



**CENTRO DE INVESTIGACION EN PALMA DE ACEITE
CENIPALMA**

**INFORME DE ACTIVIDADES
PERIODO DE ENTRENAMIENTO
LABORATORIOS INRA VERSAILLES**

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ADULTOS DE *Strategus
aloeus* L. A DIFERENTES DOSIS DE LA FEROMONA
SINTÉTICA EN EL OLFATOMETRO DE CUATRO VIAS**

**ROSA CECILIA ALDANA DE LA TORRE
ÁREA DE ENTOMOLOGÍA**

VERSAILLES, AGOSTO 30- OCTUBRE 17 DE 2000



CONTENIDO

1. INTRODUCCION	3
RESUMEN	4
OBJETIVOS	4
1. MANUSCRITO SOBRE <i>STRATEGUS ALOEUS</i>	5
2. PRUEBAS DE OLFATOMETRÍA	7
OTRAS ACTIVIDADES:	18
ANEXO 1	19
ANEXO 2	37
ANEXO 3	38
ANEXO 4.	39
ANEXO 5.	40
ANEXO 7.	42



1. INTRODUCCION

El convenio firmado con la unión Europea, "Nueva tecnología para el manejo de plagas de palma de aceite mediante la selección de atrayentes sintéticos" en Colombia ha venido trabajando en la evaluación de mezclas sintéticas kairomonales para la captura de *Rhynchophorus palmarum* L. y el estudio del comportamiento y la evaluación de la feromona sintética de *Strategus aloeus* L.

La investigación sobre las sustancias esenciales para la captura de *R. palmarum* a partir de plantas ha evolucionado enormemente (Rochat, et al. 2000) y viene evaluando en campo la mezcla sintética JCO y las mezclas derivadas con el fin de optimizar su composición. Así mismo, para *S. aloeus* se ha avanzado en el conocimiento de la ecología química y comportamiento en campo.

En el marco del proyecto INCO-CEE se acordó que un investigador de CENIPALMA realizara una práctica de 1.5 meses en Versailles, en el laboratorio de Mediadores Químicos del INRA. Durante este período se evaluó en el olfatómetro de cuatro vías varias mezclas sintéticas de la feromona de *S. aloeus* y se escribió el primer borrador del manuscrito sobre el comportamiento de éste insecto. De otro lado se prepararon protocolo y mezclas sintéticas kairomonales para ser evaluados en Colombia.



RESUMEN

Para *Strategus aloeus* L. se realizó la evaluación de soluciones sintéticas de la feromona en el olfatómetro de cuatro vías con el fin de conocer la respuesta de los adultos de éste insecto a diferentes concentraciones. Se encontró que para el flujo de la feromona de 0.025ng/s suministrado como estímulo a los individuos se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la zona de la feromona y las testigo para el caso de las hembras, mientras que los machos presentaron una tendencia a visitar las zonas adyacentes a la zona de la feromona. Se debe continuar con las pruebas con dosis más bajas con el fin de obtener mayor información sobre el comportamiento de éste insecto.

La evaluación realizada utilizando el papel filtro mostró diferencias significativas entre la zona con la feromona y las zonas testigo, tanto para hembras como machos. Se realizaron además los protocolos para evaluar la kairomona sintética JCO para la captura de *R. palmarum*, tendientes a optimizar los componentes de la misma

OBJETIVOS

- ❖ Preparación de primer borrador del manuscrito de *S. aloeus*.
- ❖ Evaluar diferentes concentraciones de la feromona sintética de *S. aloeus* en el olfatómetro de cuatro vías sobre hembras y machos.



1. MANUSCRITO SOBRE *STRATEGUS ALOEUS*

Se hizo la recopilación de toda la información disponible de los experimentos realizados en Colombia en la zona central sobre *S. aloeus* a cargo del investigador Jorge Aldana con el propósito de realizar un manuscrito sobre la biología y hábitos de éste insecto, el cual se escribió en inglés y se debe someter a discusión por parte de los autores, para su posterior publicación.

El artículo tentativamente se ha titulado:

"Algunos aspectos sobre el comportamiento del escarabajo rinoceronte *Strategus aloeus* L. (Coleoptera: Dynastidae) y evidencia de la atracción por machos".
(Anexo 1).

En este manuscrito se incluyen los siguientes puntos:

1. Introducción
2. Materiales y métodos
 - 2.1 Distribución espacial natural e incidencia de *S. aloeus* en palma de aceite.
 - 2.2 Relación de sexos
 - 2.3 Proporción de tamaños de adultos y movilidad en campo de los machos.
 - 2.4 Comportamiento de adultos en condiciones de laboratorio
 - 2.4.1 Determinación del periodo de actividad
 - 2.4.2 Período de actividad de hembras vírgenes y copulas en condiciones de laboratorio



- 2.5 Forma de la galería.
- 2.6 Comportamiento reproductivo de los machos en laboratorio
 - 2.6.1 Comportamiento de llamado de los machos en laboratorio
- 2.7 Agresión de machos hacia otros machos
- 2.8 Pruebas de olfatometría en laboratorio
 - 2.8.1 Prueba de atracción de hembras vírgenes hacia machos en posición de llamado de atracción (empleados como señuelo).
 - 2.8.2 Prueba de atracción de machos hacia machos en posición de llamado de atracción (empleados como señuelo).
- 2.4. Elaboración de trampas



2. PRUEBAS DE OLFATOMETRÍA

Las pruebas de olfatometría se realizaron en el laboratorio de mediadores químicos del INRA (Versailles, Francia), bajo la dirección de Imen Said. Se utilizaron en las pruebas, individuos de *Strategus aloeus* traídos de Puerto Wilches, Colombia. Para las pruebas se acondicionaron los insectos durante dos semanas, se realizó la calibración del olfatómetro y se iniciaron las pruebas mencionadas anteriormente. Para tal efecto se describirá la metodología seguida durante las pruebas

1. Acondicionamiento de los insectos

Los insectos utilizados en las pruebas permanecieron en cajas plásticas con suelo en grupos de 10 individuos/caja, separados por sexo. Como alimento se les proporcionó caña de azúcar. Los insectos permanecieron a 28°C en una cámara tropical, se cambió el fotoperíodo de los insectos de modo que la escotofase (noche) iniciaba a las 08:00 horas y terminaba a las 20:00 horas, para realizar las pruebas durante el día. Se tenían un total de 21 hembras y 42 machos.

2. Descripción del sistema de calibración

La fuente de olor (la solución de la feromona) está conectada a dos tubos, por uno de los tubos pasa un flujo de aire constante de 9ml/m, el otro tubo va desde la fuente de olor y llega a un dispositivo que llamaremos zona de la solución (Fig. 1), al cual se une el manómetro (mide la cantidad de aire olorizado que va a pasar), y un tubo que le inyecta otros 80 ml/m de aire purificado, para obtener finalmente una presión de aire de 89ml/m. El dispositivo (zona de la solución Fig. 2) tiene un tubo de teflón muy fino(0.5mm) por el cual pasa finalmente el aire olorizado (la



feromona) y que llega directamente donde está la fibra de carboxeno, que absorbe las moléculas de la feromona (Fig. 2)

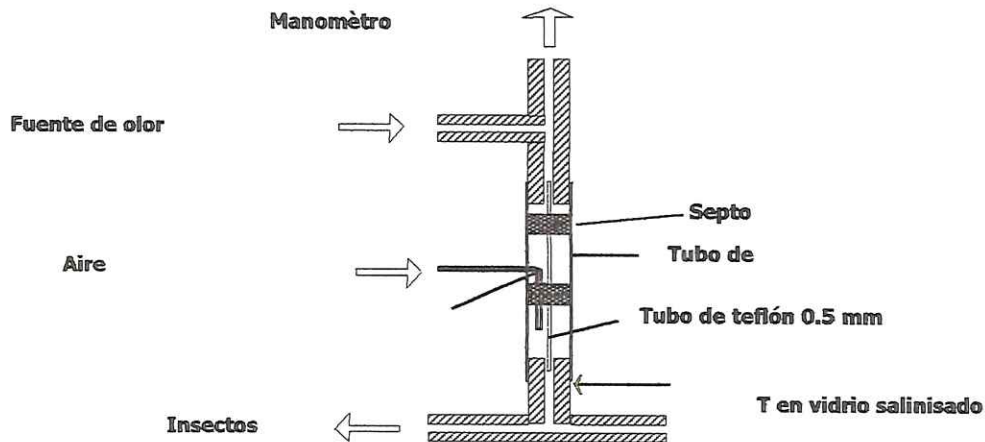


Figura 1. Detalle de la zona de la solución (Tomado de Said, 1999)

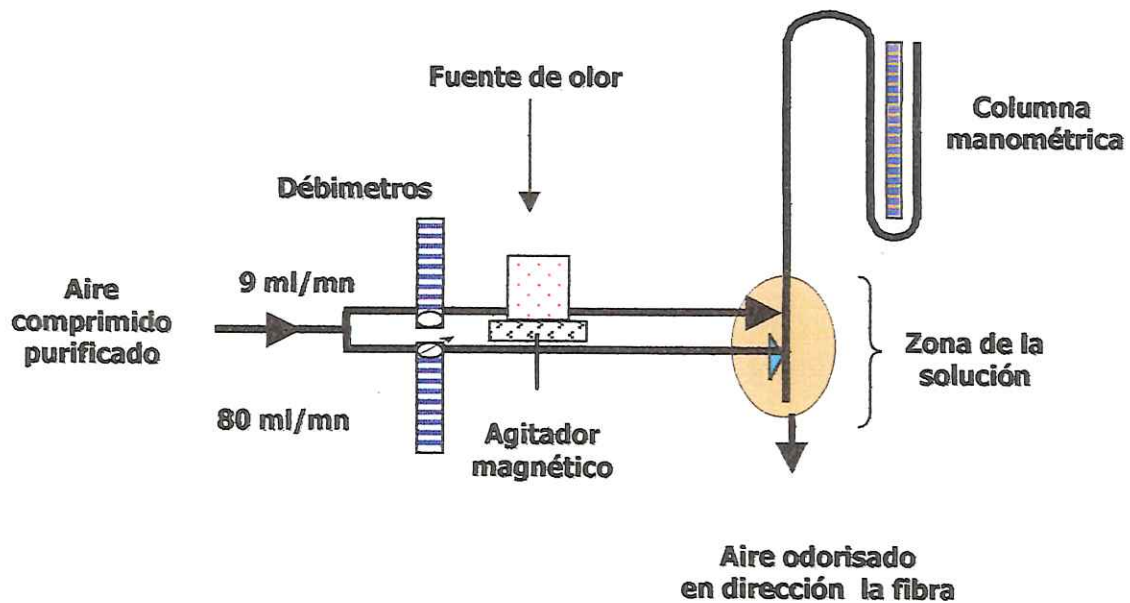


Figura 2. Sistema de Calibración del olfatómetro (Tomado de Said, 1999)



3. Calibración del olfatómetro

La calibración del olfatómetro se hizo calculando la relación entre la cantidad de feromona que llega a la fibra y la diferencia manométrica. Se evaluaron 5 medidas manométricas 24, 20, 16, 9, 3.5 ml/m y dos repeticiones por cada una. Se preparó 100ml de la solución sintética de la feromona de *S. aloeus* con las siguientes proporciones: 2 butanona 98%, 3 pentatona 1%, secbutylacetato 1%, la cual permaneció a 28°C. La solución se dejó equilibrar durante 2 horas con una presión de aire de 9ml/m. Finalmente, se dejó pasar la feromona con una presión de 89ml/m por un tubo plástico hasta la fibra de carboxeno que se dejó expuesta durante 20 min. Posteriormente, se llevó la fibra al cromatógrafo, con el propósito de conocer los tiempos de retención y el área de pico de los componentes de la feromona que fueron absorbidos por la fibra.

Para los análisis se tuvo en cuenta solo la 2 butanona, que es el componente mayoritario de la feromona, dado que los otros componentes se volatilizan muy rápido. Para conocer la concentración de la 2 butanona en el flujo de aire se tuvo en cuenta la constante FID (respuesta del inyector a la 2 butatona), la cual es registrada en la literatura y es de 0.0007ug/área de pico, el área de pico (AP) en el cromatograma (cantidad de producto absorbido por la fibra y que fue inyectado al cromatógrafo) y la constante de equilibrio (K) entre la fibra y la 2 butanona que es de 0.148 ml.

Concentración en el flujo de aire de la 2 butatona = (FID * AP) * K

Obtenida la concentración de la 2 butanona en el flujo de aire para cada uno de las medidas manométricas se relacionó la cantidad de aire olorisado inyectado y se obtuvo una relación exponencial (Tabla 1 Fig. 3).



Tabla 1. Concentración de la 2 butanona y medidas manométricas

	Medidas manométricas (ml/m)				
	24	20	16	9	3.5
Promedio área de pico	55652.5	26335.5	18223.5	8392.5	3476
Concentración de 2 butanona (ug/ml de aire)	263.2	124.6	86.2	39.7	16.4

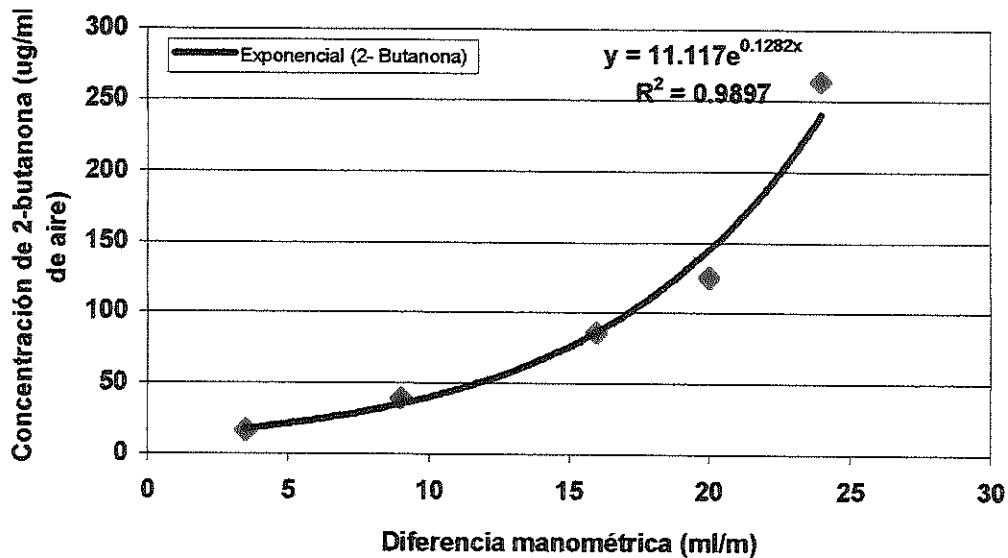


Figura 3. Relación exponencial de la concentración de 2 butanona en el flujo de aire y la diferencia manométrica.

Con base en estos resultados se preparó una solución sintética de la feromona de 50 mg/ml y a partir de ésta se prepararon soluciones acuosas de 0.5 mg/ml, 0.05 mg/ml y 0.0025mg/ml dos horas antes de iniciar las pruebas y se calculó la cantidad de feromona que sería suministrada a los insectos(Tabla 2).

4. Preparación de los insectos para la prueba de olfatometría

Para cada prueba los individuos de *S. aloeus* (hembras y machos). Se prepararon 12 insectos diariamente en cajas plásticas individualmente 24 horas antes de



iniciar la prueba. En cada caja plástica se colocó papel toalla húmeda. Los insectos permanecieron a 28°C.

Tabla 2. Solución acuosa sintética de la feromona de *S. aloeus* y la dosis equivalente suministrada a los insectos.

	Solución acuosa de la feromona (mg/ml)		
	0.5	0.05	0.0025
Dosis de feromona suministrada a los insectos (ng/s)	25	2,5	0.1

5. Pruebas de olfatometría

La solución sintética acuosa de la feromona a evaluar se dejó equilibrar durante 2 horas antes de iniciar la prueba. Se utilizó un olfatómetro de cuatro vías (Fig. 4). El olfatómetro de cuatro vías es un dispositivo de laboratorio que permite medir y comparar la respuesta de los insectos sometidos a la acción de estímulos de olor en condiciones controladas.

El olfatómetro consiste en una cámara en forma de estrella con cuatro ramificaciones. Cada ramificación está delimitada por dos arcos circulares de 90°. El aire entra por orificios en el ápice de las ramificaciones y es evacuado por un orificio que tiene un aspirador de aire situado en el centro del olfatómetro (Fig. 4). En una de las vías del olfatómetro se suministró la feromona sintética, en las vías restantes sólo se dejó pasar el flujo de aire húmedo purificado. La feromona se suministró en una vía diferente cada día. El insecto a evaluar se colocó siempre en la zona cero (centro del olfatómetro) en el cual convergen todos los olores, debido a que está el extractor del olor. El flujo de aire olorizado y purificado suministrado en las cuatro zonas fue de 500 ml/m. Se evaluaron 3 dosis de la feromona, para cada una se utilizaron 20 individuos de cada sexo. Se evaluaron



12 individuos diarios. Las pruebas se iniciaron a las 15:00 horas. Para cada insecto la prueba duró 10 minutos. El tiempo que permanecía el insecto en cada una de las zonas del olfatómetro se registró con la ayuda de un programa de computador. Al finalizar cada prueba se llenaba una planilla de registro individual (Tabla 3). Cuando el insecto no reaccionaba después de cinco minutos de iniciar la prueba o presentaba comportamientos desordenados se descartaba del ensayo.

Adicionalmente, siguiendo la metodología anterior, se evaluó una solución sintética de la feromona de *S. aloeus* en el olfatómetro, pero, ésta se suministró a los insectos mediante el uso de un papel filtro de 2 cm². Se aplicó 20µl de solución sintética disuelta en aceite de vaselina en papel filtro y como testigo se utilizó 20 µl de aceite de vaselina en papel filtro.

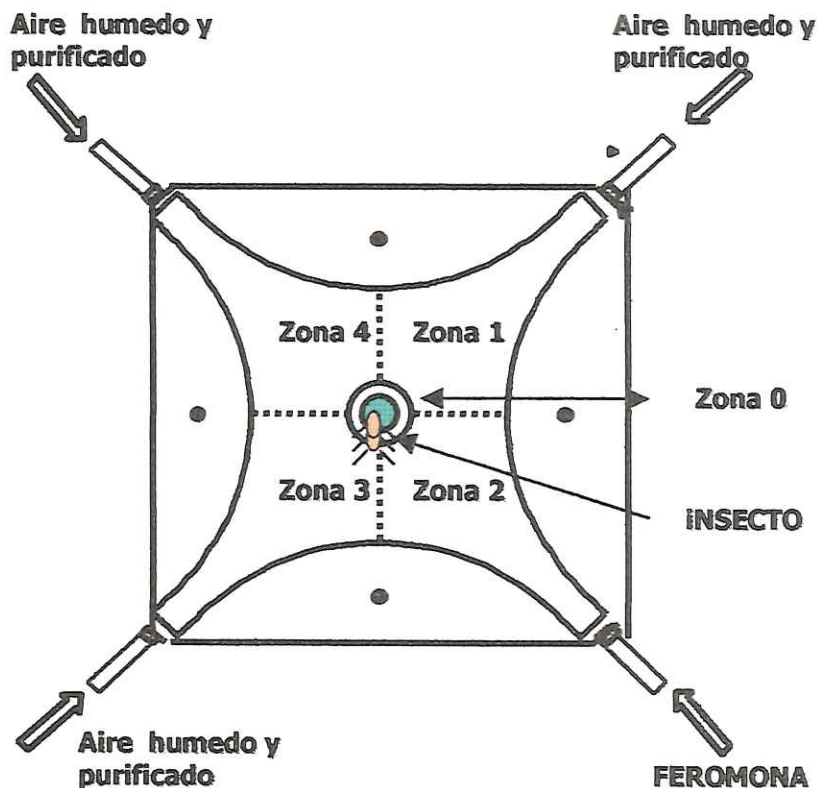
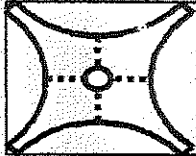


Figura 4. Olfatómetro de cuatro vías.



Tabla 3. Planilla de registro individual para las pruebas de olfatometría

No y sexo de insecto:	Orientación:	
Fecha y hora:	Observador:	
Temperatura:		
Flujo de aire:		
No. Registro:		

Zonas	Olor	Tiempo	No. visitas	1 zona visitada	Posición final	Observaciones
1						
2						
3						
4						
0						

Para el flujo de la feromona de 2.5 ng/s y 25 ng/s suministrado como estímulo a los individuos no se encontró diferencias significativas respecto al testigo (zonas adyacentes y zona opuesta), es decir las zonas que solo tenía el flujo de aire húmedo. Con la concentración 0.025ng/s se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la zona de la feromona y las testigo para el caso de las hembras (Fig. 5), mientras que los machos presentaron una tendencia a visitar las zonas adyacentes a la zona de la feromona (Fig. 6). Se iniciaron pruebas con una dosis intermedia de 0.2 ng/s con el fin de obtener mayor información sobre el comportamiento de éste insecto.

La evaluación realizada utilizando el papel filtro mostró diferencias significativas entre la zona con la feromona y las zonas testigo, tanto para hembras como machos (Fig. 7).

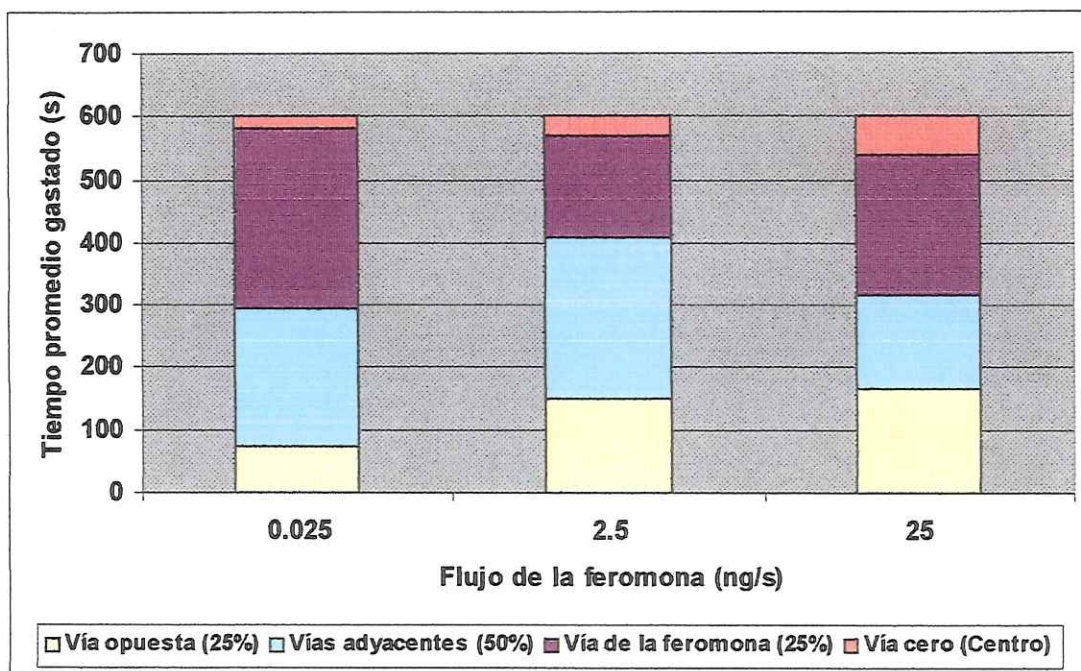


Figura 5. Respuesta de hembras de *S. aloeus* a diferentes dosis de la feromona sintética en el olfatómetro de cuatro vías

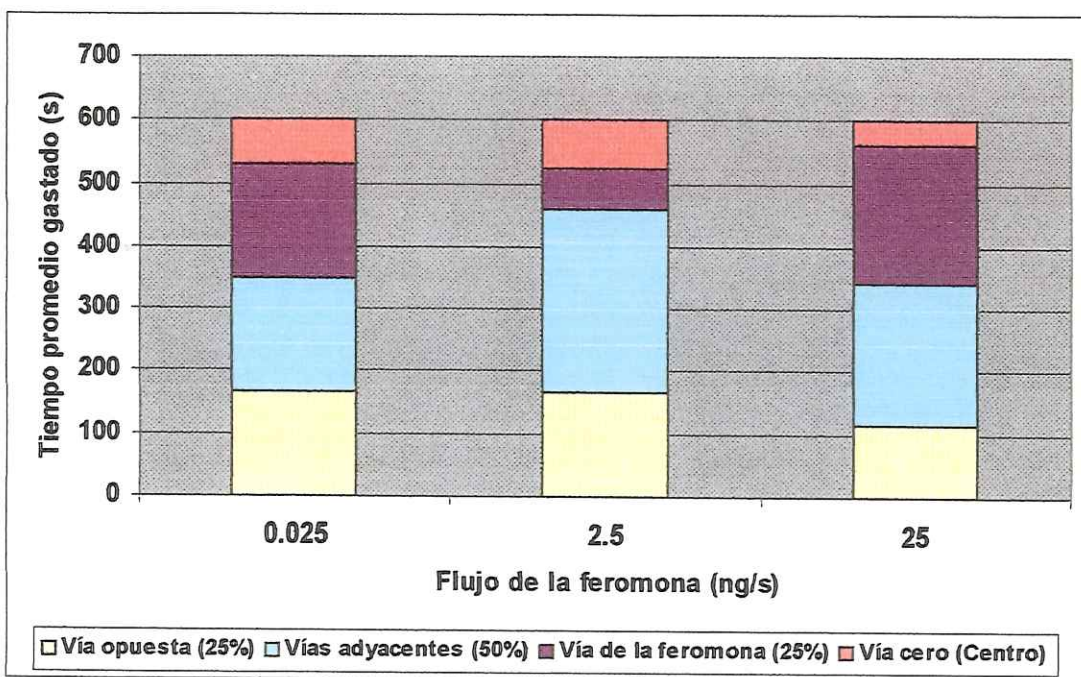


Figura 6. Respuesta de machos de *S. aloeus* a diferentes dosis de la feromona sintética en el olfatómetro de cuatro vías

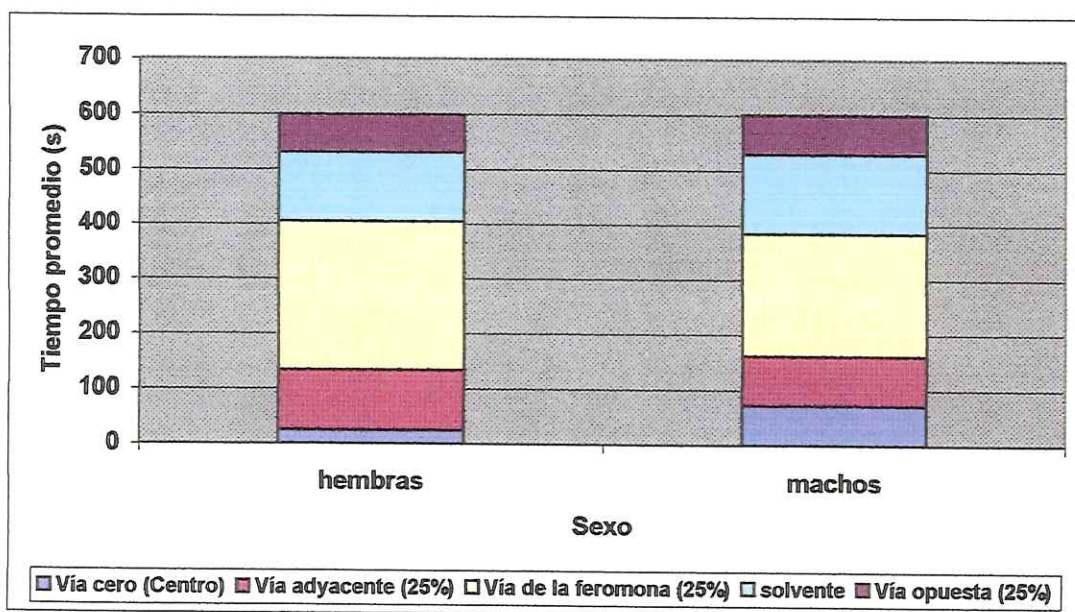


Figura 7. Respuesta de hembras y machos de *S. aloeus* a la feromona sintética en el olfatómetro de cuatro vías utilizando papel filtro.



De acuerdo a los resultados obtenidos anteriormente se hace indispensable continuar los experimentos de campo y realizar las observaciones directas en campo sobre el comportamiento de éstos insectos los cuales ayudarán a entender los resultados obtenidos con la feromona sintética tanto en campo como en laboratorio.

Experimentos de *Strategus aloeus*

1. Atracción en campo

Para *S. aloeus* se continuará con los experimentos de atracción de adultos en campo utilizando machos vivos como cebos en parcelas de 13 x 13 palmas. Se evaluarían 4 tratamientos con 1, 3 y 9 machos en las trampas y el testigo trampas sin machos. Se pretende incrementar el número de réplicas (mínimo 3 repeticiones por parcela) por tratamiento y realizar observaciones directas teniendo en cuenta:

- ◆ Fecha de llegada a la trampa y/o a la parcela
- ◆ Realizar observaciones alrededor de las trampas
- ◆ Definir el número de lecturas/semana
- ◆ Realizar mapas de distribución de insectos en las diferentes parcelas
- ◆ Describir el comportamiento de los insectos atraídos por machos vivos utilizados como cebos con respecto a las trampas.
- ◆ Sexo y número de los individuos en las galerías

Se llevará un formato de registro en el cual se consignarán los datos y observaciones obtenidos en cada lectura (Tabla 4).



ANEXO 1

Aspects of the behavior of the rhinoceros beetle *Strategus aloeus* L. (Coleoptera: Dynastidae) and the evidence for field attraction to males

1. INTRODUCTION

Coleopterons of the family Scarabaeidae, commonly known, as rhinoceros beetles are pest of several palmaceas, including oil palm (*Elaeis guinnensis*) and the coconut tree (*Cocos nucifera* L.). *Strategus aloeus* has been registered as pest of the oil palm in Venezuela, Guyana, Surinam, Ecuador, Peru and north of Brazil, (Genty *et al.* 1978). In Colombia it is presented in all the areas with oil palms of the country.

Knowledge on the biology and behavior of *S. aloeus* is poor (Lourencao *et al.* 1999, Couturier *et al.* 1996, Ahumada *et al.* 1995). *S. aloeus* is an insect of black color, great size, it can measure among 31.0 - 69 mm of long (Lourencao *et al.* 1999, Genty *et al.* 1978). This species presents sexual dimorfism, the males possess three protuberances in form of horns in the toraxic region, although there are differences in the size between males, the females are smaller. Adults are present during the whole year, being abundant in April and October, approximately one month after beginning the rainy season.

Adults of *S. aloeus* perforates the radical bulb of the young palms of less than four years old, causing damages that can arrive until the meristem and to cause the death of the palm. Immature stages are developed in the stems of eradicated palms in decomposition process (Ahumada *et al.* 1995, Reyes y Cruz 1986). Their presence is detected easily, adult makes a perforation in the soil very near the stem, in this place it leaves a small mound of soil recently removed with sandy



tests in the laboratory of Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques of the INRA, Versailles, France.

2.1. Natural distribution and incidence of *Strategus aloeus* on oil palm

Maps of five lots (10, 34, 37, 38 and 39) were elaborated in field-planted renovation oil palm (1-2 years old). Position of each affected palm and the number of galleries were determined geographically in each lot. Censuses of different lapse of time after the last chemical control were carried out in the lots. This way, the lot 39 was taken a census of 12 days after the control, lots 34 and 38 to the 20 days, lot 37 to the 32 days, and lots 10. There was not any chemical treatment type during the evaluation time.

Lots were divided into 49 palm- parcels, in each parcel were counted the number of affected palms per parcel. Spatial distribution was determined by dispersion analysis index based on the relationship variance/mean and its significancy by χ^2 test.

2.2. Sexes-relationship of *S. aloeus*

During June to September of 1998 were carried out journeys every fifteen days field-planted palms (1-2 years old). In the journeys were registered the number and sex of insects. Adults in the galleries were extracted applying a solution of detergent in the entrance hole. Later, 63 eradicated palm stems in decomposition process were checked, and were registered eggs, larvas, pustules and adults.

2.3. Proportion of male sizes and males mobility in the field

Manually 77 adult males of *S. aloeus* were collected in field-planted palms by means of the dissection of galleries in the palms. The insects were discriminated



subjectively in 4 size categories: smaller (30-35 mm, without horns well developed), medium (35-40 mm, with three small horns developed), big (45-50 mm, with three medium horns developed) and bigger (50mm, with three horns well developed). Later on, they were liberated individually in the base of paths in the lots 34 and 38 with the purpose of to determine the mobility of the individuals and to settle down if the mobility were related with the male sizes. 77 Insects were liberated, 47 adult males in the lot 34 and 30 in the lot 38. Insect recollection of liberated specimens began in the lot 34 after 30 days, and 20 days for lot 38. A detergent solution was applied to the interior of the galleries to get insects and, in some cases the galleries were dug to take out the males.

2.4. Behavior of *S. aloeus* adults under conditions laboratory

2.4.1. Determination of the activity period

S. aloeus adults of both sexes were extracted manually of galleries and palm stems in decomposition. Two groups of 8 females and 8 males were selected, without apparent malformations, neither amputations and they were placed in plastic cages individually. They were covered with a metallic mesh to avoid that insects escaped. The cages contained 5 cm of soil in the bottom to allow the adults to be buried in the soil. As food a piece of palm stem was placed. The insects remained under conditions of 29°C (\pm 2°C) of temperature and 70 to 80% of relative humidity. Observations were made between the 17:30 and 22:00 hours, and among the 22:00 - 6:00 for a period of 10 minutes every night. Observations ere made during five serial nights in each group. Three activity parameters were evaluated: movement of the insect (displacements inside the cage), fly or flight intent. To avoid perturbing the insects during the observations a lantern of red light was used, that is invisible to the insects.



2.4.2. Activity period of non-mated and mated females

Activity rhythms among two groups of 7 non-mated females and 7 mated females were recorded in two evaluations. Insects remained under the same conditions of the point 2.4.1. Observations were carried out during four serial nights among 22:00 and 06:00. Three activity parameters were evaluated: insect movement (displacements inside the cage), fly or flight intent, and feeding.

2.5. Shape of the galleries

In laboratory, 4 nursery palms (1 year old) were planted in metallic tanks with capacity for 55 gallons to which was adapted three floodgates with transparent glasses to observe the shape of the gallery (simple or branched), the presence of a nuptial camera and damage caused by the insect. In the base of each palm was placed a male or a female. This assay was repeated three times. In field the shape of 9 galleries and the inclination angle of 61 galleries were recorded in oil palms (3 year-old).

To determine the opening-sex gallery, field-collected males and females were placed into the base of 20 nursery oil palms (1-2 years old) planted separated 7 and 5 m to each other respectively. For the assay a wire circular cage of 12-diameter cm x 12-high cm was added to prevent beetles from escaping. The assay consisted of preparing and observing behavior of 10 females and 10 males placed singly in the cages during a period of 10 days. Each insect was observed every night until it escaped or died.

2.6. Reproductive behavior of males

8 nursery oil palms were planted singly (1 year-old) in plastic recipients of 5 gallons of capacity to observe behavior of males. Each recipient was recovered with a metallic mesh cylinder of 8-diameter cm to prevent beetles from escaping.



The palms remained in the laboratory during 15 days to ambient temperature ($29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) and normal conditions photoperiod. A male was liberated in the base of each palm. Observations were recorded during 10 minutes every hour from 02:00 to 06:00 h. In the field, behavior of males was recorded in 26 oil palms (2 year-old) with recent attacked and located toward the border of the lot.

2.6.1. Signaling behavior of male in laboratory

Additional observations were recorded on 10 males in the INRA laboratory (Versailles, France). Five weeks after insect photoperiod was changed, it was recorded their behavior. Each male was placed in a plastic sheet box of 40x20x4 cm, with angles of aluminum of 1-wide cm. Boxes contained soil and clay (6:1) and a piece of sugar cane. Males were fed with an aqueous solution of sugar before the assay.

Male behavior were recorded over 4 continuous days, from the beginning to the end of escotofase period (night activity of the insects); Observation frequency was of half-hour beginning the escotofase and every 15 minutes when activity males began until it finished. A red-light lantern was used (not visible for the insects) to avoid to perturb them. Activity index average during the escotofase was obtained from the average of the observations recorded.

2.7. Male aggression towards other males

In the laboratory is frequent observe male fights into the cages. To confirm this behavior it was designed the following assay: 8 oil palms (> 1-year old) were planted in plastic recipients of 5-gallons capacity. Males were kept under ambient temperature ($29^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$). A male was liberated (male-resident) in the base of each palm, 15 days later, after the gallery was elaborated, another male (male-



intruder) was liberated in the entrance of each gallery. Male-intruder was marked in one of the elytrons to avoid confusion. Behavioral observations were registered.

2.8. Olfactometry tests in laboratory

2.8.1. Non-mated females test attraction toward males in signaling behavior.

An olfactometer of double fosse was used to test 22 females. Recipients of 4-liter capacity with soil + male as bait and recipients with only soil were used as control. After 4 days some males adopted signaling behavior in dawn-hours.

2.8.2. Male attraction test toward males in signaling behavior

An olfactometer of double fosse was used to test 80 males whose phenologic states were ignored. Recipients of 4-liter capacity with soil + male as bait and empty recipients were used as control.

3. RESULTS

3.1. Natural distribution and incidence of *Strategus aloeus* in oil palm

Damage percentages in evaluated lots were registered in table 1. Percentage damage shows a tendency to increase when the interval of time between census of the galleries is longer.



Table 1. Damage percentage in evaluated lot at different time intervals

LOT NO.	CENSUS TIME (DAYS)	TOTAL PALMS	AFFECTED PALMS	DAMAGE %
34	20	**	101	**
37	32	2341	223	9.5
38	20	3306	307	9.3
39	12	5326	105	1.9

Table 2. *S. aloeus* adults spatial distribution in oil palm lots.

Lot	Dispersion Index	χ^2 P < 0.0001	G.L.	Distribution Patron
10	2.92	107.9	37	
38	3.92	227.5	58	
34	1.63	78.2	48	
37	4.69	211.0	45	
39	1.19	85.5	72	

3.2. Sexes-relationship of *S. aloeus*

A total of 111 females (16%) and 564 males (84%) were collected over a period of 2.5 months. It was found a sex relationship of 1:5 respectively. Generally, females accompanied males, only once were found two females alone. Males in their majority cases were alone. There were found among 1 to 4 galleries for palm. In occasions abandoned galleries could be found. In eradicated palm stems were registered 13 eggs, 221 immature stages in their majority of third instar larval, 10 pustules and 14 females and one male.

3.3. Proportion of male sizes and males mobility in the field

The most abundant male proportion sizes were medium male 42.8% (33) and big male 31.1% (24), while the proportion of bigger male or smaller male individuals were only of 12.9% (10) in both cases.



In lot 34 were recaptured 34% of males marked and liberated (table 3).

Table 3. *Strategus aloeus* male recaptured percentage of different sizes in lot 34.

Size	No. Marked males	Recaptured males	% Recaptured males
Bigger	5	1	20
Big	16	6	37.5
Medium	20	6	30
Smaller	6	3	50

3.4. Behavior of *S. aloeus* adults under conditions laboratory

3.4.1. Determination of the activity period

Activity begin at the 01:00 h being observed an activity pick between the 03:00 and 06:00 h, later on it began to decrease and it finished to the dawn at the 06:00 h. During this period, the females were always more active than the males, those which apparently don't enter in activity at the same time that the females (Fig. 1). However, these variations can be bound to the physiologic state of the adults and the captivity to that they were subjected. It was observed that males revealed a particular signaling behavior.

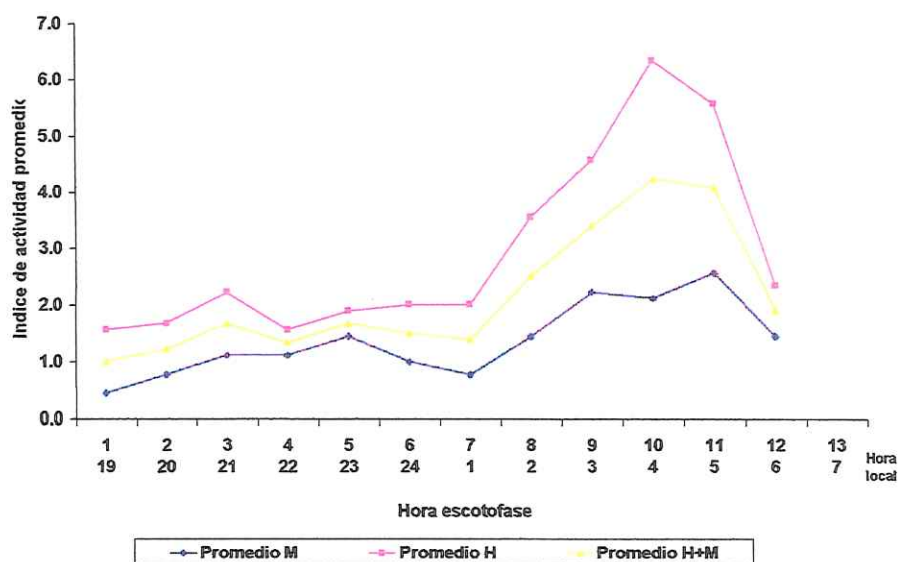


Figure 1. Nocturnal activity of *Strategus aloeus* adultos. Group 1. N= 8 males and 8 females)

3.4.2. Activity period of non-mated and mated females

Both phenological states mated and non-mated females move with more frequency among 02:00 and the 06:00 h with a maximum activity among 03:00 and the 05:00 h. Nevertheless, mated females make it more frequently (41%) than non-mated females (9.6%). Mated females feed with more frequency (33%) between the 22:00 and the 03:00 h than non-mated females which at any moment they fed more than 6% of the evaluated females.

3.5. Shape of the galleries

In laboratory, adults liberated in the tanks of floodgates confirmed the results obtained with the previous assays. In all cases, males elaborated galleries of



permanent room, while none of the females survived but of 6 days, time in which they didn't dig a tunnel.

In field, palms presented between 1 and 4 perforations in the plate it fences to the stem. In examined palms each perforated hole corresponded to an independent gallery, possibly perforated by a different adult in each case and doesn't unite only camera with several entrances. The longitude of the galleries varied between 25 and 160-depth cm. A typical pattern of design didn't settle down and it was no observed the presence of a nuptial camera. Of 61 dug galleries in 98.3% of the cases the galleries presented an angle of inclination $> 60^\circ$ among the 20 to 30 cm of journey initial with regard to the surface. Whenever there was damage in the radical bulb of the palm. The gallery open up in immediately low two branches the surface of the floor, one that arrived until the bulb and another that went down to soil.

Additional observations: Palms with galleries of 5 and 10 days of having dug didn't present lateral perforation neither damages in the radical bulb, although in some cases the adult was in the bottom of the gallery. On the contrary, the palms with galleries of more than 10 days of having dug presented lateral perforation toward the bulb radicular and the consequent damages. In these palms, the perforation of the bulb due to the feeding of the adults can measure until of 7 cm. On observations carried out on 6 males it was found that 9 days after the perforation of the gallery, 4 had begun attacks to the radical bulb of the palms. 15 days later the palms were dissected and it was determined that 50% presented attacks that committed the meristematic area, while the other 50% presented severe attacks that didn't even arrive to the meristem.

In the 20 nursery oil palms (1-2 year-old) were recorded that insects placed in the base of the palms were to be buried looking for refuge. None of the females built a



gallery and they always tried to escape or they died, when concluding the rehearsal they had gotten lost 70% of these. On the contrary, 7 of the 15 males made several perforation intents and in some cases they elaborated a gallery, when concluding the assay, 25% of the males had escaped.

3.6. Reproductive behavior of males

Males presented the signaling behavior both field (Fig. 2) and laboratory. However, not always oneself male exposed the abdomen every day in a serial way. Signaling behavior began toward the 02:00 h and they reached maximum activity between the 3:00 and 6:00 h.

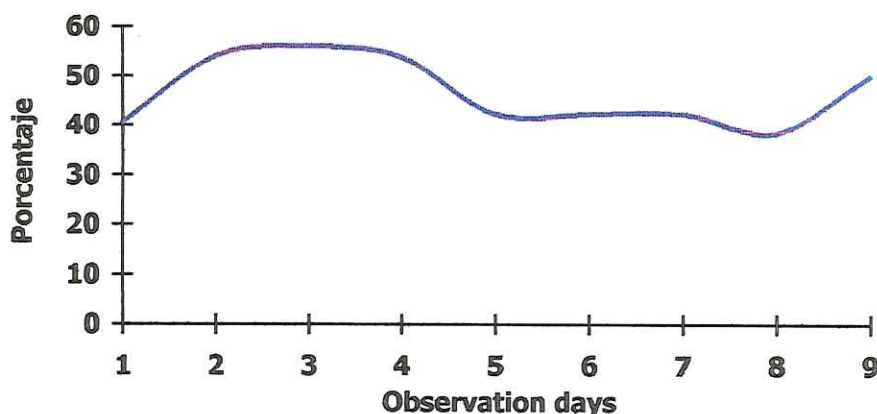


Figure 2. Signaling behavior of males on the field

3.6.1. Signaling behavior of male in laboratory

Males remained in the bottom of the galleries until after the second hour of beginning the period of the escotofase. The activity increased the 05:45 h when the males guide the head toward the exterior of the gallery and they leave to the surface of the gallery, this period can last from 15 minutes up to 2 hours. Later on,



between the 06:15 and 11:45 h of the escotofase, males assume signaling behavior. It consists on to guide the head toward the interior of the gallery and to only expose the pigidium, being sustained with the tarsomers and metatoraxic fingernails. During this period that could last 4 hours or more, males contract the abdomen rhythmically and they emit a strong scent. Maximum activity was between the tenth and eleventh hour of the escotofase. Finally, toward the 11:45 h males do guide the head again toward the exterior of the gallery they remain from few up to 30 minutes and finally they go to the bottom of the gallery (Fig.3).

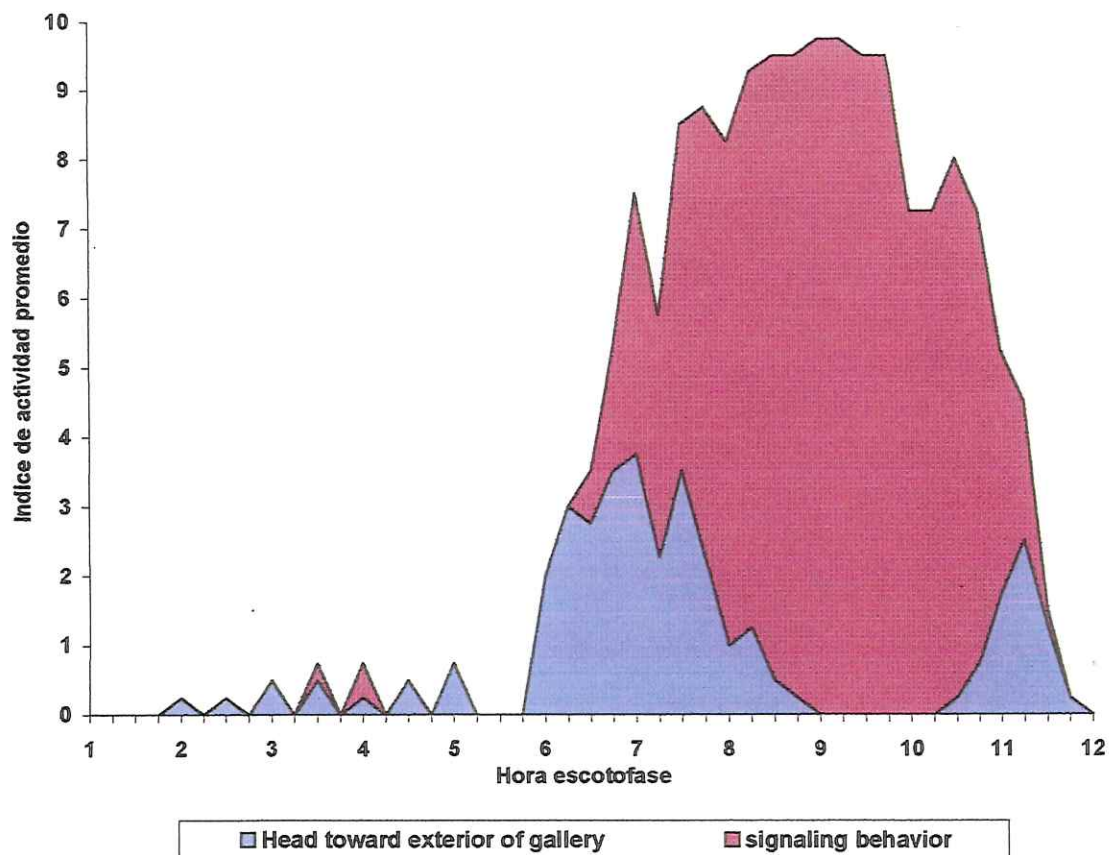


Figure 3. Nocturnal activity behavior of *S. aloeus*



3.7. Male aggression towards other males

The males in dispute are pushed using the prothoracic tubers mutually while stridulate in an aggressive way, until one of them is displaced by the other and retires. When fighting males are of different size, the biggest wins the fight and displace the other one without caring if it was the male-resident. When males are of similar size, the fight becomes more intense and lingering. Males when are defending their gallery, the male-resident stridulate aggressively with the purpose of discouraging the male-intruder, then fight with the male-intruder using the prothoracic horns while it pushes strongly leaning mainly in the later paws.

3.8. Olfactometry tests in laboratory

3.8.1. Non-mated females test attraction toward males in signaling behavior.

Of the 22 evaluated females, 4 were discarded to present disordered behaviors and 14 (77%) they responded positively to the stimulus.

3.8.2. Male attraction test toward males in signaling behavior

26 males responded positively (36.7%), however 63.3% didn't respond or they were eliminated to present disordered behaviors.

3.9. Traps

To test attraction to males on the field a trap was designed to capture adults. Two plastic recipients compose it, a big plate of approximately 50-cm of diameter and 15- cm of depth and a jar of 15-cm of diameter and 30-cm of height. The bottomless accent jar and the big plate to which was retired a similar area of the



jar were joined with wire and silicone. The jar has holes until the half that allows the flow the air. Trap is buried until the border of the big plate is at level of the soil and soil is added into the jar until it gets the soil level. Pheromone is placed in the cover of the jar assured with wire, in the case of the males they are placed with food and into the jar and covered (Fig. 4A). Traps have a central hole that is in contact with the floor and it allows the installed males to build the galleries to any depth without they can escape. After installing the trap water is added in the big plate to avoid attracted insects escape (Fig. 4B).

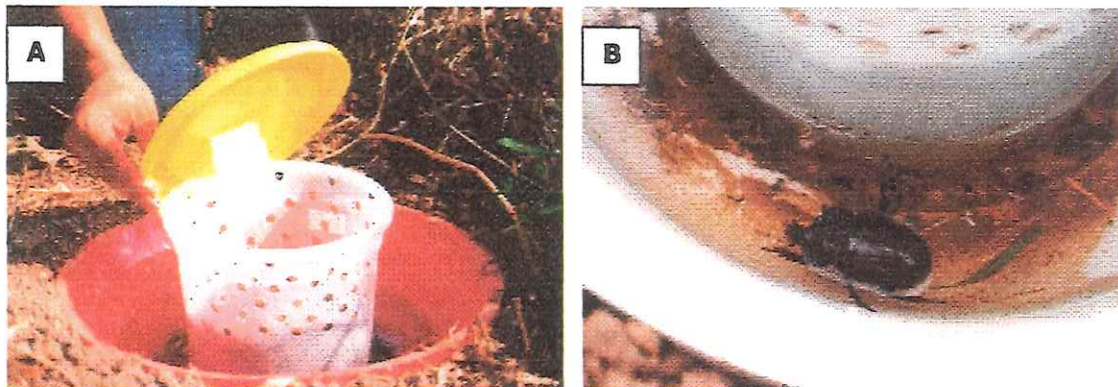


Figure 4. Trap to catch *S. aloeus* adults. A. General view of the trap. B. Detail of the trap.



REFERENCES

- COUTURIER, G. TANCHIVA, E., INGA H., VÁSQUEZ J., RIVA, R. 1996. Notas sobre los artrópodos que viven en el pijuayo (*Bactris gasipaes* H:B:K.: Palmae) en la Amazonía Peruana. Rev. Per. Ent. 39: 135-142.
- GRIES, G., GRIES, R., PEREZ, A. L. OEHLISCHLAGER, A. C., GONZALEZ, L. M. PIERCE JR. H. D., ZEBEYOU, M., KOUAME, B. 1994. Aggregation pheromone of the African Rhinoceros Beetles, *Oryctes monoceros* (Olivier) (Coleoptera: Scarabaeidae). Z. Naturforsch. 49c, 363-366.
- HALLET, R. A. PEREZ, A. L. GRIES, G., GRIES, R., PIERCE JR. H. D., YUE, J., OEHLISCHLAGER, A. C., GONZALEZ, L., BORDEN, J. H. 1995. Aggregation pheromone of the coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae). J. Chem. Ecol. 21, 1549-1570
- LOURENCAO A.D., TEIXEIRA E. P., IDE S., MATTHES L. A. 1999. O Genero *Stratigus* Hope, 1837 como praga de Arecaceae, com especial referencia a *Stratigus surinamensis hirtus* Sternberg, 1910 (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). Boletín científico No. 41. Instituto Agronómico (IAC) Campinas (SP). 27pp
- MORIN, J. P., ROCHAT, D. MALOSEE, C. LETTERE, M. DESMIER DE CHENON, R. WIBWO, H. DESCOINS, C. 1996. Ethyl 4-methyloctanoate, major component of *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae) pheromone. C. R. Acad. Sci. Paris. Sciences de la vie. 319, 595-602.
- PRIOR, R., J.P. MORIN, D. ROCHAT, L. VEAUDOIN-OLLIVIER, T. STATHERS, T. KAKUL, S. EMBUPA AND N. NANGUAI. 2000. New aspects of the biology of



the Melanesian rhinoceros beetle *Scapanes australis* (Col., Dynastidae) and evidence for field attraction to males. J. Appl. Ent. 124: 41-50

REYES R., A. Y CRUZ, M.A. 1986. Principales Plagas de la Palma de Aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en América Tropical y su manejo. Conferencia curso de entrenamiento en Palmas Africana dictado por la United Brands. Quepos. Costa Rica.



ANEXO 2

Ensayo soluciones kairomonales 5

Agregar los siguientes compuestos en las cantidades

	JCO	F+1-	F+2-	F+3-	SAID 2
Etol (en ml)	83.5	90.6	89.4	85.2	4.36
Acetato de etilo (en ml)	93.8	101.8	100.4	95.6	178.6
Volumen final de la solución	200	200	200	200	200

Utilización de las soluciones:

6 Tratamientos: JCO, F+1-, F+2-,f+3-, SAID 2, CANA DE AZUCAR

5repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa , + un difusor de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de cana de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a).
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea3, a 100 m de distancia entre sí, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas



ANEXO 3

Ensayo soluciones kairomonales 6

Agregar los siguientes compuestos en las cantidades

	JCO	F-1+	F-2+	F-3+	SAID 3
Etanol (en ml)	83.5	86.8	86.6	84.2	4.36
Acetato de etilo (en ml)	93.8	97.4	97.2	94.4	192.2
Volumen final de la solución	200	200	200	200	200

Utilización de las soluciones:

6 Tratamientos: JCO, F-1+, F-2+, F-3+, SAID 3, CANA DE AZUCAR

5 repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa, + un difusor de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de cana de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a).
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea³, a 100 m de distancia entre si, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas



ANEXO 4.

Ensayo soluciones kairomonales 7

Agregar los siguientes compuestos en las cantidades

	JCO	JCO5	JCO1	JCO-ES	JCO-AL	SAID 4
Etanol (en ml)	83.5	89.6	93.2	8.8	35.4	1.6
Acetato de etilo (en ml)	93.8	100.4	104.8	168.6	142.0	169.5
Volumen final de la solución	200	200	200	200	200	200

Utilización de las soluciones:

6 Tratamientos: JCO, JCO5, JCO1, JCO-ES, JCO-AL, SAID 4, CANA DE AZUCAR

5 repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa , + un difusor de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de caña de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a).
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea3, a 100 m de distancia entre sí, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas



ANEXO 5.

Ensayo soluciones kairomonales 8

Evaluación de la tasa de difusión de la mezcla sintética kairomonal JCO mediante el uso de diferentes tamaños de difusores tipo Agrisense.

- 6 Tratamientos:**
- Difusor Agrisense bolsa 1: 9x8 cm
 - Difusor Agrisense bolsa 2: 4.5x 4 cm
 - Difusor Agrisense bolsa 3: 3x3cm
 - Difusor Agrisense bolsa 4. 4x2 cm
 - Difusor Agrisense bolsa 5: 2x2 cm
 - Testigo caña de azúcar

6 repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa , + un difusor de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de caña de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a) de acuerdo al tratamiento.
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea3, a 100 m de distancia entre sí, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas

Peso de difusores: Los difusores de las kairomonas se pesaran diariamente durante una semana



ANEXO 6.

Ensayo soluciones kairomonales 9

Evaluación de la sinergia entre la mezcla sintética kairomonal JCO y la feromona de agregación de *R. palmarum*

4 Tratamientos: JCO + feromona
JCO5 sin feromona
Caña de azúcar + feromona
Caña de azúcar sin feromona

5 repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa , + un difusor de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de caña de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a) de acuerdo al tratamiento.
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea3, a 100 m de distancia entre sí, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas



ANEXO 7.

Ensayo soluciones kairomonales 10

Evaluación de la sinergia entre la mezcla sintética kairomonal JCO y la feromona de agregación de *Metamasius hemipterus* y *R. palmarum*

- 8 Tratamientos: JCO + feromona de *R. palmarum*
JCO + feromona de *Metamasius hemipterus*
Caña de azúcar + feromona de *Metamasius hemipterus*
Caña de azúcar sin feromona de *R. palmarum*
JCO + feromona de *R. palmarum* y *Metamasius hemipterus*
Caña de azúcar + feromona de *Metamasius hemipterus* y de *R. palmarum*
JCO
Caña de azúcar

6 repeticiones/ tratamiento

- Trampas: Baldes de 20 l con tapa , + un difusor Agrisense de kairomona con 20 ml de la solución, (o 10 mitades de caña de azúcar de 20 cm de largo en remojo en endosulfan 1.5% m.a en dicho tratamiento), + difusor de Rhynchophorol y/o metalure, +400 ml de endosulfan (1.5% m.a) de acuerdo al tratamiento.
- Disposición de las trampas: En el suelo, a la base de la palma o en la palera (según configuración de la plantación), sobre línea3, a 100 m de distancia entre sí, en línea recta.
- Lecturas: 1 lectura cada 3 días con permutación de los tratamientos al azar, cada semana durante 4 semanas

