (a) La pantalla, que permite seleccionar a los insectos de interés entre todos los que se posan en la manta (García *et al.* 2003); y (b) el embudo, que no es selectiva ya que la mayoría de organismos atraídos son muertos por los vapores tóxicos de cianuro de potasio, vapona u otro veneno, que emite el frasco colector situado en la base de la trampa. En ambos casos puede emplearse luz fluorescente blanca o ultravioleta, luz incandescente amarilla o luz de vapor de mercurio, por separado o en forma combinada, de acuerdo con los objetivos de la colecta, ya que las proporciones de las longitudes de onda que emiten son diferentes y no siempre tienen el mismo efecto en todos los insectos. La potencia es también importante en la efectividad de la trampa, ya que influye en su radio de alcance; lo recomendable es 80 W para luz fluorescente y 160-175 W para luz de vapor de mercurio (Morón y Terrón 1988). Los adultos de Melolonthidae también se pueden coleccionar manualmente en las parcelas agrícolas durante la noche con la ayuda de lámparas manuales (Méndez *et al.* 2005).

Existen otros métodos indirectos de captura de insectos edafícolas, entre ellos las trampas con cebos, feromonas, pegajosas, "pit-fall" (caída en pozo), de barrera (intercepción del vuelo) y de emergencia (Peck y Davis 1980, Donaldson *et al.* 1986, Loera y Lynch 1987, Amparán 1988, Morón y Terrón 1988). Hébert *et al.* (2004) desarrollaron la trampa Luminoc® para el estudio de la diversidad de escarabajos que consiste en una combinación de la trampa "pit-fall" con una lámpara de luz que contiene una minibarra fluorescente de 1.8 W operada con una batería de 6-V. Esta nueva trampa captura significativamente una mayor diversidad y cantidad de escarabajos que la trampa tradicional de "pit-fall".

Para matar adultos de coleópteros edafícolas se recomienda la cámara letal con acetato de etilo, sencilla de preparar, ya que solo se necesita un frasco con tapa de rosca y papel absorbente empapado con acetato de etilo en el fondo. Se recomienda no utilizar alcohol al 70% ya que los ejemplares tienden a endurecerse, lo que dificulta la extracción del aparato genital, indispensable para la identificación de algunas especies. Finalmente, los adultos deben prepararse para su montaje en seco e incorporarlos a una colección entomológica. Las técnicas de montaje y etiquetado, así como el diseño, organización y conservación de colecciones de insectos se detallan en Borrór *et al.* (1976) y Morón y Terrón (1988).

Los estudios taxonómicos y morfológicos sobre insectos subterráneos son incipientes en México, aunque existe un avance significativo en las últimas dos décadas, particularmente en la familia Melolonthidae y género *Phyllophaga* (Morón 1986, 2006). Dichos estudios incluyen generalmente descripciones de los adultos de ambos sexos, ilustraciones de las estructuras diagnósticas, mapas de distribución, hipótesis filogenéticas, comentarios zoogeográficos y claves para separar las especies (Morón 2006). En menor medida se ha estudiado la morfología de inmaduros de insectos rizófagos en el país, aunque para algunos estados como Chiapas y Puebla se ofrecen claves sumamente útiles para la identificación de larvas de diferentes especies concurrentes (Ramírez *et al.* 2000, Aragón y Morón 2004a). Ciertas microestructuras en el corion permiten diferenciar los huevos de cuatro especies de *Dia-brotica* (Krysan 1985).

## ESTUDIOS EN CAMPO

Aunque las investigaciones en campo son afectadas por factores del clima, estos trabajos son fundamentales en el estudio de las plagas del suelo para determinar sus daños, ciclo de vida, ecología, comportamiento y enemigos naturales, además de evaluar alternativas para su control. Los estudios de campo representan el primer

paso para la identificación de especies y cuantificación de su importancia económica en un agroecosistema determinado. La necesidad de estudios más detallados en invernadero y laboratorio se deriva siempre de la información preliminar obtenida en los estudios de campo. A su vez, la información generada en laboratorio e invernadero tiene que ser corroborada en estudios de campo, particularmente cuando se proponen tecnologías de control que deben ser validadas bajo las condiciones de los productores.

Para evitar la heterogeneidad en la distribución espacial de las plagas del suelo, algunos experimentos de campo para determinar la interacción insecto-planta o evaluar métodos de control se conducen bajo condiciones “semicontroladas” como la infestación artificial directamente en las parcelas de prueba (Rodríguez-del-Bosque 1983) o en bolsas de plástico y tubos de PVC enterrados en el suelo (Ruiz *et al.* 2006). Sutter y Branson (1985) desarrollaron un aparato acoplado a un tractor para la infestación artificial de huevos de *Diabrotica*, con la capacidad de liberar hasta cinco densidades de población a la vez.

## Muestreo

Representa uno de los aspectos metodológicos más importantes en el estudio de las plagas del suelo (Cameron 1913, King 1939, Macfadyen 1962, Romero 1978, Gange 2005). El método, tamaño, número, época, frecuencia y herramientas utilizadas en el muestreo son fundamentales para inferir correctamente sobre algunos parámetros poblacionales de la plaga (media, varianza) y evaluar el nivel de infestación y daño para consecuentemente tomar decisiones sobre su manejo. El muestreo es además importante para determinar la biología y ecología de los insectos del suelo. Una de las aplicaciones más recientes del muestreo lo representa el uso de sistemas de información geográfica para ubicar las zonas con plagas del suelo, como el trabajo desarrollado por González y Urías (2004) en Nayarit, donde se delimitaron las áreas de mayor infestación de “gallinas ciegas” con propósitos de pre-

vención y control, además de relacionar la presencia de la plaga con las características del suelo y altitud.

Aunque los primeros estudios se enfocaron a la detección y cuantificación de insectos del suelo mediante un solo método de muestreo, en la actualidad se reconoce la necesidad de utilizar diversos métodos en virtud de las diferencias entre especies, así como la variabilidad en las condiciones físico-químicas del suelo y de la vegetación asociada. Por lo tanto, bajo ciertas condiciones, cada uno de los métodos estimará la densidad de población con cierta precisión, pero ningún método será infalible para todas las condiciones o grupos de insectos (Southwood 1987). Los métodos de muestreo de plagas del suelo pueden clasificarse de la siguiente manera:

1. **Directo.** Los insectos se detectan y cuantifican físicamente mediante muestras de suelo. En todos los casos, se requieren herramientas o implementos para extraer del suelo la muestra y exponer a los individuos, por lo que también se le conoce como “muestreo destructivo” (Gange 2005).

- 1.1 **Absoluto.** Se utilizan palas, “poceras” o cualquier instrumento para obtener un volumen determinado de suelo y después de examinar su contenido se cuantifica la densidad de la plaga por unidad de muestra. El tamaño de las muestras absolutas más utilizados en cultivos anuales es de 30 x 30 x 30 cm (largo x ancho x profundidad) (King 1939, Rodríguez-del-Bosque 1988), aunque la profundidad varía de acuerdo al tamaño de la raíz, características del suelo (humedad y textura) y la biología del insecto; por ejemplo, durante el invierno las larvas de *Phyllophaga crinita* llegan a profundizar hasta 80 cm (Rodríguez-del-Bosque 1988). Por otra parte, Jordan *et al.* (2007) no detectaron diferencias en la densidad

de plagas del suelo entre muestras “estándar” de 30 x 30 cm y 15 cm de profundidad y muestras “compactas” de 20 x 20 cm y 15 cm de profundidad, una vez se aplicó un factor de corrección de 2.25, que equivale a la proporción entre ambos tamaños de muestra ( $90 \text{ cm}^2/40 \text{ cm}^2$ ). En cultivos perennes y sistemas forestales se ha utilizado un tamaño de muestra de 0.5 o 1  $\text{m}^2$  (Romero 1978, Tapia *et al.* 2003), mientras que en pastos, la muestra se obtiene comúnmente con un instrumento que extrae cilindros de suelo de 10 cm de diámetro y 21 cm de profundidad, que se utiliza para hacer los hoyos de golf (Fisher y Bergman 1985, Zhang *et al.* 2003b).

El número de muestras ha sido uno de los aspectos más variables en el estudio y manejo de insectos del suelo. Por cuestiones prácticas, algunos autores sugieren un número fijo de muestras, que varía de cinco (González 1983) a 25 (Morón y Terrón 1988). Otros rechazan lo anterior bajo el argumento de que el número de muestras depende de la precisión deseada y de la densidad y disposición espacial de la plaga y sugieren el uso de sistemas de muestreos dinámicos con un número variable de muestras. Por ejemplo, Pérez y Badii (1990) determinaron que la disposición espacial de larvas de *Diabrotica virgifera zea* Krysan & Smith en maíz en tres localidades de Jalisco fue agregada y que el número de muestras requeridas para hacer inferencias confiables sobre la población de la plaga varió de cuatro a 38, en función de su densidad y nivel de agregación. Similarmente, Torres y Ayala (1993) en un estudio con huevos de *D. virgifera zea* en maíz en el Estado de México determinaron que el número de muestras

necesarias para una precisión del 0.025 fue de 16, 32 y 64 para muestreos efectuados en septiembre, octubre y noviembre, respectivamente. Por su parte, Rodríguez-del-Bosque (1980b) propuso un muestreo secuencial de larvas de *Phyllophaga crinita* (Burmeister) en maíz en Tamaulipas, con un mínimo de 10 y un máximo de 25 muestras por cada 20 ha, en función de la densidad de la plaga. Foster *et al.* (1982) desarrollaron un programa de muestreo secuencial para adultos de *Diabrotica* que ahorra un 36% en tiempo comparado con el sistema de muestreo fijo; además, el muestreo de este insecto en una línea recta en el campo fue igualmente preciso que el sistema tradicional en forma de “W”, aunque se ahorra un 51% en el tiempo de muestreo (Losey *et al.* 2003).

El procesamiento de las muestras de suelo obtenidas por el método directo-absoluto puede ser de dos formas: (1) En laboratorio, donde la muestra se procesa manualmente a través de cernidores, con o sin el uso de agua a presión, para obtener huevos, larvas y pupas (Macfadyen 1962) o mediante aparatos diseñados particularmente para capturar huevos y larvas mediante un proceso de lavado y flotación (Montgomery *et al.* 1979) o mediante flujos diferenciales de agua (Blank y Bell 1988); y (2) directamente en campo donde se obtuvo la muestra (*in situ*). En este caso, se coloca una manta o plástico oscuro, donde se vierte la muestra de suelo para hurgar y localizar visualmente las plagas del suelo; en caso necesario los terrones se desmenuzan manualmente (Rodríguez-del-Bosque 1980b, Morón y Terrón 1988).

En laboratorio, Linton *et al.* (1994) compararon dos métodos de lavado y

flotación para la extracción de huevos de *D. virgifera zea* en suelos infestados artificialmente y encontraron diferencias significativas entre ellos. Cuando iniciaron los estudios sobre plagas del suelo en el norte de Tamaulipas a fines de los 1970's, el procesamiento de muestras se realizó en laboratorio mediante cernidores y lavado en agua para identificar la especie más importante; una vez que se determinó que la "gallina ciega" *P. crinita* era la plaga clave, se optó por procesar las muestras directamente en campo, lo cual representó un ahorro considerable en tiempo y costo, ya que las larvas de este insecto son fácilmente identificables por su gran tamaño y color blanco que contrasta con el color del suelo (Rodríguez-del-Bosque 1980b, 1988). El lavado de las muestras tiene la desventaja de dañar los insectos, lo que puede provocar imprecisiones al no poder discernir si dichos especímenes estaban muertos antes o después del proceso de lavado (King 1939).

1.2 **Relativo.** El objetivo principal de este tipo de muestreo es detectar la presencia de la plaga, sin importar la densidad de la misma. Estos muestreos son importantes para la detección temprana de las plagas del suelo antes de la siembra, con propósitos de manejo (Romero 1978). En esta categoría se encuentran los muestreos mediante cebos (Rodney y Keaster 1977) y las observaciones visuales de insectos expuestos con el arado. Es posible que los muestreos relativos ofrezcan un indicador confiable de la densidad de las plagas del suelo mediante un factor de corrección, previamente determinado a través de un análisis de regresión (Roberts y Smith 1972).

2. **Indirecto.** La presencia de las plagas del suelo se determina mediante los daños directos o indirectos que provocan en las plantas o mediante métodos de detección "no destructivos" a través del sonido, radar y rayos-X. En los muestreos indirectos, la densidad de las plagas es desconocida, excepto en los casos en los que se haya desarrollado un modelo que correlacione los datos obtenidos indirectamente con la densidad real del insecto. Otra forma indirecta para determinar *a posteriori* la abundancia de plagas del suelo es mediante la captura de adultos una vez que emergen del suelo (Rodríguez-del-Bosque y Magallanes 1994).

2.1 **Daños directos.** En estos casos se evalúan los daños al sistema radicular, tallo subterráneo, tubérculos o plantas trozadas en su base. Uno de los métodos de muestreo indirecto mediante la estimación del daño a la raíz es la escala de 1-6 desarrollada en E.U.A. (Hills y Peters 1971) y utilizada en diversos estudios en México con gusano raicero y "gallinas ciegas" (De Abiega y Romero 1981). El conteo de plantas trozadas es una práctica común para el estudio y manejo del gusano trozador *Agriotes ipsilon* (Hufnagel) (Rodríguez-del-Bosque 1986a).

2.2 **Daños indirectos.** Son los efectos indirectos provocados por la alimentación (daño directo) de las plagas del suelo, por ejemplo amarillamiento, necrosis, achaparamiento, acame, "cuello de ganso", cogollo muerto, pérdidas en rendimiento y muerte de plantas. En Jalisco se obtuvo una relación lineal ( $r = 0.95$ ) entre el rendimiento del maíz ( $y$ ) y el daño a la raíz ( $x$ ) de acuerdo a la escala 1-6 de Hills y Peters (1971) por *D. virgifera zea*, explicada por la siguiente ecuación  $y = 6.12 - 0.505 x$ ;

de acuerdo a dicha ecuación, cada unidad en la escala de daño abatió el rendimiento en 505 kg/ha, para una pérdida máxima de 3 ton/ha con el máximo daño, equivalente al 50% de pérdida en el rendimiento (De Abiega y Romero 1981).

- 2.3 **DetECCIÓN NO DESTRUCTIVA.** Recientemente se han desarrollado diversas técnicas para el muestreo no destructivo de insectos subterráneos, principalmente dirigidas al estudio de los hábitos y comportamiento de larvas sin la necesidad de perturbar el ambiente que habitan. El desarrollo de estos métodos es incipiente y su aplicación actual se realiza principalmente bajo condiciones de laboratorio e invernadero, aunque existen avances significativos que sugieren su utilidad en estudios de campo en un futuro cercano (Johnson *et al.* 2007).

La alimentación, movimiento y supervivencia de larvas de 2<sup>do</sup> y 3<sup>er</sup> estadio de *Popillia japonica* se determinaron mediante radiografías tomadas a diferentes intervalos en cajas de madera con suelo sembradas con pasto; sin embargo, no fue posible detectar las larvas de 1<sup>er</sup> estadio por su tamaño pequeño (Villani *et al.* 1994). Johnson *et al.* (2007) utilizaron una técnica de microtomografía de rayos-X de alta resolución para determinar cómo el picudo de la raíz del trébol, *Sitona lepidus* L., localiza a la planta hospedera. Este método logra reconocer especímenes de al menos 1 mm en muestras de suelo de hasta 2 kg en un área de 20 x 20 cm; al aumentar la radiación se logra una mayor resolución de las imágenes, sin embargo se aumenta el riesgo de dañar los insectos. El bajo costo, facilidad de manejo y los avances

recientes para mejorar la resolución, convierten a los rayos-X en una de las mejores herramientas para el estudio de las interacciones entre las plantas y los insectos rizófagos (Johnson *et al.* 2007).

El uso de los sistemas acústicos para el estudio de los insectos subterráneos se ha generalizado durante los últimos años, aunque su utilidad en la detección de insectos crípticos en alimentos y madera se conoce desde hace varias décadas (Johnson *et al.* 2007). Contrario a los rayos-X, los sistemas acústicos tienen actualmente una mayor aplicabilidad en el campo. Se han desarrollado diversos micrófonos y acelerómetros para detectar sonidos generados por insectos subterráneos en cítricos (Mankin *et al.* 2001), forrajes (Brandhorst-Hubbard *et al.* 2001), césped (Zhang *et al.* 2003b), caña de azúcar (Mankin *et al.* 2009) y viveros (Mankin y Fisher 2002). Los últimos avances en los sistemas acústicos indican que es posible diferenciar los tipos de sonidos que producen las “gallinas ciegas” de acuerdo a diversas actividades, como cuando se alimentan, escarban y se desplazan (Zhang *et al.* 2003a). Los sensores acústicos pueden detectar los sonidos a una profundidad de 10-30 cm en el suelo, aunque se puede extender a mayores profundidades al colocar un sensor en una varilla de metal que se introduce en el suelo (Johnson *et al.* 2007). Zhang *et al.* (2003b) detectaron una eficiencia del 96% en el uso de sensores acústicos para detectar infestaciones de *P. crinita* en césped, en comparación con el método tradicional de extracción de cepellones de suelo de 10 cm de diámetro. Los sistemas acústicos han demostrado una utilidad práctica en el

estudio de la ocurrencia temporal, disposición espacial y comportamiento de insectos subterráneos (Johnson *et al.* 2007). Cada muestra de suelo tradicional de extracción y conteo de gallinas ciegas de la caña de azúcar en Australia tarda 10-12 min, mientras que cada muestra con instrumentos acústicos tarda 3-5 min (Mankin *et al.* 2009).

El uso del radar armónico en insectos se ha dirigido principalmente al estudio de la dispersión de los adultos a los que se les adhiere un microtransmisor (diodo y antena) y cuyas señales se reciben en aparatos manuales de radar que pueden detectarlas bajo la nieve, suelo o vegetación densa (O'Neal *et al.* 2004). Con esta técnica se han detectado carábidos que por su comportamiento se enterraron en el suelo a una profundidad de hasta 30 cm (Mascanzoni y Wallin 1986). Recientemente se ha propuesto el uso de este método para el estudio de larvas subterráneas, aunque se deberá diseñar transmisores más pequeños que no interfieran con el comportamiento del insecto (Piper y Compton 2002, O'Neal *et al.* 2004).

- 2.4 **Captura de adultos.** Este método indirecto se ha utilizado con frecuencia en los estudios sobre biología, ecología y manejo de insectos rizófagos. Entre los métodos de captura de adultos, sobresalen el uso de trampas de luz y de atrayentes sexuales y alimenticios. Es importante aclarar que el empleo de estos métodos es válido una vez que se ha demostrado la rizofagia e importancia económica de la especie en cuestión. Las trampas de luz han mostrado una utilidad invaluable en los estudios sobre *Phyllophaga crinita*, *Paranomala flavipennis* (Burmeister) y *Diabrotica balteata* LeConte en Tamaulipas

durante las últimas tres décadas (Rodríguez-del-Bosque 1988, 1993, 1998, 2003, 2004, Rodríguez-del-Bosque y Magallanes 1994). El monitoreo de insectos edafícolas mediante feromonas sexuales en México incluye a *Phthorimaea operculella* (Zeller) en Guanajuato (Rocha 1985), *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) en Tamaulipas (Loera y Lynch 1987), *D. virgifera zea* en Jalisco (Amparán 1988) y *Phyllophaga obsoleta* Blanchard en Morelos (Romero y Arzuffi 2006). Una trampa con un atrayente alimenticio capturó en forma selectiva cantidades abundantes de adultos de *Macroductylus nigripes* Bates en Tlaxcala y de *M. murinus* Bates en Jalisco (Arredondo *et al.* 1995). En Costa Rica, Oehlschlager *et al.* (2003) reportaron que la trampa de luz capturó 10 veces más individuos de *Phyllophaga elenans* Saylor que una trampa con feromona sexual.

### **Daño y Umbral Económico**

Muchas de las decisiones que se toman en el manejo integrado de plagas se basan en dos conceptos fundamentales relacionados entre sí: El nivel de daño económico y el umbral económico. El primero se refiere a “la densidad mínima de una plaga que provoca un daño económico equivalente al costo de su control”; el segundo se define como “la densidad de la plaga en la que se deben tomar acciones de control para evitar que llegue al nivel económico de daño” (Stern *et al.* 1959). La determinación del nivel de daño económico y el umbral económico para una plaga en particular depende de múltiples factores, entre ellos el cultivo, variedad, región, manejo agronómico y costos de control. Lo anterior se complica cuando existen dos o más especies concurrentes, como en muchos casos de plagas del suelo que actúan como “complejo” (Morón 1986). En estos casos, el primer paso en la determinación del umbral económico es la atribución correcta



de los daños a las especies rizófagas y definir apropiadamente el papel de las especies saprófagas y facultativas (Aragón *et al.* 2005, Castro *et al.* 2006).

En México, se han determinado los daños y el umbral económico para algunas plagas del suelo en ciertas regiones y sistemas de producción. Sin embargo, la metodología utilizada en estos trabajos no es clara en la mayoría de los casos y se basa generalmente en observaciones y experiencias prácticas. Por tal motivo, Castro *et al.* (2006) propusieron un método para la determinación del daño por “gallinas ciegas” en maíz en cuatro localidades de Chiapas, de acuerdo al siguiente procedimiento: (a) Muestreo de suelo (30 x 30 x 30 cm) dirigido en 16 plantas con y sin síntomas de daño para estimar la densidad de larvas y separar las especies rizófagas de las no rizófagas; (b) estimación del rendimiento en 100 plantas con y sin síntoma de daño; y (c) evaluación de pérdidas en el rendimiento de acuerdo a la proporción de plantas sanas y dañadas en la parcela. De esta forma se estimaron pérdidas de hasta 2.1 ton/ha, equivalentes al 40% de la producción total, con densidades de “gallinas ciegas” rizófagas de 6 a 30 larvas/muestra. Sin embargo, concluyen que no es posible establecer un umbral económico fijo para “gallinas ciegas”, ya que los daños dependen de las especies involucradas y sus hábitos alimenticios, así como de la densidad de siembra y localidad.

En Oaxaca, Ruiz *et al.* (2006) evaluaron el daño al maíz mediante infestaciones artificiales de larvas de segundo estadio de *Phyllophaga vetula* (Horn) en bolsas de plástico de 10 kg de capacidad enterradas al nivel del suelo. Se evaluaron diferentes densidades de “gallina ciega” (0, 2, 4, y 6 larvas/planta) en las etapas V3 y V6 del maíz. Al realizar un análisis económico del valor del cultivo (grano y rastrojo) y de las pérdidas provocadas por la plaga, concluyeron que el umbral económico para “gallinas ciegas” de 2<sup>do</sup> estadio es de 1 larva/planta.

En Tamaulipas, los daños al maíz por *P. crinita* promediaron entre 400 y 700 kg/ha del ren-

dimiento del grano de acuerdo a experimentos en franjas con y sin aplicación de insecticida al suelo en parcelas de agricultores, aunque bajo infestaciones severas se han observado pérdidas totales en grandes extensiones (Rodríguez-del-Bosque 1980a, Rodríguez-del-Bosque y Tapia 1982). Las pérdidas anteriores, los niveles de infestación, el valor de la cosecha y el costo del control originaron que el umbral económico de *P. crinita* para maíz en esta región se estableciera en 0.3 larvas de 3<sup>er</sup> estadio/muestra de 30 x 30 x 30 cm (Rodríguez-del-Bosque 1980b). Es importante aclarar que dicho umbral económico se estimó para el estado de plántula, ya que las infestaciones están presentes desde la siembra, por lo que los daños son severos en la etapa temprana del cultivo, contrario a otros casos en México donde las “gallinas ciegas” se presentan en etapas fenológicas posteriores cuando la planta es más tolerante al daño (Ramírez y Castro 2000, Ruiz *et al.* 2006). El umbral económico para la misma plaga y tamaño de muestra (30 x 30 x 30 cm) se ha estimado en 1.0 en sorgo (Teetes 1973), 4.0 en el césped de los jardines (Hamman *et al.* 1987) y 5.0 en caña de azúcar (Fuchs *et al.* 1975). La relación entre el rendimiento del sorgo y el número de larvas de *P. crinita* se ha explicado con la siguiente ecuación:  $y = 5854 - 183x$  ( $R^2 = 0.96$ ), donde  $y$  = rendimiento (kg/ha) y  $x$  = número de larvas por muestra (Teetes 1977). En Tamaulipas, una relación similar en maíz se determinó como  $y = 4975 - 1150x$  ( $R^2 = 0.95$ ). En el césped, se ha obtenido la siguiente ecuación:  $y = 9.05 - 0.94x$  ( $R^2 = 0.51$ ), donde  $y$  = estado del zacate (0 = daño severo, 10 = sano y vigoroso) y  $x$  = larvas/muestra (Crocker 1980).

## Fenología

La ocurrencia temporal de los diversos estados de desarrollo de las plagas subterráneas se ha estudiado mediante muestreos de suelo con frecuencia semanal, quincenal o mensual, generalmente en asociación con algún cultivo o sistema de producción. De esta forma se ha determinado el ciclo biológico y estacionalidad de *Phyllophaga*

*crinita*, *P. thrichodes* (Bates) y *P. misteca* (Bates) en Tamaulipas (Rodríguez-del-Bosque 1980b, 1982, 1988; Villalobos 1998), *P. lalanza* en Nayarit (Morón *et al.* 1996), *P. brevidens* (Bates) y *Cyclocephala lunulata* Burmeister en Puebla (Aragón y Morón 2000) y seis especies de *Phyllophaga* y dos de *Paranomala* en Chiapas (Ramírez y Castro 2000).

La captura sistemática de adultos mediante trampas de luz o feromonas han sido útiles para complementar los estudios fenológicos sobre los insectos rizófagos en México (Rodríguez-del-Bosque 1998, Amparán 1988, Romero y Arzuffi 2006). En Tamaulipas se ha estudiado la abundancia estacional de *Phyllophaga crinita*, *Paranomala flavipennis* y *Diabrotica balteata* mediante trampas de luz durante 30, 16 y 14 años, respectivamente; dichos estudios de largo plazo han permitido la construcción de modelos de predicción que asocian las capturas con factores climáticos y el manejo agronómico de los cultivos (Rodríguez-del-Bosque 1988, 1993, 1998, 2003, 2004, Rodríguez-del-Bosque y Magallanes 1994, Rodríguez-del-Bosque y Stone 2006).

### **Insecticidas y Entomopatógenos**

La evaluación de insecticidas, entomopatógenos o la combinación de ambos se ha realizado bajo condiciones de campo para determinar su eficacia para diversos insectos rizófagos y cultivos en México, aunque dominan los desarrollados en maíz. Por lo general estas pruebas experimentales se establecen con aplicación manual bajo el diseño de bloques al azar con 4-6 repeticiones y un tamaño de parcela de 4-6 surcos de 5-10 m de largo; en cambio, las parcelas de validación y demostración pueden incluir tratamientos apareados “con y sin” de 4-8 surcos y hasta 100 m de largo mediante aplicación mecanizada (Castañeda *et al.* 1978, Rodríguez-del-Bosque 1981, Rodríguez-del-Bosque y Tapia 1982). Las características a evaluar entre tratamientos incluyen generalmente las plagas sobrevivientes y daños directos (raíz) e indirectos (acame, plantas sobrevivientes, rendimiento). Las evaluaciones pueden

realizarse bajo infestaciones naturales cuando la distribución de los insectos rizófagos es homogénea o bajo infestaciones artificiales (Rodríguez-del-Bosque 1981, 1983). Van der Reyden (1954) propuso un método para diseñar y analizar experimentos de campo, en el que cada tratamiento (insecticida al suelo) debería incluir un testigo sin tratar, con el objeto de minimizar el error experimental derivado de la distribución irregular de las plagas del suelo.

Los trabajos sobre métodos y épocas de aplicación han sido fundamentales para ofrecer recomendaciones prácticas a los productores (Rodríguez-del-Bosque y Tapia 1982, González 1983, Félix 1991, Pérez 1992). Los estudios de campo sobre insecticidas contra plagas del suelo en México incluyen los desarrollados sobre “gallinas ciegas” (Rodríguez-del-Bosque 1981, Félix 1991), “gusano raicero” (Castañeda *et al.* 1978), pulgón lanífero del manzano (Jiménez y Reyes 1980), palomilla de la papa (Huerta 1991), gusano de la semilla (Guevara 1960), picudo negro del plátano (Velasco 1974), *Colaspis* (Alavéz 1978) y *Epitrix* (Beverido y Hernández 1983). Las investigaciones en campo sobre la eficacia de entomopatógenos sobre insectos subterráneos en México es incipiente ya que la mayoría se ha desarrollado en laboratorio; los trabajos en campo incluyen los de Ruiz *et al.* (2003a), Pérez (2006), Sánchez y Flores (2006) y Nájera *et al.* (2006).

### **Labranza**

El impacto de los implementos de labranza sobre insectos subterráneos se ha evaluado en diversas localidades de México, principalmente en maíz. Para determinar el efecto directo o mecánico sobre los insectos, se toman muestras de suelo antes y después de realizar las labores de labranza. Para permitir el paso de los implementos, las parcelas experimentales son más grandes que las descritas en las pruebas de insecticidas, aunque el diseño es similar. Además de evaluar el efecto sobre las plagas rizófagas, se reporta el impacto sobre insectos saprófagos, depredadores

y lombrices, como bioindicadores (Nájera 1995, Carrillo *et al.* 2001, Villalobos *et al.* 2003, Pérez 2006, Rodríguez-del-Bosque y Salinas 2006).

### Tolerancia Varietal

La tolerancia genética se ha probado en experimentos de campo en México en maíz contra *D. virgifera zeae* bajo infestaciones naturales, mediante bloques con y sin aplicación de insecticidas (Pérez y Maya 1993, Pérez *et al.* 1997); mediante daño simulado de “gallina ciega” al sistema radicular del maíz en la etapa de plántula con una espátula, la que demostró ser una herramienta rápida y económica en la búsqueda de fuentes de tolerancia a plagas del suelo (Rodríguez-del-Bosque 1986b); y en patrones de vid en suelos con y sin infestación natural de la filoxera *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch) (Velázquez 1978). En todos los casos, se identificaron algunos genotipos tolerantes que pudieran incorporarse a programas de manejo integrado (Velázquez 1978, Rodríguez-del-Bosque 1986b, Pérez-Domínguez y Maya 1993). Dos de los métodos más utilizados para evaluar la tolerancia del maíz a plagas del suelo son la escala de Hills y Peters (1971) y el aparato de “tirón vertical” para medir la fuerza necesaria para extraer la raíz (Ortman *et al.* 1968).

### ESTUDIOS EN INVERNADEROS Y JAULAS

Los estudios en invernadero tratan de simular las condiciones de campo, con la ventaja que se evitan ciertos factores incontrolables como la precipitación, viento y temperaturas extremas. El invernadero puede ser tan sofisticado con control automático de temperatura, humedad e irrigación o tan rústico como una estructura cubierta con malla o plástico. Por su parte, los estudios en jaulas entomológicas de diversos tipos y dimensiones se conducen principalmente para estudiar el comportamiento de los adultos en confinación para evitar su escape. Los estudios en invernaderos y jaulas son particularmente útiles para estu-

diar con detalle la interacción insecto-planta, lo que no es posible realizar en campo ni en laboratorio. Los estudios sobre plagas rizófagas en invernaderos y jaulas han permitido determinar su ciclo vital, hábitos de alimentación, preferencia en la oviposición, tolerancia varietal y efectividad de insecticidas y entomopatógenos.

En Tamaulipas se reportan tres estudios sobre “gallinas ciegas” desarrollados bajo condiciones de invernadero o jaulas: (1) La actividad alimenticia estacional de larvas de *Phyllophaga crinita* y *Paranomala flavipennis* se estudió en invernadero en macetas de plástico con suelo y plantas de maíz; los resultados indicaron diferencias significativas entre ambas especies debido al ciclo vital univoltino en *P. crinita* y bivoltino en *Pa. flavipennis*, lo que tiene implicaciones importantes para los sistemas de producción agrícola en la región (Rodríguez-del-Bosque 1996). (2) Un estudio en jaula con macetas con diferentes cultivos indicó una mayor preferencia en la oviposición de *P. crinita* sobre sorgo y maíz y menor preferencia en frijol (Rodríguez-del-Bosque 1984). (3) Un estudio en invernadero con genotipos de maíz cultivados en macetas demostró que algunos de ellos tuvieron cierto grado de tolerancia a larvas de *P. crinita*, entre ellos el H-422, un híbrido desarrollado por el INIFAP y ampliamente utilizado en esta región y otras del país en los 1980's y 1990's (Rodríguez-del-Bosque y Enkerlin 1982, Reyes y Cantú 2006).

Otros estudios sobre plagas del suelo desarrollados bajo condiciones de invernadero en México incluyen los de Castro *et al.* (2001) que determinaron los hábitos alimenticios de cuatro especies de *Phyllophaga*; Castillo *et al.* (2004) evaluaron el efecto de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre *Phyllophaga pubicauda* (Bates); Hernández y Alatorre (2000) probaron la eficacia de cepas de nemátodos y un insecticida contra *P. vetula*; y Guerrero y Gálvez (1990) probaron la toxicidad de insecticidas sobre diversos estados biológicos de la palomilla de la papa.

## ESTUDIOS EN LABORATORIO

Los estudios de laboratorio permiten una mayor precisión en las investigaciones al minimizar los efectos indeseables. En estos estudios se busca un control absoluto de la temperatura, humedad y luz, lo que es imposible lograr en estudios de campo e invernadero. Los estudios sobre insectos subterráneos en laboratorio han incluido la cría artificial, biología, comportamiento, identificación mediante técnicas moleculares y bioensayos con insecticidas y entomopatógenos.

### Cría Artificial y Biología

Los objetivos de la cría de insectos en laboratorio incluyen la obtención de adultos para identificación, la descripción de los estados inmaduros, corroboración de los ciclos vitales, estudios demográficos y proveer de especímenes sanos y uniformes en tamaño y edad para bioensayos o infestaciones artificiales en campo e invernadero. La cría artificial de insectos edafícolas se ha intentado desde hace décadas con diversos recipientes, sustratos y alimentos para gusanos de alambre (Bryson 1929), gusanos raiceros (Cuthbert *et al.* 1968), gusanos trozadores (Mangat 1970), gusano saltarín (Chalfant 1975), palomilla de la papa (Etzel 1985) y “gallinas ciegas” (Reinhard 1940, Miner 1948, Goonewardene *et al.* 1975). Estas técnicas de cría han sido modificadas a través del tiempo para hacerlas más eficientes en producción, calidad y costo (Branson *et al.* 1988, Hendrix *et al.* 1991, Pleau *et al.* 2002). Un aspecto importante es el mantenimiento de las colonias libres de patógenos y depredadores (Schalk 1985).

En México, se ha criado en laboratorio a *Dia-brotica balteata* (Young y Candia 1959), *Phyllophaga crinita*, *P. ravida* (Blanchard), *P. vetula*, *P. dentex* (Bates), *P. brevidens*, *P. tenuipilis* (Bates), *P. obsoleta*, *P. macrocera* (Bates), *P. ilhuicaminai* Morón, *P. lalanza* Saylor y *P. sp. aff blanchardi* (Rodríguez-del-Bosque 1982, Nájera 1998, Morón *et al.* 1998, 1999; Aragón y Morón

2004b, Romero *et al.* 2005, Aragón *et al.* 2005, 2006; Ramírez y Castro 2006) y *Phthorimaea operculella* (Ordaz *et al.* 2006). Con la metodología propuesta por Nájera (1998) es posible producir hasta 9 mil larvas de *Phyllophaga* spp. por año, las que se utilizan para diversos experimentos como bioensayos con entomopatógenos. Goonewardene *et al.* (1975) desarrollaron una tecnología para la cría masiva de *Popillia japonica* Newman en E.U.A. que aumentó la producción de adultos a partir de huevos de un 6% en la generación F<sub>1</sub> a 24% en F<sub>4</sub>, aunque la fecundidad de las hembras de la última generación disminuyó en un 50%, un fenómeno que se presenta con frecuencia en las colonias de laboratorio, probablemente por la acumulación de cambios bioquímicos y moleculares durante varias generaciones (Yocum y Evenson 2002). Para evitar estos problemas en las colonias, se recomienda la incorporación periódica de individuos colectados en campo (Carpenter y Wiseman 1999).

### Identificación Molecular

Una línea de investigación incipiente pero con mucho potencial es la identificación de larvas y adultos mediante técnicas moleculares, particularmente la ampliación de secuencias específicas del ADN (Emerson y Wallis 1995, Hebert *et al.* 2003, Millar *et al.* 2005). Doskocil *et al.* (2008) utilizaron técnicas moleculares de PCR para comparar el ADN de larvas y el de adultos identificados mediante la inspección de la genitalia de diversas especies de *Phyllophaga* en Oklahoma, E.U.A. Este estudio permitió identificar positivamente las larvas de nueve especies que atacan los pastos en esta región, con lo que se ahorra tiempo y costo al comparar la cría de larvas para la obtención de adultos e identificarlos, lo que tardaría varios meses, además de una probable alta mortalidad de larvas. Por su parte, Lindroth y Clark (2009) desarrollaron un método rápido y efectivo para la identificación molecular (ADN mitocondrial) de especies de “gusanos de alambre” de los géneros *Melanotus* y *Conoderus*,

lo cual facilitará el estudio de la biología y control de este importante grupo de insectos subterráneos.

### Bioensayos

Son pruebas generalmente conducidas en laboratorio para medir los efectos cualitativos y cuantitativos de un estímulo físico, químico, biológico o fisiológico, en términos de respuesta biológica en un organismo de prueba. Los bioensayos con insectos rizófagos en México se han conducido principalmente para comparar el efecto de insecticidas y microorganismos entomopatógenos sobre larvas colectadas en campo o criadas masivamente en laboratorio. En Tamaulipas se condujo un bioensayo con 12 insecticidas contra larvas de *Phyllophaga crinita* en vasos de plástico con 180 g de suelo (Rodríguez-del-Bosque 1981); los productos terbufos y carbofuran fueron los más tóxicos y se observó que heptacloro provocó la repelencia de las larvas que emergieron a la superficie del suelo. Posos *et al.* (1994) evaluaron los niveles de resistencia de larvas de *Cyclocephala comata* Bates en Jalisco a diferentes grupos toxicológicos y encontraron mayor resistencia en isasofos, teflutrina y clorpirifos. También destacan los estudios toxicológicos sobre diferentes estados de *Phthorimaea operculella* en Coahuila (Guerrero y Gálvez 1990).

Los bioensayos de entomopatógenos contra plagas subterráneas, principalmente “gallinas ciegas”, han tenido un impulso sobresaliente en México durante las últimas dos décadas. Entre los tipos de bioensayos utilizados con mayor frecuencia contra insectos subterráneos se encuentran la “prueba máxima” (Milner 1992), inoculación de la fuente alimenticia (Núñez *et al.* 2003) y aplicación tópica, oral o por inyección al huésped (Jackson y Saville 2000). Los bioensayos más comunes para nemátodos son: (a) La prueba “uno a uno”, donde se evalúa la virulencia y calidad en forma individual, un nematodo en cada huésped (Converse y Miller 1999); (b) en cajas petri, donde se determinan los tiempos y dosis letales medios; y (c) el de barrera de arena, donde

se determina la capacidad de control del nematodo bajo condiciones más reales (Kaya y Stock 1997). Un procedimiento de laboratorio útil para detectar entomopatógenos en muestras de suelo es la técnica del “insecto trampa” como *Galleria mellonella* L. (Zimmerman 1986), aunque tiene la desventaja que se desconoce el huésped original.

En México, se han conducido bioensayos con los hongos *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Zagal 1981, Berlanga y Hernández 1999, Ruiz *et al.* 2003a, 2006; Castillo *et al.* 2004, Nájera *et al.* 2005, 2006; Rodríguez del Bosque *et al.* 2005, Hernández *et al.* 2006, Velázquez-Cruz *et al.* 2006, Velázquez-López *et al.* 2006), con las bacterias *Bacillus* spp., *B. thuringiensis* Berliner, *B. sphaericus* Meyer and Neide; *Paenibacillus popilliae* (Dutky), *Serratia* spp., *S. marcescens* Bizio, *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck), *E. cloacae* (Jordan), *E. aerogenes* Hormaeche and Edwards y *Alcaligenes faecalis* Castellani and Chalmers (Nájera *et al.* 2000; Villalobos *et al.* 2000; Núñez *et al.* 2003, Rodríguez-Segura *et al.* 2004) y los nematodos *Heterorhabditis* sp., *H. bacteriophora* Poinar, *Steinernema glaseri* (Steiner), *S. feltiae* (Filipjev) y *S. carpocapsae* (Weiser) (Hernández y Alatorre 2000, Ruiz *et al.* 2003a, 2003b, 2006). En estos trabajos se han identificado diversas cepas con potencial como agentes de control biológico. Por ejemplo, las cepas MAGL3N y MAGL4N de *M. anisopliae* han sobresalido por su alta virulencia contra diversas especies de *Phyllophaga* y *Paranomala* en el norte y sur del país; sin embargo, aún se requieren estudios en campo e invernadero para demostrar su eficacia y aplicabilidad (Rodríguez-del-Bosque *et al.* 2005).

### RETOS Y PERSPECTIVAS

Una de las conclusiones recurrentes durante las siete Mesas Redondas sobre Plagas del Suelo celebradas en diversas localidades de México desde 1978 a 2006 ha sido la atención especial que debe prestarse a los aspectos metodológicos

durante las investigaciones. El reto es minimizar los errores experimentales que deriven en inferencias equivocadas y que pongan en duda la validez de los resultados, particularmente aquellos que van dirigidos a generar recomendaciones de manejo. También se ha enfatizado en que los artículos que se elaboran para publicación, deben describir detalladamente los materiales y métodos utilizados durante la investigación, de tal forma que se asegure la repetibilidad científica. Además se ha sugerido evitar las investigaciones tipo “caja negra”, donde el sistema estudiado se mide de acuerdo a las entradas que recibe y las salidas o respuestas que produce, sin considerar el funcionamiento interno del proceso, por lo que los alcances son limitados al entender sólo lo que hace pero se ignora cómo lo hace.

Para los trabajos en campo, el presente documento no pretende uniformizar criterios ni ofrecer una guía o protocolo para el estudio de las plagas del suelo en México. Se reconoce la necesidad de utilizar diversos métodos y herramientas de acuerdo a los objetivos y circunstancias de la investigación. Por ejemplo, la baja diversidad de especies de “gallina ciega” en grandes extensiones de cultivo mecanizado en las planicies del norte de Tamaulipas, contrasta en gran medida con la gran riqueza de especies en los terrenos accidentados de agricultura de subsistencia en Chiapas; las metodologías utilizadas en un lugar pudieran no ser prácticas ni funcionales para el otro. Sin embargo, en todos los casos, los estudios deben cumplir con ciertos requerimientos mínimos metodológicos que garanticen la calidad científica bajo una adecuada planeación, diseño experimental, conducción, análisis estadístico e interpretación.

En contraste, existe una necesidad para estandarizar los experimentos de laboratorio, particularmente los bioensayos para evaluar microorganismos entomopatógenos, estudios que se han incrementado notablemente durante los últimos años. Dicha estandarización permitiría contar con cierto nivel comparativo entre los resultados obtenidos con cepas evaluadas contra

diversas plagas rizófagas del país. La elaboración de un protocolo de este tipo representa una oportunidad para los investigadores mexicanos en esta disciplina. Un reto aun mayor es el desarrollo de métodos para la prueba de entomopatógenos en invernadero y campo de las cepas más promisorias detectadas en laboratorio. Las pruebas bajo las condiciones de los productores no han crecido con el mismo ritmo que los bioensayos, lo que ha limitado en gran medida su transferencia y adopción. A la par de lo anterior, se deberá hacer énfasis en el desarrollo de tecnologías de producción y formulación de estos agentes de control microbiano, para su uso *per se* o en combinación con otras tácticas de control.

Las perspectivas sobre el estudio de las plagas del suelo en México lucen promisorias. La calidad metodológica en las investigaciones ha mejorado notablemente desde la primera Mesa Redonda en 1978. La literatura mundial reciente sobre insectos rizófagos ofrece algunos métodos de estudio no destructivos que pudieran validarse o adecuarse en el país durante la próxima década. Los estudios que en el pasado tuvieron un enfoque reduccionista ahora deberán caminar hacia el holismo, determinar las interacciones multitróficas y solucionar problemas multiobjetivo. Se deberá fomentar la sinergia entre investigadores e instituciones para ofrecer respuestas a los productores agrícolas en el menor tiempo posible. Finalmente, el presente capítulo pretende motivar a los investigadores jóvenes a desarrollar nuevos métodos de estudio o mejorar los ya existentes, que aporten un mejor conocimiento y control de las plagas del suelo en México.

## LITERATURA CITADA

- Alavéz-Ramírez, J. F. 1978. Aplicación de insecticidas al suelo contra *Colaspis* sp. en maíz en la costa de Jalisco. Primera Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Enero, 1978. Sociedad Mexicana de Entomología. Guadalajara, Jal., México. pp. 39-44.
- Amparán-Salcido, R. 1988. Fluctuación poblacional de adultos de *Diabrotica virgifera zea* (Coleoptera: Chrysomelidae) mediante tres técnicas de muestreo en el centro

- de Jalisco. Memoria del XXIII Congreso Nacional de Entomología. Morelia, Mich., México 22-25 mayo. p. 112.
- Aragón-García, A. y M. A. Morón. 2000. Los coleópteros Melolonthidae asociados a la rizosfera de la caña de Azúcar en Chietla, Puebla, México. *Folia Entomol. Méx.* 108: 79-94.
- Aragón-García, A. y M. A. Morón. 2004a. Descripción de las larvas de tres especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae) en el Valle de Puebla, México. *Folia Entomol. Méx.* 43: 295-306.
- Aragón-García, A. y M. A. Morón. 2004b. Un método de cría para "gallinas ciegas" rizófagas del género *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae). En: N. Bautista-Martínez, H. Bravo-Mojica y C. Chavarín-Palacio (eds.), Cría de Insectos Plaga y Organismos Benéficos. Colegio de Posgraduados y CONABIO, México. pp. 109-118.
- Aragón-García, A., B. C. Pérez-Torres, M. A. Morón, J. F. López-Olguín y A. M. Tapia. 2006. Desarrollo biológico y comportamiento de cinco especies de *Phyllophaga* (Harris, 1827), (Coleoptera: Melolonthidae). En: A. E. Castro Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Publicación Especial de El Colegio de la Frontera Sur, La Fundación Produce Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. pp. 49-62.
- Aragón-García, A., M. A. Morón, J. F. López-Olguín y L. M. Cervantes-Peredo. 2005. Ciclo de vida y conducta de adultos de cinco especies de *Phyllophaga* Harris, 1827 (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae). *Acta Zool. Mex. (n.s.)* 21: 87-99.
- Arredondo-Bernal, H. C., J. Cibrián, and R. N. Williams. 1995. Response of *Macrodactylus* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) and other insects to food attractant in Tlaxcala and Jalisco, Mexico. *Fla. Entomol.* 78: 56-61.
- Berlanga-Padilla, A. M. y V. M. Hernández-Velázquez. 1999. Búsqueda y selección de aislamientos de hongos entomopatógenos en larvas de gallina ciega, *Phyllophaga* spp. Memoria del XXXIV Congreso Nacional de Entomología. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, Ags., México. 23-26 mayo. pp. 420-423.
- Beverido, L. G. y R. Hernández-Luna. 1983. Efecto de tres insecticidas aplicados al suelo y tres al follaje contra la pulga negra o rayador de la papa *Epitrix* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae (Alticinae)). Segunda Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. 5 Diciembre, 1983. Chapingo, México. pp. H47-H52.
- Blank, R. H. and D. S. Bell. 1988. Apparatus for extraction of arthropods from soil using differential water flows. *J. Econ. Entomol.* 81: 1241-1245.
- Borror, D. J., D. M. DeLong, and C. A. Triplehorn. 1976. An introduction to the study of Insects. 4<sup>th</sup> ed. Holt, Rinehart and Winston, New York. 852 p.
- Brandhorst-Hubbard, J. L., K. L. Flanders, R. W. Mankin, E. A. Guertal, and R. L. Crocker. 2001. Mapping of soil insect infestations sampled by excavation and acoustic methods. *J. Econ. Entomol.* 94: 1452-1458.
- Branson, T. F., J. J. Jackson, and G. R. Sutter. 1988. Improved method for rearing *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 410-414.
- Brown, V. K. and A. C. Gange. 1990. Insect herbivory below ground. *Adv. Ecol. Res.* 20: 1-58.
- Bryson, H. R. 1929. A method of rearing wireworms. *J. Kansas Entomol. Soc.* 2: 15-29.
- Cameron, A. E. 1913. General survey of the insect fauna of the soil within a limited area near Manchester. *J. Econ. Biol.* 8: 159-204.
- Carpenter, J. E. and B. R. Wiseman. 1999. Comparisons of laboratory and feral strains of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory and field bioassays. *Fla. Entomol.* 82: 237-247.
- Carrillo-Sánchez, J. L., S. Caselín-Castro e H. Bravo-Mojica. 2001. Incidencia de larvas de *Macrodactylus nigripes* Bates en maíz cultivado en labranza convencional y mínima en el municipio de Ixtacuitla, Tlaxcala. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Entomología. Queretaro, Qro, México, 15-18 Julio. p. E104.
- Castañeda, C., D. Oropeza Casillas, J. F. Villalpando I. y J. A. Sifuentes. 1978. Control químico de *Diabrotica longicornis* plaga del suelo en la región central de Jalisco. Primera Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Enero, 1978. Guadalajara, Jal., México. pp. 27-38.
- Castillo-Hernández, D., A. Aragón-García y J. F. López-Olguín. 2004. Estudio preliminar de *Beauveria bassiana* como control biológico de *Phyllophaga pubicauda* en laboratorio e invernadero. *Entomología Mexicana* 3: 413-416.
- Castro-Ramírez, A. E., J. A. Cruz-López, H. Perales Rivera, C. Ramírez-Salinas y L. Hernández-López. 2001. Compost y rizofagia de cuatro especies de *Phyllophaga* bajo invernadero. Memorias de la V Reunión Latinoamericana de Scarabaeoidología. Ecuador. pp. 1-8.
- Castro-Ramírez, A. E., H. R. Perales-Rivera, y V. Parra-Tabla. 2006. Propuesta metodológica para la evaluación del daño ocasionado por "gallina ciega" (Coleoptera) al maíz (*Zea mays* L.). En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón-García (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. ECOSUR, Fundación PRODUCE Chiapas, BUAP. Puebla, México. pp. 163-180.
- Chalfant, R. B. 1975. A simple technique for rearing the lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Phycitidae). *J. Georgia Entomol. Soc.* 10: 32-33.

- Converse, V. and R. W. Miller. 1999. Development of the one-on-one quality assessment assay for entomopathogenic nematodes. *J. Invertebrate Pathol.* 74: 143-148.
- Crocker, R. L. 1980. Insect research update 1978-79. *Tex. Agr. Exp. Sta. Prog. Rep.* 3670: 16-20.
- Cuthbert, F. P., C. S. Creighton, and R. B. Cuthbert. 1968. Mass rearing banded cucumber beetles, with notes on rearing spotted and striped cucumber beetles. *J. Econ. Entomol.* 61: 288-292.
- Davis, J. J. 1915. Cages and methods of studying underground insects. *J. Econ. Entomol.* 8: 135-139.
- De Abiega, P. y S. Romero-Parra. 1981. Correlación entre el daño a raíces por *Diabrotica virgifera zaeae* y el rendimiento del maíz en Jalisco. *Folia Entomol. Mex.* 48: 58.
- Donaldson, J.M.I., T. P. McGovern and T. L. Ladd. 1986. Trapping techniques and attractants for Cetoniinae and Rutelinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 374-377.
- Doskocil, J. P., N. R. Walter, G. E. Bell, S. M. Marek, J. A. Reinert, and T. A. Royer. 2008. Species composition and seasonal occurrence of *Phyllophaga* (Coleoptera: Scarabaeidae) infesting intensely managed Bromegrass in Oklahoma. *J. Econ. Entomol.* 101: 1624-1632.
- Emerson, B. C. and G. P. Wallis. 1995. Phylogenetic relationships of the Prodontria (Coleoptera: Scarabaeidae; subfamily Melolonthinae), derived from sequence variation in the mitochondrial cytochrome oxidase II gene. *Mol. Phylogenet. Evo.* 4: 433-447.
- Etzel, L. K. 1985. *Phthorimaea operculella*. En: P. Singh y R. F. Moore (eds.), *Handbook of Insect Rearing*, vol. II. Elsevier, Amsterdam. pp. 431-442.
- Fisher, J. R. and M. K. Bergman. 1986. Field sampling of larvae and pupae. En: J. L. Krysan y T. A. Miller (eds.), *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer-Verlag, New York. pp. 101-122.
- Félix-Fregoso, E. 1991. Determinación de la metodología de control químico de "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) sobre cultivo de sorgo en la región Ciénega de Chapaña, Jalisco, ciclo 1990. Memoria del XXVI Congreso Nacional de Entomología. Veracruz, Ver., México, 19-22 mayo. pp. 224-225.
- Foster, R. E., J. J. Tollefson, and K. L. Steffey. 1982. Sequential sampling plans for adult corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 75: 791-793.
- Fuchs, T. W., F. R. Huffmann, and J. A. Harding. 1975. Sugarcane insects pests. *Tex. Agr. Exp. Sta. Research Center Information Report* 75-5. 5 p.
- Gange, A. C. 2005. Sampling insects from roots. En: S. Leather (ed.), *Insect Sampling in Forest Ecosystems*. Blackwell, Malden, U.S.A. pp. 16-36.
- García-Montiel, J. C., L. E. Rivera-Cervantes y M. A. Morón. 2003. Composición y abundancia de los Melolonthidae nocturnos (Insecta: Coleoptera) asociados a un bosque mesófilo de montaña, en el municipio de Minatitlán, Colima, México. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (eds.), *Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América*. Pub. Esp. de la Benémerita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 115-127.
- González-Acuña, I. J. y M. A. Urias. 2004. Uso de sistemas de información geográfica para ubicar las zonas con plagas del suelo. *Entomología Mexicana* 3: 514-518.
- González-Orozco, S. 1983. Importancia de la oportunidad en los tratamientos contra plagas del suelo. Segunda Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Chapingo, México. pp. 47-57.
- Goonewardene, H. F., B. G. Townshend, and R. G. Bingham. 1975. Colonization of the Japanese beetle in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67: 55-57.
- Guerrero-Rodríguez, E. y S. Gálvez-Santos. 1990. Evaluación de insecticidas en diferentes estados biológicos de *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) en condiciones de laboratorio e invernadero. Memoria del XXV Congreso Nacional de Entomología. Oaxaca, Oax., México, 13-16 mayo. p. 254.
- Guevara-Calderón, J. 1960. Fluctuaciones de población del "gusano de las semillas" *Hylemya cilicrura* Rond. (Diptera: Anthomyiidae) y su combate, usando insecticidas y diferentes métodos de siembra. Memoria II Congreso Nacional de Entomología y Fitopatología. Chapingo, México. pp. 210-211.
- Hamman, P. J., B. S. Brewer, J. D. Stone, and R. L. Crocker. 1987. White grubs in Texas turfgrass. *Tex. Agr. Ext. Ser.* L-1131. 3 p.
- Hayes, W. P. 1917. Studies on the life-history of *Ligyris gibbosus* DeG. (Coleoptera). *J. Econ. Entomol.* 10: 253-261.
- Hébert, C., L. Jobin, M. Fréchette, G. Pelletier, C. Coulombe, C. Germain and M. Auger. 2004. An efficient pit-light trap to study beetle diversity. *J. Insect Cons.* 4: 189-200.
- Hebert, P. D., A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. deWaard. 2003. Biological identification through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond.* 270: 313-321.
- Hendrix, W. H., D. F. Gunnarson, and W. B. Showers. 1991. Modification of a meridic diet for rearing black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Kans. Entomol. Soc.* 64: 45-50.
- Hernández-García, M. A. y R. Alatorre-Rosas. 2000. Susceptibilidad de *Phyllophaga vetula* (Coleoptera: Melolonthidae) a dos cepas de *Heterorhabditis* y un insecticida químico (Carbofuran). Memoria del XXIII Congreso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico. Guanajuato, Gto., México. 16-18 Nov, pp. 149-152.
- Hernández-Velázquez, V. M., C. Méndez Morales, F. J. Villalobos, L. Lina García y E. Sánchez Salinas. 2006.



- Enemigos naturales de la gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz en el estado de Morelos. En: A. E. Castro Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), *Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas* El Colegio de la Frontera Sur, México. pp. 221-230.
- Hills, T. M. and D. C. Peters. 1971. A method of evaluating postplanting insecticide treatments for control of western corn rootworm larvae. *J. Econ. Entomol.* 64: 764-765.
- Huerta-Rincón, B. 1991. Evaluación de diferentes insecticidas para el control de palomilla de la papa (*Phthorimaea operculella*, Lepidoptera: Gelechiidae) en el Valle del Fuerte, Sin. Memoria del XXVI Congreso Nacional de Entomología. Veracruz, Ver., México, 19-22 mayo. p. 277.
- Hunter, M. D. 2001. Out of sight, out of mind: the impacts of root-feeding insects in natural and managed systems. *Agric. Forest Entomol.* 3: 3-9.
- Jackson, T. A. and D. Saville. 2000. Bioassays of replicating bacteria against soil-dwelling insect pests. En: A. Navon y K. R. S. Ascher (eds.), *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*. CABI Publishing. Wallingford, U. K. pp. 73-93.
- Jiménez-Díaz, J. y F. Reyes-Villanueva. 1980. Evaluación de 6 insecticidas sistémicos para el control del pulgón lanígero del manzano *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) en Galeana, N. L. *Folia Entomol. Mex.* 45: 88-89.
- Johnson, S. N., J. W. Crawford, P. J. Gregory, D. V. Grinev, R. W. Mankin, G. J. Masters, P. J. Murray, D. H. Wall, and X. Zhang. 2007. Non-invasive techniques for investigating and modelling root-feeding insects in managed and natural systems. *Agric. Forest Entomol.* 9: 39-46.
- Jordan, T. A., Roger R. Youngman and Curt A. Laub. 2007. Fall soil sampling for predicting spring infestation of secondary soil pests in corn. *Entomol. Soc. of America Annual Meeting*, abstract no. 0503.
- Kaya, H. K. and S. P. Stock. 1997. Techniques in insect nematology. En: L. Lacey (ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, San Diego. pp. 281-324.
- King, K. M. 1939. Population studies of soil insects. *Ecol. Monographs* 9: 270-286.
- Krysan, J. L. 1985. Introduction: biology, distribution, and identification of pest *Diabrotica*. En: J. L. Krysan y T. A. Miller (eds.), *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer-Verlag, New York. pp. 1-24.
- Krysan, J. L. and T. A. Miller (eds.). 1986. *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer-Verlag, New York. 260 p.
- Lindroth, E. and T. L. Clark. 2009. Phylogenetic analysis of an economically important species complex of wireworms (Coleoptera: Elateridae) in the Midwest. *J. Econ. Entomol.* 102: 743-749.
- Linton-González, M., J. L. Ayala-Orduño y J. Ortega-Alcalá. 1994. Comparación de dos métodos para extracción de huevecillos de *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) en laboratorio. Memoria XXIX Congreso Nacional de Entomología. Monterrey, N. L., México. 24-27 Abril. p. 130.
- Loera-Gallardo, J. and R. E. Lynch. 1987. Evaluation of pheromone traps for monitoring lesser cornstalk borer adults in beans. *Southwest. Entomol.* 12: 51-56.
- Losey, J. E., L. L. Allee, V. Zbarsky, J. K. Waldron, and E. J. Shields. 2003. Transect sampling to enhance efficiency of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) monitoring in corn. *J. Econ. Entomol.* 96: 1420-1425.
- Macfadyen, A. 1962. Soil arthropod sampling. *Adv. Ecol. Res.* 1: 1-34.
- Mangat, B. S. 1970. Rearing the black cutworm in the laboratory. *J. Econ. Entomol.* 63: 1325-1326.
- Mankin, R. W. and J. R. Fisher. 2002. Acoustic detection of the black vine weevil *Otiarhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) larval infestations in nursery containers. *J. Environ. Hort.* 20: 166-170.
- Mankin, R. W., S. L. Lapointe y R. A. Franqui. 2001. Acoustic surveying of subterranean insect populations in citrus groves. *J. Econ. Entomol.* 94: 853-859.
- Mankin, R. W., P. R. Samson, and K. J. Chandler. 2009. Acoustic detection of Melolonthine larvae in Australian sugarcane. *J. Econ. Entomol.* 102: 1523-1535.
- Mascanzoni, D. and Wallin, H. 1986. The harmonic radar: a new method of tracing insects in the field. *Ecol. Entomol.* 11: 387-390.
- McColloch, J. W. 1917. A method for the study of underground insects. *J. Econ. Entomol.* 10: 183-187.
- McColloch, J. W. 1929. Some problems in the control of underground insects. *IV Int. Cong. Entomol.* 2: 306-315.
- Méndez-Aguilar, M. J., A. Castro-Ramírez, R. Alvarado-Barrantes, C. Pacheco-Flores y C. Ramírez-Salinas. 2005. Eficacia de dos tipos de recolecta para registrar la diversidad de melolontidos nocturnos (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Acta Zoológica Mexicana* 21: 109-124.
- Miller, K. B., Y. Alaries, G. W. Wolfe, and M. F. Whiting. 2005. Association of insect life stages using DNA sequences: the larvae of *Philodytes umbrinus* (Motshulsky) (Coleoptera: Dytiscidae?). *System. Entomol.* 30: 499-509.
- Milner, R. J. 1992. The selection of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of Australian sugarcane white grubs. En: T. A. Jackson y T. Glare (eds.), *Use of Pathogens in Scarab Pest Management*. Andover, U. K. Intercept. pp. 209-215.
- Miner, F. D. 1948. Rearing technique for white grubs. *J. Kans. Entomol. Soc.* 21: 58-59.

- Montgomery, M. E., G. J. Musick, J. B. Polivka, and D. G. Nielsen. 1979. Modifiable washing-flotation method for separation of insect eggs and larvae from soil. *J. Econ. Entomol.* 72: 67-69.
- Morón, M. A. 1986. El género *Phyllophaga* en México. *Morfología, Distribución y Sistemática Supraespecífica (Insecta: Coleoptera)*. Publ. 20. Instituto de Ecología. México. 342 p.
- Morón, M. A. 2006. Revisión de las especies de *Phyllophaga (Phytalus)* grupos *obsoleta* y *pallida* (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae). *Folia Entomol. Mex.* 45 (Supl. 1): 1-104.
- Morón, M. A. y R. Terrón. 1988. *Entomología Práctica. Una guía para el estudio de los insectos con importancia agrícola, médica, forestal y ecológica de México*. Publ. 22. Instituto de Ecología. México. 504 p.
- Morón, M. A., S. Hernández y A. Ramírez. 1999. Description of immature stages of *Phyllophaga (Triodonyx) lalanza* Saylor (Col. Melolonthidae). *Pan-Pacific Entomologist* 75: 153-158
- Morón, M. A., S. Hernández y A. Ramírez. 1996. El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) asociado con caña de azúcar en Nayarit, México. *Folia Entomol. Mex.* 98: 1-44.
- Morón, M. A., S. Hernández-Rodríguez y A. Ramírez. 1998. Las especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae) con importancia agrícola en Nayarit, México. En: M. A. Morón y A. Aragón (eds.). *Avances en el Estudio de la Diversidad, Importancia y Manejo de los Coleópteros Edafícolas Americanos*. Publicación Especial de la BUAP y la Sociedad Mexicana de Entomología, Puebla, México. pp. 79-98
- Nájera-Rincón, M. B. 1995. Diversidad, abundancia y fluctuación poblacional de artrópodos edafícolas asociados al maíz de temporal bajo tres intensidades de labranza en Indaparapeo, Mich. *Resúmenes XXX Congreso Nacional de Entomología*. Chapingo, México. pp. 186-188.
- Nájera-Rincón, M. B. 1998. Producción masiva de "gallina ciega" *Phyllophaga spp* (Coleoptera: Melolonthidae) para ser usada en bioensayos con entomopatógenos. *Resúmenes XXI Congreso Nacional de Control Biológico*. Río Bravo, Tamps. México. pp. 107-109.
- Nájera-Rincón, M. B. T. A. Jackson y J. D. López Mora. 2006. Hongos entomopatógenos para el control de *Phyllophaga vetula* (Horn) (Coleoptera: Melolonthidae) en cultivos de maíz en Zacapu, Michoacán, México. En: A. E. Castro Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), *Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas*. Publicación Especial de El Colegio de la Frontera Sur, La Fundación Produce Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. pp. 241-262
- Nájera-Rincón, M. B., E. Hidalgo, P. J. Shannon and L. A. Rodríguez del Bosque. 2000. Screening of tropical strains of *Paenibacillus popilliae* against two Mexican white grub species. In: *Abstracts XXXIII Annual Meeting Society for Invertebrate Pathology*. SIP – U. de Gto., Guanajuato, Gto., México. p. 76.
- Núñez-Valdez, M. E., R. M. Ramírez-Gama, M. A. Calderón, L. Hernández, A. Romero, Z. Rodríguez-Segura, E. Aranda, A. Bravo y F. J. Villalobos. 2003. Bacterias entomopatógenas para el control de larvas de *Phyllophaga* spp. En: A. Aragón y M.A. Morón (eds.), *Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América*. Publicación Especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 347-359.
- Oehlschlager, A. C., W. S. Leal, L. Gonzalez, M. Chacon and R. Andrade. 2003. Trapping of *Phyllophaga elenans* with a female-produced pheromone. *J. Chem. Ecol.* 29: 27-36.
- O'Neal, M. E., D. A. Landis, E. Rothwell, L. Kempel, and D. Reinhard. 2004. Tracking insects with harmonic radar: a case study. *Am. Entomol.* 50: 212-218.
- Ordaz-Silva S., G. Gallegos M., O. V. López L. y J. R. Chavez B. 2006. Cría masiva de *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) en Laboratorio. *Entomología Mexicana* 5: 516-517.
- Ortman, E. E., D. C. Peters, and P. J. Fitzgerald. 1968. Vertical pull technique for evaluating tolerance of corn rootworm systems to northern and western corn rootworm. *J. Econ. Entomol.* 61: 373-375.
- Peck, S. B. y A. E. Davis. 1980. Collecting small beetles with large-area "window" traps. *Coleop. Bull.* 34: 237-239.
- Pérez-Domínguez, J. F. 1992. Determinación de dosis y épocas de aplicación de insecticidas contra plagas de la raíz del maíz en la Ciénega de Chapala. *Memorias XXVII Congreso Nacional de Entomología*. Sociedad Mexicana de Entomología A.C. pp. 323-324.
- Pérez-Domínguez, J. F. 2006. Efectividad biológica de formulaciones comerciales de hongos entomopatógenos contra gallina ciega bajo tres sistemas de labranza en Jalisco. *Memoria del XXXII Simposio Nacional de Parasitología Agrícola*. Ingenieros Agrónomos Parasitólogos. San Miguel Allende, Gto., México. Mesa 6.
- Pérez-Domínguez, J. F. y J. B. Maya. 1993. Estudios sobre búsqueda de resistencia en germoplasma de maíz al ataque de plagas de la raíz en el Centro de Jalisco, México. En: M. A. Morón (ed.) *Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas*. Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología. Xalapa, Ver., México. pp. 193-202.
- Pérez-Domínguez, J. F. y M. H. Badii. 1990. Dispersión espacial y tamaño de muestra en larvas y pupas de *Diatroba virgifera zeae* Krysan y Smith (Coleoptera: Chrysomelidae) en el centro del Jalisco. *XXV Congreso Nacional de Entomología*. Sociedad Mexicana de Entomología. Oaxaca, Oax., México. pp. 97-98.
- Pérez-Domínguez, J. F., J. B. Maya and J. A. Mihm. 1997. Insect resistant maize. *Recent Advances and Utilization Proceedings of an International Symposium held at the*

- International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT). 27 November-3 December 1994. México, D. F., México. pp. 283-286.
- Piper, R. W. and S. G. Compton. 2002. A novel technique for relocating concealed insects. *Ecol. Entomol.* 27: 251-253.
- Pleau, M. J., J. E. Huesing, G. P. Head, D. J. Feir. 2002. Development of an artificial diet for the western corn rootworm. *Entomol. Exp. Appl.* 105:1-11.
- Posos-Ponce, P., J. Corrales. E. Guerrero y V. Sánchez. 1994. Niveles de resistencia de *Cyclocephala comata* Bates (Coleoptera: Scarabaeidae) a insecticidas de distintos grupos toxicológicos de maíz de Arenal, Jalisco. Memoria XXIX Congreso Nacional de Entomología. Monterrey, N. L., México. 24-27 Abril. pp. 265-266.
- Ramírez-Salinas, C. y A. E. Castro-Ramírez. 2000. El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el cultivo de maíz, en El Madronal, municipio de Amatenango del Valle, Chiapas, México. *Acta Zool. Mex.* 79: 17-41.
- Ramírez-Salinas, C. y A. E. Castro-Ramírez. 2006. Ciclo de vida de dos especies rizófagas de "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) de Los Altos de Chiapas. En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón-García (eds.), *Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edáficos*. ECOSUR, Fundación PRODUCE Chiapas, BUAP. Puebla, México. pp. 37-48.
- Ramírez-Salinas, C., M. A. Morón, A. Castro-Ramírez. 2000. Descripción de los estados inmaduros de seis especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae; Melolonthinae) de la región Altos de Chiapas, México. *Folia Entomol. Mex.* 109: 73-106.
- Reinhard, H. J. 1940. The life history of *Phyllophaga lanceolata* (Say) and *Phyllophaga crinita* Burmeister. *J. Econ. Entomol.* 33: 572-578.
- Reyes, C. A. y M. A. Cantú. 2006. Maíz. En: L. A. Rodríguez del Bosque (ed.), *Campo Experimental Río Bravo: 50 Años de Investigación Agropecuaria en el Norte de Tamaulipas, Historia, Logros y Retos*. Libro Técnico No. 1. INIFAP, Campo Experimental Río Bravo. Río Bravo, Tam., México. pp. 55-74.
- Ritcher, P. O. 1966. *White grubs and their allies*. Oregon State University Press, Corvallis, U.S.A. 219 p.
- Roberts, R. J. and T.J.R. Smith. 1972. A plough technique for sampling soil insects. *J. Appl. Ecol.* 9: 427-430.
- Rocha-Rodríguez, R. 1985. Evaluación de cinco diseños de trampas con feromona sexual para la captura de machos adultos de la palomilla de la papa en el estado de Guanajuato. Memorias XX Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. Cd. Victoria, Tam., México, 21-24 abril. pp. 20-21.
- Rodney, H. W. and A. J. Keaster. 1977. Wireworm baiting: use of solar energy to enhance early detection of *Melanotus depressus*, *M. verberans* and *Aeolus mellillus* in Midwest cornfields. *J. Econ. Entomol.* 70: 403-406.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1980a. Evaluación de pérdidas en maíz por plagas del suelo en el norte de Tamaulipas. *Folia Entomol. Mex.* 45: 97-98.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1980b. Las plagas del suelo en el norte de Tamaulipas. Memoria del 8º Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. IAPAC. Torreón, Coah. México. pp. 29-37.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1981. Evaluación de 12 insecticidas para el control de la gallina ciega *Phyllophaga crinita* Burm. (Col.: Scarabaeidae), en maíz. *Folia Entomol. Mex.* 48: 59-60.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1982. Aspectos sobre la biología y comportamiento de la gallina ciega, *Phyllophaga crinita* Burmeister (Col.: Scarabaeidae). *Folia Entomol. Mex.* 54: 43-44.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1983. Aplicación de Furadan a la semilla de maíz, bajo infestaciones artificiales de *Phyllophaga crinita* Burm. (Col.: Scarabaeidae). Resúmenes del XVII Congreso Nacional de Entomología. Tapachula, Chiapas, México. p. 90.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1984. Oviposición de *Phyllophaga crinita* Burmeister sobre diferentes cultivos en el norte de Tamaulipas, México. *Southwest. Entomol.* 9: 184-186.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1986a. Daños del gusano trozador *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) en el cultivo de maíz en el norte de Tamaulipas. *Agr. Téc. Méx.* 12: 65-75.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1986b. Daño simulado al sistema radicular del maíz: Una herramienta en la búsqueda de tolerancia varietal a plagas del suelo. *Agr. Téc. Méx.* 12: 121-134.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1988. *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae): Historia de una plaga del suelo (1855-1988). Tercera Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología. Morelia, Mich., México. pp. 53-79.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1993. Abundancia estacional y ecología de coleópteros rizófagos: Un estudio durante 15 años en agroecosistemas del norte de Tamaulipas. En: M. A. Morón (ed.) *Diversidad y Manejo de Plagas Subterráneas*. Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología e Instituto de Ecología, México. pp. 7-15.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1996. Seasonal feeding by *Phyllophaga crinita* and *Anomala* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae in northeastern Mexico. *J. Entomol. Sci.* 31: 301-305.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 1998. A sixteen-year study on the bivoltinism of *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae) in Mexico. *Environ. Entomol.* 27:248-252.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 2003. Estrategias de *Phyllophaga crinita* y *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae).

- baeidae) para coexistir en agroecosistemas del noreste de México: Un modelo conceptual. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (eds.), Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América. Publicación Especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. pp. 167-177.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. 2004. Seasonal polymorphism in elytral coloration pattern of *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae) in Mexico. *J. Entomol. Sci.* 39: 545-550.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. and A. Magallanes Estala. 1994. Seasonal abundance of *Diabrotica balteata* and other diabroticina beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in northeastern Mexico. *Environ. Entomol.* 23: 1409-1415.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. y C. A. Tapia Naranjo 1982. Aplicación de insecticida al suelo y a la semilla contra plagas del suelo en maíz. *Folia Entomol. Mex.* 54: 64.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. y D. Enkerlin. 1982. Tolerancia de variedades de maíz al daño de la gallina ciega, *Phyllophaga crinita* Burmeister (Col.: Scarabaeidae). *Folia Entomol. Mex.* 54: 65-66.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. y J. R. Salinas García. 2006. Efecto de la labranza sobre la dinámica poblacional de invertebrados edafícolas del norte de Tamaulipas. En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Publicación Especial de El Colegio de la Frontera Sur, la Fundación Produce Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 195-199.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A. y N. D. Stone. 2006. Modelo de simulación de la emergencia de *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Scarabaeidae). En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón-García (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. ECO-SUR, Fundación PRODUCE Chiapas, BUAP. México. pp. 73-80.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A., F. Silvestre, V. M. Hernández, H. Quiroz, and J. E. Throne. 2005. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Phyllophaga crinita* and *Anomala flavipennis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Entomol. Sci.* 40: 67-73.
- Rodríguez-Segura, Z., F. J. Villalobos, L. Hernández, E. Aranda y M. E. Nuñez-Valdez. 2004. New entomopathogenic bacteria for the control of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). 37th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. 7<sup>th</sup> International Conference on *Bacillus thuringiensis*. Helsinki, Finland, August 2004. p. 110.
- Romero-López, A. A. y R. Arzuffi. 2006. Localización de pareja en los melolontidos: papel de las feromonas sexuales y los volátiles de plantas. En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Publicación de El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, México. pp. 99-112.
- Romero-López, A. A., A. Jiménez-Pérez y R. Figueroa-Brito. 2005. Dieta alternativa para la cría de *Phyllophaga obsoleta* (Coleoptera: Melolonthidae) en condiciones de laboratorio. *Entomología Mexicana* 4: 201-205.
- Romero-Parra, S. 1978. Diferentes formas de muestrear los insectos del suelo. Primera Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Sociedad Mexicana de Entomología. Guadalajara, Jal., México. pp. 15-20.
- Ruiz-Vega, J., S. Girón-Pablo y T. Aquino-Bolaños. 2006. Umbrales económicos para el uso de entomopatógenos en el control de gallinas ciegas (*Phyllophaga vetula* Horn). En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Publicación Especial de El Colegio de la Frontera Sur, la Fundación Produce Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 263-274.
- Ruiz-Vega, J., T. Aquino-Bolaños y R. Pérez-Pacheco. 2003a. Control biológico de la gallina ciega *Phyllophaga vetula* Horn (Melolonthidae) bajo condiciones semicontroladas y de campo. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (eds.), Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América, Publicación Especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 299-311.
- Ruiz-Vega, J., T. Aquino-Bolaños, H. K. Kaya y P. Stock. 2003b. Colecta y evaluación de nemátodos entomopatógenos para el control de gallinas ciegas *Phyllophaga vetula* (Horn) en Oaxaca, México. *Folia Entomol. Mex.* 42: 169-175.
- Salvadori, J. R., C. J. Ávila y M. T. B. da Silva (eds.). 2004. Pragas de Solo no Brasil. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Passo Fundo, RS, Brasil. 541 p.
- Sánchez-Gómez, A. y A. Flores-Ricardez. 2006. Control químico y biológico del complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el maíz de Comitán, Chiapas. En: A. E. Castro Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds), Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas. Publicación Especial de El Colegio de la Frontera Sur, La Fundación Produce Chiapas, A. C. y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 201-208.
- Schalk, J. M. 1985. Rearing and handling *Diabrotica balteata*. En: J. L. Krysan y T. A. Miller (eds.), *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer-Verlag, New York. pp 49-56.
- Southwood, T.R.E. 1987. Ecological methods, with particular referente to the study of insect populations. Chapman and Hall, London. 524 p.
- Stern, V. M., R. F. Smith, R. Van den Bosh, and K. S. Hagen. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29: 1-81.

- Sutter, G. R. and T. F. Branson. 1985. Artificial infestation of field plots. En: J. L. Krysan y T. A. Miller (eds.), *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer-Verlag, New York. pp. 147-158.
- Tapia-Rojas, A. M., M. A. Morón, A. Aragón-García, y J. F. López-Olguín. 2003. Determinación de Melolonthidae (Insecta: Coleoptera) en algunos suelos forestales del estado de Puebla, México. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (eds.), *Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 129-135.
- Teetes, G. L. 1973. *Phyllophaga crinita*: Damage assessment and control in grain sorghum and wheat. *J. Econ. Entomol.* 66: 773-776.
- Teetes, G. L. 1977. Host: *Sorghum bicolor* (grain sorghum); Organism: *Phyllophaga crinita* (white grub). En: L. Chiarrappa (ed.), *Crop Loss Assessment Methods*. FAO/CAB (Supplement 1). p. 123.
- Torres-Robledo, J. C. y J. L. Ayala-Orduño. 1993. Disposición espacial y tamaño de muestra de huevecillos de *Diabrotica virgifera zea* K. y S. (Coleoptera: Chrysomelidae) en maíz. Memoria XXVIII Congreso Nacional de Entomología. Cholula, Pue., México. p. 278.
- Van der Reyden, D. 1954. Design and analysis of soil insecticide field experiments. *Biometrics* 10: 291-297.
- Velasco, H. 1974. Incidencia y control químico del picudo negro del plátano, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Folia Entomol. Mex.* 29: 43.
- Velásquez-Cruz, E., A. E. Castro-Ramírez y C. Ramírez-Salinas. 2006. Manejo agroecológico de "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae). En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), *Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas*. ECOSUR, Fundación Produce Chiapas, A. C. y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 209-220.
- Velázquez-López, O., C. Ramírez-Salinas, A. E. Castro-Ramírez y A. Flores-Ricardez. 2006. Aislamiento y evaluación de cepas nativas del hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin de la "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en los Altos de Chiapas. En: A. E. Castro-Ramírez, M. A. Morón y A. Aragón (eds.), *Diversidad, Importancia y Manejo de Escarabajos Edafícolas*. ECOSUR, Fundación Produce Chiapas, A. C. y Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 231-240.
- Velázquez-Montoya, J. 1978. Evaluación de clones de vid con características de resistencia al ataque de la filoxera en el Estado de Aguascalientes. *Folia Entomol. Mex.* 39-40: 81-82.
- Vidal, S. U. Kuhlmann and C. R. Edwards (eds.). 2005. *Western Corn Rootworm: Ecology and Management*. CABI Publishing, Wallingford. 310 p.
- Villalobos, F. J. 1998. Bioecology and sustainable management of white grubs (Coleoptera: Melolonthidae) pest of corn in el Cielo biosphere reserve, Tamaulipas, México. In: M. A. Morón y A. Aragón (eds.), *Avances en el Estudio de la Diversidad, Importancia y Manejo de los Coleópteros Edafícolas Americanos*. Pub. Esp. de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Sociedad Mexicana de Entomología. Puebla, México. pp. 173-184.
- Villalobos, F. J., R. M. Ramírez-Gama, M. A. Calderón, L. Hernández, J. L. Tenango and M. E. Nuñez-Valdez. 2000. *Serratia* spp. and other Enterobacteriaceae active against *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Melolonthidae) larvae in Mexico. 33rd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. Guanajuato, México, Agosto, 2000. p. 97.
- Villalobos, F. J., R. O. Vásquez-Govea, A. A. Romero-López, Z. Rodríguez-Segura y M. E. Nuñez-Valdez. 2003. La labranza de conservación y la agrobiotecnología como propuesta de manejo sustentable de la gallina ciega (Coleoptera: Scarabaeidae) en cultivos de maíz (*Zea mays*) de Morelos. En: A. Aragón, M. A. Morón y A. Marín (eds.), *Estudios sobre Coleópteros del Suelo en América*. Publicación Especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. pp. 313-326.
- Villani, M. G., S. R. Krueger, P. C. Schroeder, F. Consolie, N. H. Consolie, L. M. Preston-Wilsey, and D. W. Roberts. 1994. Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) behavior and survival in turfgrass microcosms. *Environ. Entomol.* 23: 502-513.
- Yocum, G. D. and P. L. Evenson. 2002. A short-term auxiliary diet for the predaceous stink bug, *Perillus bioculatus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Fla. Entomol.* 85: 567-571.
- Young, W. R. y D. Candia. 1959. Biología y control de la "doradilla" en el Campo Cotaxtla, Ver. Agr. Téc. Méx. 1: 33-38.
- Zagal-Figueroa, A. 1981. Patogenicidad de *Beauveria* sp. sobre *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Folia Entomol. Mex.* 48: 12-13.
- Zhang, M. L., R. L. Crocker, R. W. Mankin, K. L. Flanders, and J. L. Brandhorst-Hubbard. 2003a. Acoustic identification and measurement of activity patterns of white grubs in soil. *J. Econ. Entomol.* 96: 1704-1710.
- Zhang, M. L., R. L. Crocker, R. W. Mankin, K. L. Flanders, and J. L. Brandhorst-Hubbard. 2003b. Acoustic estimation of infestations and population densities of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in turfgrass. *J. Econ. Entomol.* 96: 1770-1779.
- Zimmermann, G. 1986. The "*Galleria*" bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *J. Appl. Entomol.* 102: 213-215.