

V. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en parcelas de cultivo de amaranto del grupo cooperativo Quali en el Valle de Tehuacán, Puebla, en colaboración con la empresa Alternativas y Procesos de Participación Social A.C. durante el año 2007. En el caso de *Phyllophaga ilhuicaminai*, además de realizar observaciones en el Valle de Tehuacán, algunas tuvieron lugar en el club de golf La Vista en el municipio San Andrés Cholula, Puebla, así como en parcelas de cultivo de jamaica en el municipio Chiautla, Puebla. Los individuos colectados fueron procesados en el laboratorio de Entomología del Departamento de Agroecología y Ambiente del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (DAGAM-ICUAP).

5.1. Zona de estudio

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una de las provincias fitogeográficas identificadas por Rzedowski (1978) en la Región Neotropical, cuya vegetación corresponde al Matorral Xerófilo (Morrone, 2005). Morrone *et al.* (2002) lo ubican como parte de la provincia Eje Volcánico Transmexicano. Se localiza en el sureste del estado de Puebla y noroeste de Oaxaca, entre los 17°39' y 18°53' de latitud norte y los 96°55' y 97°44' de longitud oeste. Esta delimitación es artificial debido a que el Valle, con un poco más de 10,000 km² de superficie comprende varios valles internos, separados por numerosas serranías que han hecho difícil su delimitación natural (Fryxell, 1993). El clima va de seco semicálido, semiseco cálido, semiseco templado a semiseco muy cálido (INEGI, 2006). La

precipitación media anual es generalmente inferior a los 700 mm. La temperatura media anual varía entre 12 y 26 grados centígrados. Parte de la superficie de esta zona, ubicada en la cuenca del Río Atoyac de la Región del Balsas, se ha dedicado a la siembra tanto de riego como de temporal de tomate verde, frijol, jitomate, alfalfa y maíz, entre otros (INEGI, 2006), además de amaranto como ha sido mencionado anteriormente.

San Andrés Cholula, municipio en que se encuentra el sitio de observación La Vista, presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano y el sitio de observación en particular es un club de golf ubicado en una zona urbana. Chiautla de Tapia presenta un clima cálido con lluvias en verano (INEGI, 2006) y su vegetación corresponde a la selva baja caducifolia (Rzedowski, 1978) aunque parte de su superficie se ha dedicado a la agricultura (Figuras 5.1 y 5.2).



Figura 5.1. Ubicación relativa de La Vista, San Miguel la Cantera y el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Mapa elaborado con base en imágenes satelitales disponibles en el programa Google Earth con las coordenadas obtenidas con GPS en cada sitio de observación. Para el Valle de Tehuacán- Cuicatlán se señalan las fronteras artificiales de Fryxell, 1993.

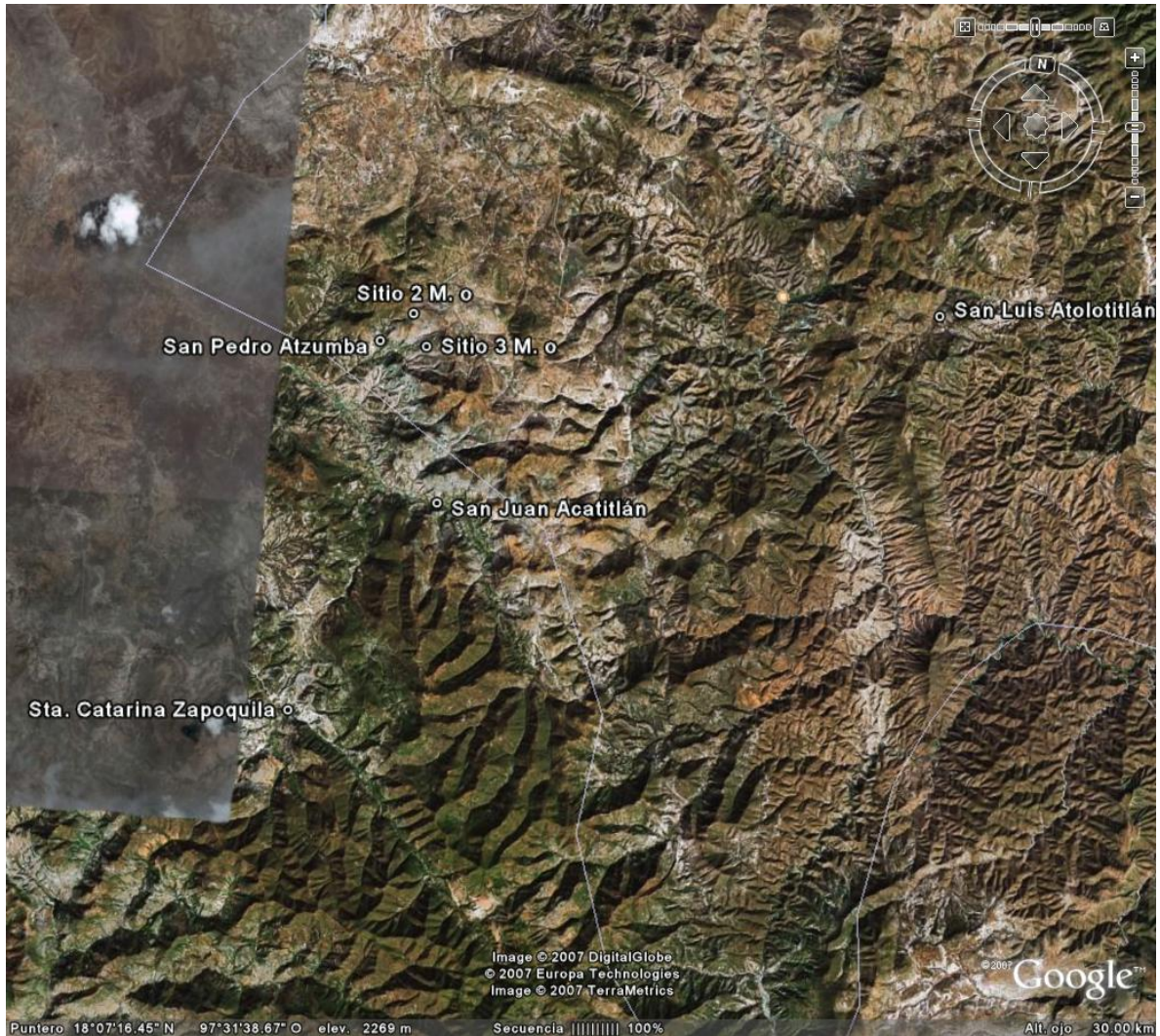


Figura 5.2. Ubicación relativa de los sitios de observación dentro del Valle de Tehuacán. Mapa elaborado con base en imágenes satelitales disponibles en el programa Google Earth con las coordenadas obtenidas con GPS en cada sitio de observación.

5.2. Selección de las especies de interés

Las especies en estudio fueron seleccionadas con base en su importancia dentro del complejo gallina ciega asociado al cultivo de amaranto y son consideradas plagas en este cultivo para el Valle de Tehuacán, en el estado de Puebla (Información personal Aragón, 2007) siendo éstas *Phyllophaga ilhuicaminai* y *Macroductylus ocreatus*. Una vez

seleccionadas las especies se realizaron observaciones en campo de mayo a julio, cada 8 ó 15 días según la localización y hábitos (diurnos o crepusculares-nocturnos) de cada especie.

5.3. Hábitos de vuelo

Para el estudio de *Phyllophaga ilhuicaminai*, especie crepuscular-nocturna, se instaló una trampa de luz tipo pantalla provista con una lámpara de vapor de mercurio de 175 watts abastecida con un generador de gasolina portátil, la cual se mantuvo operando de las 19:30 horas, hasta que los organismos suspendieran su actividad de vuelo. Los individuos fueron recolectados de la trampa en frascos y cada treinta minutos las muestras se separaron y etiquetaron para trasladarse al laboratorio de entomología del Departamento de Agroecología y Ambiente del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (DAGAM-ICUAP) donde se llevó a cabo la determinación de especie con las claves propuestas por Delgado *et al.*, 2000. De esta manera fue posible detectar el horario y época de vuelo de esta especie.

En el caso de *M. ocreatus*, se realizaron observaciones diurnas durante los meses de mayo, junio y julio para detectar hábitos de vuelo. El tipo de colecta fue directa. Los individuos colectados fueron debidamente etiquetados y transportados al laboratorio para realizar observaciones en cautiverio y obtener la cría.

Para corroborar la identidad de la especie se procesaron montando en alfileres entomológicos 6 hembras y 6 machos de cada colecta, mientras el resto se conservó en frascos con alcohol al 70% debidamente etiquetados, para ser depositados en la colección de referencia del DAGAM-ICUAP.

5.4. Hábitos alimenticios y de apareamiento

De manera simultánea al funcionamiento de la trampa tipo pantalla, se realizaron prospecciones con linternas portátiles sobre la vegetación arbórea y herbácea alrededor de la parcela con el fin de observar hábitos alimenticios y copulatorios de *P. ilhuicaminai*; se registró el sustrato alimenticio, el lugar y tiempo de cópula. Dichas observaciones también se realizaron durante el día para *M. ocreatus*.

Con el fin de observar nuevas cópulas, hábitos alimenticios y número de huevos ovipositados por cada hembra, se recolectaron parejas en cópula después de haber observado su comportamiento y se mantuvieron en cautiverio por separado en recipientes de plástico de 500 ml con tapa finamente perforada (para facilitar el flujo de aire y disminuir la formación de hongos) provistos con suelo húmedo y estéril así como un poco del sustrato de vegetación sobre la cual fueron encontrados. La metodología de esterilización de suelo fue la propuesta por Aragón y Morón (2004) la cual consiste en colocar en un vaso de precipitado de 500 ml, 400 gramos de suelo tapado con un sombrerito de papel bond e introducirlo al horno de microondas durante cinco minutos, vaciándolo posteriormente en una charola o trozo de papel para enfriar a temperatura ambiente.

Los individuos que no fueron colectados en cópula fueron mantenidos en cautiverio en un lugar iluminado a temperatura ambiente dentro de peceras de vidrio de 20 cm de ancho, 30 cm de largo y 40 cm de altura, cubiertas en el extremo superior con tela tricot blanca para pabellón, en cuyo interior se colocó una capa de 10 cm de suelo de hoja, tamizado con malla del número 10, estéril y húmedo; asimismo se colgaron ramas de

trueno (*Ligustrum* sp.) y eucalipto (*Eucalyptus* sp.) para *P. ilhuicaminai* y pirul (*Schinus* sp.) para *M. ocreatus*. Las peceras se observaron constantemente para registrar el comportamiento de los adultos y cronometrar el tiempo de cópula. Cada 48 horas se cambiaron las ramas, se separaron los huevos y se trasladaron los adultos muertos a un frasco con alcohol al 70%. El suelo fue cambiado cada 15 días o antes en el caso de presentarse hongos.

5.5. Cantidad de huevos promedio depositados por hembra

Las parejas aisladas se mantuvieron en los recipientes de 500 ml con suelo obtenido bajo las condiciones descritas anteriormente, hasta la muerte de todos los adultos, a los cuales se les practicó la extracción de genitales y fueron montados en alfileres entomológicos para confirmar su determinación.

El suelo de los recipientes fue revisado a las 24 horas y posteriormente cada 48 horas. Los huevos fueron separados y colocados en recipientes de 500 ml con suelo estéril y húmedo según la fecha de oviposición, con un máximo de 20 huevos por recipiente.

5.6. Desarrollo de los estados inmaduros

Los huevos fueron mantenidos en condiciones de humedad y libres de hongos hasta la eclosión de las larvas. Se registró el tiempo de incubación y el tiempo de duración de los dos primeros estadios larvarios. Las larvas de *P. ilhuicaminai* fueron mantenidas en recipientes de plástico de 500 ml con suelo de hoja estéril, húmedo y tamizado con malla

del No. 10 colocando hasta un máximo de 10 larvas por recipiente y fueron alimentadas con rebanadas de zanahoria que se cambiaron cada 48 horas.

Las larvas de *M. ocreatus* fueron mantenidas en recipientes de plástico de 500 ml en las mismas condiciones que *P. ilhuicaminai* durante 45 días, posteriormente fueron individualizadas y trasladadas a pequeños frascos de 16 ml de capacidad ya que se presentó una alta mortalidad probablemente debida a que se dañaban entre ellas. Las larvas de esta especie fueron alimentadas con zanahoria durante 7 días, posteriormente con una mezcla húmeda de materia orgánica. Inicialmente cada 500 gramos de mezcla contenía 250 g de suelo de hoja, 125 g de estiércol y 125 g de aserrín. Después de 15 días fue incorporado a la mezcla inicial estiércol de *Cotinis mutabilis* (proporcionado por la M.C. Cecilia Pérez Torres del DAGAM-ICUAP) y abono para plantas preparado (Sunshine mezcla 3: 70-80% Turba Esfagnacea canadiense, vermiculita, piedra caliza, yeso agrícola y agentes humectantes) de manera que la composición por cada 500 gramos de mezcla fue de 200 g de suelo de hoja, 100 g de estiércol, 100 g de aserrín, 30 g de estiércol de *Cotinis mutabilis*. y 70 g de abono para plantas preparado. Los componentes se pasaron por un tamiz con malla del número 10 y posteriormente por una coladera de cocina de plástico para facilitar la revisión de las larvas.

Fueron pesadas en balanza analítica larvas de cada especie al inicio y final de cada uno de los tres estadios larvarios. Tres larvas de cada especie en el periodo inicial y final de cada uno de los estadios larvarios fueron fijadas en líquido Pampel, después de cuatro días se pasaron a alcohol al 70% y se llevó a cabo la medición del ancho y largo de la cápsula cefálica así como del largo del cuerpo, con un vernier digital Truper. Finalmente fueron ingresadas a la colección de referencia del DAGAM-ICUAP.

Se elaboró una tabla de vida para obtener la mortalidad y esperanza de vida de los estados inmaduros. Se consideró al tercer estadio como etapa final por cuestiones de delimitación de tiempo en la elaboración del trabajo.