



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Respuesta conductual de adultos de *Anastrepha ludens* a  
mezclas sintéticas de compuestos presentes en el  
volatiloma de diversos cultivares de manzana (*Malus x  
domestica*)

Tesis que para obtener el título de:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ROJAS ACA YESSICA ZAMIRA

DIRECTOR: ALUJA SCHUNEMAN HOFER MARTÍN  
RAMÓN

CO-DIRECTORA: BARRAN PRIOR ROXANA YVETTE



agosto 2024

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi director de tesis, el **Dr. Martín R. Aluja Schuneman Hofer** y a mi co-directora, la **M. en C. Roxana Yvette Barran Prior**, por permitir unirme a su equipo de trabajo. Reconozco su esfuerzo y dedicación en el diseño y desarrollo de la investigación vinculada a mi tesis y en la revisión de cada una de las versiones que tuvo esta tesis. Agradezco el apoyo académico y económico brindado, sus valiosos aportes, y sobre todo sus palabras de aliento a lo largo de la realización de esta tesis.

A las doctoras Alma Rosa Altúzar Molina y Virna Larissa Guillén Conde por su guía en cada experimento realizado, por su apoyo en la búsqueda de literatura, y por la revisión de esta tesis. Al Dr. Carlos A. Pascacio Villafán por su asesoría experta en los análisis estadísticos y por su apoyo en la redacción de los resultados de estos.

Agradezco al Ing. Agr. Emilio Acosta Velasco y al Ing. Agr. Gabriel A. Hernández Velásquez por el apoyo en las colectas de frutos y suministro de insectos para los bioensayos en túnel de viento realizados. Al Biól. Rafael Ortega Casas, al Biól. Juan Carlos Conde Alarcón y al M.C. Erick J. Enciso Ortiz por su apoyo en la toma de fotografías y el suministro de material de laboratorio requerido a lo largo del presente trabajo.

También agradezco a mis revisores de tesis, la M. en C. Ana Lucía Castillo Meza y al Dr. César Antonio Sandoval Ruiz por su tiempo, aportes esenciales a esta tesis, y su apoyo clave en el proceso de titulación.

Gracias totales a Alejandra Violeta Navarro Márquez y a Nayely Conde Alarcón, asistentes de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, por su apoyo en todos los trámites administrativos realizados antes, durante y después de la realización de este trabajo.

Agradezco al CONAHCyT por el apoyo económico que se me otorgó vía una beca durante el periodo en el que se realizó este trabajo de investigación vinculado al Proyecto FORDECYT-PRONACES No. 848296 "Dilucidar el potencial efecto del

cambio climático en el creciente problema de expansión altitudinal y de hospederos en plagas agrícolas”.

Mi especial agradecimiento al Instituto de Ecología, A.C. por brindarme los laboratorios y equipos necesarios para la realización de los bioensayos en túnel de viento. Así como a todo el personal administrativo por su apoyo constante en cada trámite requerido.

También agradezco a los administrativos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, quienes me apoyaron y guiaron en cada trámite realizado.

## DEDICATORIA

A mi padre **José Luis Rojas**, a mi madre **Socorro Aca**, y a mi hermano **Diego Iván Rojas**. Por ser mi pilar fundamental y fuente de inspiración, por su inquebrantable apoyo, sacrificio y amor incondicional. Gracias por creer en mí, los amo.

A **Alejandra Denisse**, mi cómplice en cada paso, tu presencia en mi vida es fuente de motivación, amor y apoyo. Te amo.

## ÍNDICE

<b>1. LISTA DE FIGURAS Y DIAGRAMAS</b> .....	6
<b>2. RESUMEN</b> .....	7
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	8
3.1 Contexto general del estudio.....	8
3.2 Calentamiento global y su impacto en la distribución geográfica de insectos .....	9
3.3 <i>Anastrepha ludens</i> (Diptera: Tephritidae).....	11
3.4 Búsqueda, localización y elección de frutos hospederos por parte de las Moscas de la Fruta .....	14
3.5 Identificación y análisis de compuestos volátiles con actividad biológica.....	16
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b> .....	20
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	20
5.1 General .....	20
5.2 Específicos .....	21
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	21
6.1 Obtención de insectos .....	21
6.2 Diseño experimental .....	22
6.3 Bioensayos en túneles de viento .....	23
6.4 Análisis estadísticos .....	25
<b>7. RESULTADOS</b> .....	26
7.1 Evaluación del efecto de las mezclas sintéticas sobre la captura de hembras de <i>A. ludens</i> en bioensayos en túneles de viento .....	26
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	28
<b>9. CONCLUSIÓN</b> .....	31
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	32

## 1. LISTA DE FIGURAS Y DIAGRAMAS

### FIGURAS

- Figura 1. *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). a) Morfología de una hembra adulta y b) morfología de un macho adulto. .... 12
- Figura 2. Órgano ovipositor (acúleo) de hembra adulta de *A. ludens*. .... 14
- Figura 3. Medias estimadas de capturas de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento, basadas en GLM con distribución de error cuasibinomial, en función de la concentración de los tratamientos. Estimaciones reconvertidas a escala de proporción. Las barras de error indican intervalos de confianza del 95%. Figura realizada de acuerdo con los resultados obtenidos por Barran-Prior (2023). .... 19
- Figura 4. Túneles de viento mostrando el montaje de esferas de poliestireno cubiertas con pegamento sin olor (Stickem®) para capturar a las moscas. En cada túnel se colocaron dos esferas, una contenía la mezcla de los ésteres sintéticos, y la otra el tratamiento control (diclorometano). Las esferas fueron rotadas de manera aleatoria en cada réplica. .... 25
- Figura 5. Medias estimadas de capturas de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento, basadas en GLM con distribución de error binomial, en función de las combinaciones de los compuestos y las concentraciones de las mezclas. Donde B= butil butirato y H= (Z)-3-hexenil acetato. Los números en las etiquetas del tratamiento representan las proporciones de los compuestos en la mezcla, y las letras finales indican la concentración de la mezcla: Baja (B), Media (M), Alta (A). Las barras de error indican intervalos de confianza del 95%. .... 27

### DIAGRAMAS

- [Diagrama 1. Diseño experimental aleatorizado de bioensayos](#) en túnel de viento .....23

### CUADROS

- Cuadro 1. Coeficientes estimados del modelo lineal generalizado (GLM) para la captura de hembras de *Anastrepha ludens* en función de los tratamientos con mezclas sintéticas ..... 26

## 2. RESUMEN

El calentamiento global está generando cambios drásticos en el mundo, alterando patrones climáticos y hábitats naturales. Estos cambios han ocasionado el desplazamiento geográfico de muchas especies, incluidos los insectos, forzándolas a adaptarse a nuevos entornos y hospederos. Tal es el caso de *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), la Mosca Mexicana de la Fruta, quien se está desplazando de zonas tropicales o semitropicales, a regiones templadas y de mayor altitud, donde ya está infestando a la manzana, un fruto que hasta hace poco no atacaba. Puesto que los compuestos orgánicos volátiles (COVs) emitidos por las frutas desempeñan un papel fundamental en el comportamiento de búsqueda y elección de hospederos por parte de las Moscas de la Fruta, recientemente se analizó la respuesta antenal de hembras sexualmente maduras de *A. ludens* al perfil volátil de la manzana, y se lograron identificar algunos compuestos que generaron respuestas electrofisiológicas consistentes en esta especie de mosca. Sin embargo, cuando los compuestos activos se expusieron de manera individual en bioensayos de doble elección en túnel de viento, no se encontró un efecto estadísticamente significativo de ninguno de los compuestos en la captura de moscas. Con base en la información anterior y como continuación a lo reportado por Barran-Prior (2023), en el presente trabajo se analizó la respuesta conductual de hembras adultas de *A. ludens* a mezclas sintéticas que contenían diferentes proporciones y concentraciones de dos de los compuestos activos reportados por esta autora (butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato), para determinar si la sinergia entre los componentes potenciaba las respuestas conductuales ya observadas en la Mosca Mexicana de la Fruta cuando estos volátiles se presentaron de manera individual. Los resultados de este estudio no mostraron un efecto estadísticamente significativo de las combinaciones de los compuestos butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato en las concentraciones de las mezclas probadas en la captura de moscas de *A. ludens* en los bioensayos en túneles de viento. Sin embargo, otros factores pudieron influir en las respuestas conductuales no significativas por parte de las moscas, por ejemplo *A. ludens* podría estar percibiendo el aroma de las manzanas como un “todo”, en lugar de una mezcla de compuestos individuales. Este trabajo contribuirá al aún limitado conocimiento que se tiene sobre la ecología química de *A. ludens* y su relación con los volátiles de la manzana. Además, proporciona información valiosa que puede impulsar la realización de nuevos estudios enfocados en la respuesta conductual de *A. ludens* a estos ésteres y otros compuestos volátiles relevantes.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1 Contexto general del estudio

El calentamiento global está generando muchos cambios en el planeta tierra, varios aún imperceptibles o poco comprendidos (Bozinovic & Cavieres, 2019). Por ejemplo, en el caso de los insectos, el incremento de la temperatura ambiental genera cambios en los procesos moleculares de percepción de olores, particularmente en las proteínas de unión a olores (odorant-binding proteins, OBPs en inglés), los receptores olfativos (olfactory receptors, ORs en inglés) y las enzimas de degradación de olores (odorant degrading enzymes, ODEs en inglés) (Sánchez-Gracia, 2005; Díaz-Fleischer & Castrejón-Gómez, 2012) esto debido a que la temperatura modifica las concentraciones de los compuestos volátiles que conforman el aroma emitido por las plantas, y puede afectar la cinética de las reacciones químicas involucradas en la percepción de olores (Zeyner & Tichy, 2000; Riverón et al., 2009). En esta tesis el modelo de estudio fue la mosca mexicana de la fruta, *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae), un insecto que, probablemente debido al aumento de la temperatura ambiental, se está desplazando de zonas tropicales o semitropicales donde se cultivan cítricos y mangos, a zonas templadas donde se cultivan manzanas (Aluja et al., 2014). En tiempos recientes, se ha documentado la infestación de manzanas por esta especie de Mosca de la Fruta en Nuevo León e Hidalgo (M. Aluja, información no publicada), algo inédito y que indica que la plaga no solo está ampliando su rango de distribución invadiendo zonas templadas, sino que también está ampliando su rango de hospederos, en este caso la manzana, *Malus domestica* Borkh. (anteriormente *Pyrus malus* L.). Esto implica que las/los productores de manzana del país, entre ellos los de Puebla, tendrán que lidiar con una nueva plaga que no conocían y que complicará el manejo de los huertos ya que, hasta ahora, la única especie de mosca de la fruta reportada atacando a las manzanas en México era *Rhagoletis pomonella* (Walsh) la “mosca de las manzanas”, importante plaga de este frutal en los EUA (Rull et al., 2010; Yee et al., 2012; Wakie et al., 2019).

Por lo anterior, en este trabajo se abordó una pregunta vinculada al fenómeno que se está observando en la naturaleza. Es decir, si *A. ludens* ya está atacando a las manzanas en huertos comerciales, ¿está reconociendo los olores de este nuevo fruto hospedero? Basado en un estudio reciente (Barran-Prior, 2023), en el cual se demostró que hembras sexualmente maduras de *A. ludens* exhiben respuestas positivas a ciertos volátiles individuales de la manzana en pruebas electroantenográficas y en túneles de viento, en donde se estudió la respuesta de hembras de *A. ludens* sexualmente maduras a combinaciones de volátiles de manzanas usando bioensayos en túnel de viento. Lo anterior, debido a que en la naturaleza las moscas no están expuestas a volátiles individuales, sino a un “bouquet” complejo de diversos componentes volátiles (Aluja et al., 2020). Aquí se probaron mezclas de dos compuestos volátiles en particular que ya demostraron actividad biológica en pruebas de electroantenografía y bioensayos en túneles de viento (Barran-Prior, 2023) aplicando la herramienta de modelaje de “superficie de respuesta” para identificar las proporciones óptimas de los compuestos en la mezcla y la concentración más eficaz de esta (Anderson & Whitcomb, 2005). Esta información, podría ser potencialmente útil para las/los productores de manzanas ya que se podrían desarrollar trampas cebadas con algunos volátiles de manzana para el monitoreo y manejo de *A. ludens* en el campo. Sin embargo, este posible desarrollo tecnológico está fuera del alcance de esta tesis.

### **3.2 El calentamiento global y su impacto en la distribución geográfica de insectos**

El calentamiento global es el mayor desafío ambiental al que se enfrenta el planeta en la actualidad (Duarte et al., 2006). Se ha producido principalmente por la acumulación progresiva de gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), el metano (CH<sub>4</sub>), el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), y los gases fluorados en la atmósfera debido a actividades humanas, dando lugar a variaciones significativas en los componentes del clima, particularmente en la temperatura (IPCC, 2007; Bozinovic & Cavieres, 2019). De acuerdo con el grupo intergubernamental de expertos sobre

el Cambio Climático de las Naciones Unidas (IPCC por sus siglas en inglés) desde la época preindustrial (años 70s) la temperatura global ha aumentado aproximadamente 1.0°C con un rango de 0.8°C a 1.2°C (IPCC, 2018) y se prevé un incremento de 1.4 a 5.8°C durante el próximo siglo (Pachauri & Reisinger, 2007). Como consecuencia de estas alteraciones climáticas, la distribución geográfica y la abundancia de determinados organismos en la naturaleza se han visto gravemente afectadas (Field & Barros, 2014).

Uno de los organismos más vulnerables ante el calentamiento global son los insectos (Bale et al., 2002). Los insectos son animales poiquilotérmicos (también llamados ectotérmicos), es decir, no producen su propio calor, y dependen de fuentes externas para regular su temperatura corporal (Skendžić et al., 2021). El incremento de la temperatura ambiental afecta directamente la reproducción, supervivencia, dinámica poblacional, y desplazamiento geográfico de los insectos (Bale et al, 2002). Bajo este último contexto, la propagación de especies a regiones fuera de su área de distribución original proporciona oportunidades para que los insectos exploren nuevos recursos (FAO, 2020). Además, estos insectos irruptores podrían desplazar y/o depredar a las especies nativas, reduciendo así la biodiversidad de un área determinada y causando importantes desequilibrios ecológicos (Comité Asesor Nacional sobre Especies Invasoras, 2010; Bellard et al., 2016; CONABIO, 2023). Hoy en día, el calentamiento global y su influencia en el comportamiento y distribución de los insectos representa una amenaza para diversos ecosistemas en todo el mundo, impactando particularmente la productividad de por ejemplo los ecosistemas agrícolas (Skendžić et al., 2021).

A lo largo del tiempo, se ha reportado que plagas agrícolas como el picudo del chile *Anthonomus eugenii* (Cano) (Coleoptera: Curculionidae) (Garza-Urbina, 2001), el pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) (SENASICA, 2019a), la cochinilla rosada del hibisco *Maconelicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) (SENASICA, 2013) y *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Liviidae) (SENASICA, 2019b) se han desplazado de sus zonas geográficas habituales como respuesta al incremento de la temperatura

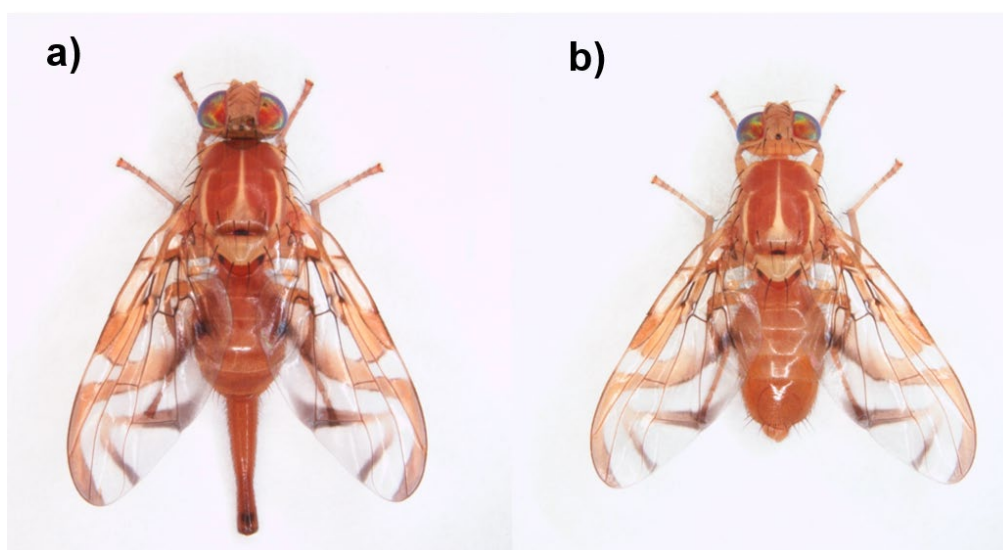
global. En todos los casos, el establecimiento de estas especies en nuevas áreas ha sido determinada, en gran medida, por la disponibilidad de plantas hospederas adecuadas (Skendžić et al., 2021).

Como se indicó en la primera sección de esta introducción, en años recientes, este fenómeno de expansión del área de distribución como posible consecuencia del calentamiento global también se ha detectado en *Anastrepha ludens* (Aluja et al., 2019, datos no publicados), un insecto plaga de zonas tropicales nativo de la Sierra Madre Oriental, al noreste de México (Birke et al., 2013). De acuerdo con observaciones de campo, esta especie de mosca de la fruta, que tendía a distribuirse en zonas cálidas o semicálidas (con altitudes no mayores a los 1000 m s.n.m.), está desplazándose hacia regiones templadas y de mayor altitud (hasta 1800 – 2000 m s.n.m.) donde está empezando a atacar a la manzana (*Malus × domestica* Borkh [Rosaceae]), un frutal que hasta hace poco no estaba reportado como hospedero natural de esta especie de mosca. La presencia de *A. ludens* y sus infestaciones incipientes en frutos de manzana se han registrado en dos importantes entidades manzaneras a nivel nacional, Nuevo León e Hidalgo (M. Aluja, comunicación personal), lo que podría representar para los productores locales (y eventualmente nacionales) un grave problema con impacto económico y social.

### **3.3 *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae)**

*Anastrepha ludens*, la mosca mexicana de la fruta (Figura 1), es una especie plaga cuarentenaria que se distribuye desde México hasta Costa Rica (Birke et al., 2013). Dentro de la República Mexicana, su distribución abarca los estados de: Aguascalientes, Campeche, Chiapas, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán, y Zacatecas, pero las mayores poblaciones se encuentran localizadas en Chiapas y Veracruz (Hernández-Ortiz, 2007). Se trata de un insecto

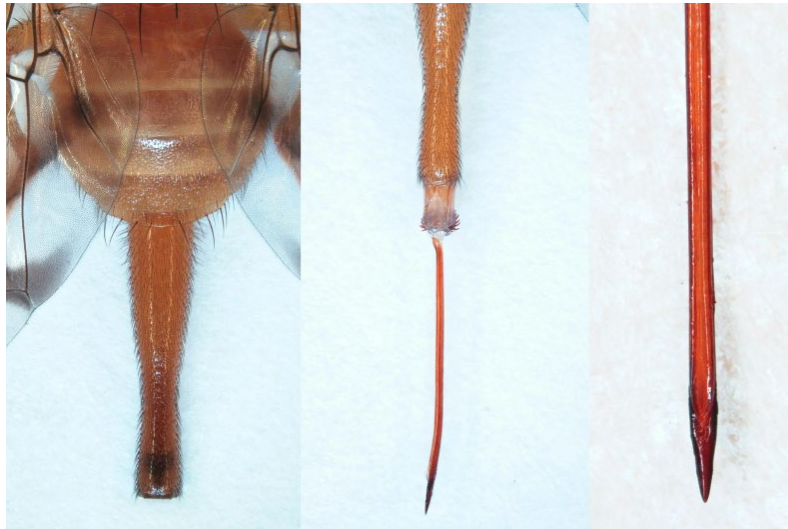
frugívoro altamente polífago (Aluja, 1993) y sus principales hospederos están incluidos en las familias de plantas Rutaceae (cítricos) y Anacardiaceae (mango), aunque también ataca por ejemplo a la granada roja (*Punica granatum* L. [Lythraceae]) y al Chile Manzano (*Capsicum pubescens* Dunal [Solanaceae]) (Thomas, 2004), entre otros frutales (Baker et al., 1944; NOM-075-FITO-1997, 1998; Aluja et al., 2000; Birke & Aluja, 2018). Previo a la manzana, solo una especie perteneciente a la familia Rosaceae (*Prunus persica* L.; durazno) había sido



**Figura 1.** *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). a) Morfología de una hembra adulta y b) morfología de un macho adulto. Fotografías tomadas por Erick J. Enciso Ortíz, INECOL.

reportada como hospedero natural de esta mosca (Leyva et al., 1991). Aunque su rango de hospederos varía de región a región, causa pérdidas principalmente en cítricos (*Citrus* spp. [Rutaceae]) y mango (*Mangifera indica* L. [Anacardiaceae]) (Aluja, 1993). Debido a la amenaza que representa para diversas especies de frutales en México, *A. ludens* está sujeta a control oficial y es manejada por medio del Programa Nacional de Moscas de la Fruta (PNMF), NOM-023-FITO-1995 y 1999 (Grupo Técnico del PNMF, 2017).

El ataque a las frutas por parte de este tefrítido es realizado por las hembras adultas que, con la ayuda de su órgano ovipositor (acúleo) (Figura 2), perforan la cáscara del fruto para depositar (inyectar) sus huevos (Aluja & Mangan, 2008). *Anastrepha ludens* deposita sus huevos en paquetes de cinco o seis por oviposición y las hembras con acceso a recursos ovipositan un promedio de tres paquetes al día (Berrigan et al., 1988; Liedo et al., 1993). Las larvas de esta especie se alimentan de la pulpa de las frutas (salvo en el caso del chapote amarillo, *Casimiroa greggii* S. Watson [Rutaceae], fruto en el que las larvas también se alimentan de las semillas) causando la descomposición de estas y su caída prematura (Aluja, 1993). En su último estadio larval, salen de la fruta podrida, se entierran y pupan en el suelo, de donde 16-19 días después (o más tiempo dependiendo de la temperatura ambiental y del suelo) emergerán los adultos (Baker et al., 1944; Aluja 1993). La dispersión de los adultos se verá influida por parámetros como la humedad relativa, la temperatura ambiental, y la altitud de los ecosistemas, así como por la disponibilidad de frutos hospederos (Aluja, 1993; Liedo & Toledo, 2007). Bajo condiciones climatológicas adversas y escasez de recursos, esta mosca se eleva a las zonas altas de los árboles para aprovechar los vientos dominantes que facilitan su desplazamiento (Aluja, 1993). Por otro lado, la probabilidad del establecimiento de *A. ludens* en áreas libres puede ocurrir cuando se conjuntan condiciones ambientales favorables para su desarrollo y la presencia de hospederos en estado susceptible para ser infestados (Sequeira et al., 2001).



**Figura 2.** Órgano ovipositor (acúleo) de la hembra adulta de *A. ludens*.  
Fotografías tomadas por Erick J. Enciso Ortíz, INECOL.

### **3.4 Búsqueda, localización, y elección de frutos hospederos por parte de las moscas de la fruta**

La búsqueda, localización, y elección de los frutos hospederos por parte de las hembras grávidas (i.e., cargadas de huevos) implican la integración de una secuencia de entradas sensoriales multimodales (Jang & Light, 2020). Las moscas de la fruta utilizan compuestos orgánicos volátiles (de aquí en adelante COVs) emitidos por las plantas hospederas durante el proceso de búsqueda de los frutos (Roitberg, 1985). Los COVs son compuestos que contienen carbono y tienen propiedades físicas como alta presión de vapor y bajo peso molecular, lo que les permite atravesar fácilmente las membranas celulares de la planta y liberarse en el ambiente (Dudareva et al., 2013). Se han determinado más de 1700 COVs de 90 familias de plantas tanto angiospermas como gimnospermas (Knudsen et al., 2006; Dudareva et al., 2013). Al conjunto de estos compuestos liberados por un fruto o la planta completa se le conoce como volatiloма (Tiwari et al., 2020). Dentro del volatiloма de frutos se han identificado diferentes mezclas, particularmente de terpenoides, derivados de ácidos grasos, y compuestos aromáticos (Dobson, 2006). Esta información química volátil es detectada a distancia a través de las antenas y

permite la orientación hacia los sitios de oviposición (Aluja & Prokopy, 1992; Guidobaldi & Guerenstein, 2012). Sobre las antenas se distribuyen estructuras tipo “pelos” inervados llamados sensilas (Guidobaldi & Guerenstein, 2012; Guillén et al., 2023). Los COVs transportados por difusión en el aire llegan a las antenas e ingresan a las sensilas olfativas a través de poros en su pared cuticular (Brito et al., 2016). Estas moléculas de olor, de naturaleza hidrofóbica, son percibidas por las proteínas de unión a olores (OBPs) y transportadas a través de la linfa antenal hasta llegar al correspondiente receptor de olor (OR) situado en la membrana de la dendrita de las neuronas receptoras de olor (en inglés Odour Receptor Neurons-ORNs). La interacción que tienen las moléculas de olor y el receptor de olor causa un potencial de acción que se traslada por el nervio antenal hasta el lóbulo antenal (en inglés Antennal Lobe- AL) en donde se procesa, integra y codifica la información olfativa, lo que resulta en una respuesta conductual (Vosshall & Stocker, 2007; Galizia & Sachse, 2010; Sachse & Krieger, 2011). Una vez que el insecto ha localizado el hábitat mediante el uso de información química volátil de la planta, los estímulos visuales gobiernan la siguiente fase de ubicación del hospedero (Aluja & Prokopy, 1993; Finch & Collier, 2000). El color, el tamaño y la forma del fruto influyen en la elección de los potenciales hospederos larvales (Díaz-Fleischer et al., 1999). Tras posarse sobre el fruto, la evaluación de la superficie implica la quimio-recepción por contacto de compuestos estimulantes y disuasores menos volátiles a través de sus palpos bucales y maxilares (Städler, 1984). Finalmente, la selección o discriminación entre frutos dependerá de los estímulos “positivos” y “negativos” para la hembra grávida (Miller & Strickler, 1984). Además, otros factores como el estado fisiológico de la mosca (e.g., edad, madurez sexual, estado de apareamiento, carga de óvulos), su experiencia sensorial, aprendizaje, y antecedentes genéticos pueden influir en la aceptación de un fruto (Miller & Strickler, 1984; Jones & Davis, 1989; Duan & Prokopy, 1992). Las moscas recién emergidas son atraídas particularmente por olores alimenticios, principalmente olores proteicos, ya que su prioridad es encontrar fuentes de alimento para sobrevivir y completar su desarrollo. Las hembras sexualmente inmaduras también responden principalmente a olores proteicos debido a que la proteína es esencial para

completar su madurez sexual y asegurar el correcto desarrollo de los ovarios en las hembras y de los testículos en los machos. Una vez que han alcanzado la madurez sexual, responderán al olor de la feromona emitida por el sexo opuesto para encontrar pareja y reproducirse. Por otro lado, las hembras sexualmente maduras responden a olores emitidos por sus frutos hospederos para la oviposición (Ibáñez-López & Cruz-López, 2001; García-Ramírez et al., 2004; Díaz-Fleischer & Castrejón-Gómez, 2012).

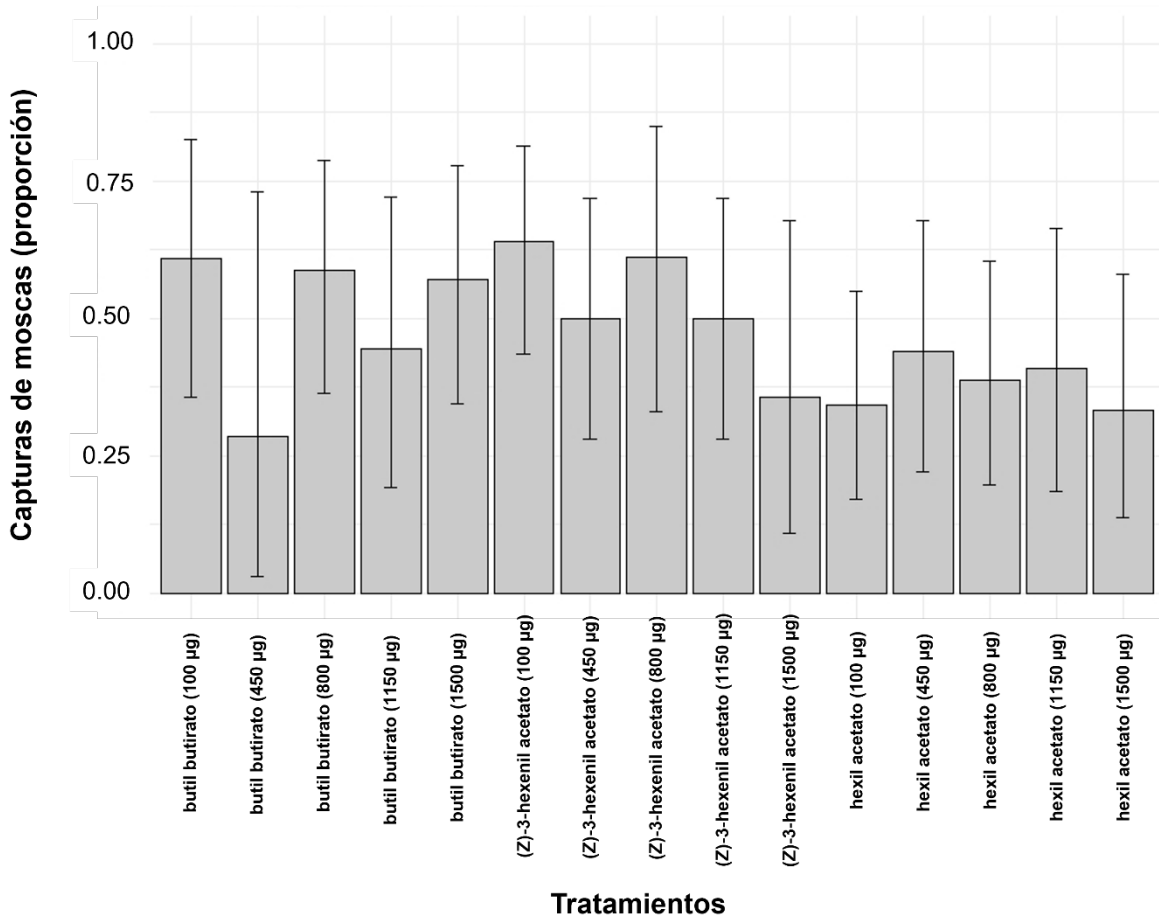
### **3.5 Identificación y análisis de compuestos volátiles con actividad biológica**

La comprensión integral del comportamiento de búsqueda y elección de frutos hospederos de una plaga como *A. ludens*, así como la identificación de estímulos químicos y/o visuales que provocan estos comportamientos, son cruciales para el desarrollo de sistemas de captura efectivos para monitorear y/o controlar sus poblaciones (Díaz-Santiz et al., 2016). El uso de trampas cebadas con compuestos volátiles vegetales es una estrategia de control orientada al manejo biorracional de insectos plaga sin utilizar insecticidas sintéticos (Quilici et al., 2014). Sin embargo, en una mezcla aromática compleja, la identificación de compuestos volátiles que generen respuestas electrofisiológicas no es fácil. Procedimientos analíticos como las técnicas acopladas de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM) y Cromatografía de Gases-Electroantenodetección (CG-EAD), permiten la identificación de compuestos activos presentes en el perfil volátil de las plantas y ayudan a la selección de candidatos para estudios de comportamiento en condiciones de laboratorio o campo (Aluja et al., 1993). Para determinar si los compuestos seleccionados generan respuestas de atracción o aversión, se necesitan bioensayos de comportamiento a través de pruebas olfatométricas. En insectos voladores como las moscas de la fruta, estas pruebas se realizan principalmente en túneles de viento (Cardé, 1984; Aluja et al., 1993). En los túneles de viento se ingresa aire del ambiente dentro del sistema con la ayuda de una bomba de extracción. Previamente, el aire pasa por un filtro (comúnmente carbón activado) que permite la eliminación de olores. En el extremo del túnel donde

ingresa el aire, se colocan los tratamientos de olor, y en el extremo opuesto se liberan los insectos a analizar. El flujo laminar de aire arrastra los tratamientos (i.e., volátiles) desde la fuente de olor hacia el extremo de liberación de los individuos y estos deberán volar a contraviento hacia los tratamientos odoríferos (Howse et al., 2013). Cabe resaltar que, en algunas especies de insectos, como es el caso de las moscas de la fruta, las condiciones ambientales como la humedad relativa, la presión atmosférica, la temperatura, y la intensidad de luz pueden influir en el comportamiento de los individuos mientras se realizan los bioensayos (Cardé & Roelofs, 1973; Royer & McNeil, 1993). Los estímulos odoríferos dentro del túnel de viento pueden ser expuestos de manera individual a concentraciones específicas o se pueden realizar formulaciones y exponer mezclas sintéticas de compuestos con actividad biológica (Quilici et al., 2014). Idealmente, los estímulos de olor deberían conjuntarse con estímulos visuales apropiados (e.g., forma, tamaño, color, contraste de fondo) para proporcionar una combinación sinérgica de estímulos que maximice las respuestas conductuales. Dado que puede haber variaciones en la forma en la que los insectos examinados perciben la información aromática y la traducen en una respuesta conductual, el verdadero reto de estos estudios es identificar las proporciones óptimas de compuestos clave que deben usarse para que la mezcla artificial actúe como un “superestímulo” y pueda competir contra las mezclas volátiles naturales en el campo.

*Anastrepha ludens* ha sido modelo de estudio en el análisis de la respuesta a volátiles de hospederos como: el chapote amarillo, *C. greggii* (Robacker et al., 1992); la naranja agria, *Citrus x aurantium* L. (Rasgado et al., 2009), la guayaba, *Psidium guajava* L. (Malo et al., 2005), el zapote blanco, *Casimiroa edulis* La Llave & Lex (González et al., 2006) entre otros. Debido a sus incipientes apariciones en huertos comerciales de manzana, recientemente se analizó, mediante ensayos de electroantenografía, la respuesta antenal de hembras de *A. ludens* al volatiloma de la manzana (*M. domestica*) (Barran-Prior et al., 2023; datos aún no publicados formalmente), un hospedero potencial de este díptero en escenarios de cambio climático. Específicamente se analizó la respuesta al perfil volátil de tres cultivares que presentan una susceptibilidad diferencial al ataque de *A. ludens*: ‘Golden

Delicious', 'Rayada', y 'Criolla'. Adicionalmente, en ese trabajo se analizó la respuesta antenal de *A. ludens* a ésteres reportados como atrayentes para *R. pomonella*, la mosca de la fruta especializada en infestar manzanas y con la que *A. ludens* podría competir en el futuro por este recurso. De acuerdo con los resultados obtenidos, *A. ludens* responde electroantenográficamente a compuestos específicos presentes en el perfil volátil de este fruto perteneciente a la familia de las Rosáceas. Cuando los compuestos que generaron las mayores respuestas antenales (i.e., hexil acetato, butil butirato, y (Z)-3-hexenil acetato) fueron expuestos de manera individual en bioensayos de doble elección en túnel de viento, usando esferas de poliestireno pintadas y cubiertas de pegamento sin olor, no se encontró un efecto estadísticamente significativo de ninguno de los compuestos en la captura de moscas en comparación con el control negativo (diclorometano). No obstante, a concentraciones de 100 y 800 µg, se logró detectar que dos de los compuestos probados, butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato, lograron capturar una mayor proporción de moscas en comparación con el control (diclorometano). En cambio, el éster hexil acetato no logró capturar una mayor proporción de moscas en comparación con el diclorometano en ninguna de las concentraciones evaluadas (Figura 3). En este punto es importante mencionar que aún no hay estudios conductuales en donde se determine si la respuesta de *A. ludens* se ve maximizada al utilizar mezclas de estos compuestos, específicamente del butil butirato y del (Z)-3-hexenil acetato, en diferentes proporciones y concentraciones. Se ha reportado que en muchos sistemas se requieren mezclas de compuestos derivados de la planta hospedera en lugar de componentes individuales para provocar niveles de respuesta más adecuados en insectos herbívoros (e.g., Carlsson & Hansson, 2003). Además, se ha propuesto que las interacciones sinérgicas entre los componentes de una mezcla de olores contribuyen a la atracción de especies tefrítidas como *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Lasa & Williams, 2022), *Anastrepha* (antes *Toxotrypana*) *curvicauda* (Gerstaecker) (Robledo & Arzuffi, 2004) y *R. pomonella* (Zhang et al., 1999).



**Figura 3.** Medias estimadas de capturas de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento, basadas en GLM con distribución de error cuasibinomial, en función de la concentración de los tratamientos. Estimaciones reconvertidas a escala de proporción. Las barras de error indican intervalos de confianza del 95%. **Figura realizada de acuerdo con los resultados obtenidos por Barran-Prior (2023).**

Basados en toda la información anteriormente expuesta, y como continuación a lo descubierto por Barran-Prior (2023), en el presente trabajo se analizó la respuesta conductual de hembras adultas de *A. ludens* a mezclas sintéticas que contenían diferentes proporciones y concentraciones de los dos compuestos bioactivos reportados por esta autora (butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato), para determinar si la sinergia entre los componentes potencializa las respuestas conductuales ya observadas en la mosca mexicana de la fruta cuando estos volátiles se presentaron de manera individual.

## **4. JUSTIFICACIÓN**

Posiblemente debido al aumento de la temperatura ambiental, *A. ludens*, una plaga agrícola tropical, se está desplazando hacia zonas templadas y ha comenzado a infestar a la manzana, un fruto que hasta hace poco no atacaba, lo cual representa una problemática de alto impacto ambiental, agrícola y económico, y amenaza la producción de manzanas en México, así como la posibilidad de exportar este fruto a otras zonas.

Dado que en la naturaleza las moscas de la fruta no están expuestas a volátiles de manera individual, sino a combinaciones de estos, es de suma importancia la investigación e identificación de combinaciones y concentraciones óptimas de compuestos volátiles emitidas por sus frutos hospederos, en este caso la manzana, que influyen en el comportamiento del insecto. Esto para comprender la interacción biológica entre la especie plaga y su hospedero. Los resultados obtenidos en este trabajo ampliarán el aún escaso conocimiento que se tiene sobre la ecología química de *A. ludens* y su interacción con las manzanas, y aportarán información relevante que podría ayudar a generar nuevos estudios relacionados con la respuesta conductual de *A. ludens* a estos ésteres.

Además, el conocimiento adquirido podría utilizarse para desarrollar estrategias de manejo integrado de plagas, optimizando el uso de atrayentes naturales para el monitoreo y manejo de las poblaciones de moscas en el campo, minimizando así el impacto ambiental.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 General**

Analizar la respuesta conductual de *Anastrepha ludens* a mezclas sintéticas de compuestos presentes en el perfil volátil de diversos cultivares de manzana (*Malus x domestica*).

## 5.2 Específico

Analizar la eficiencia de mezclas sintéticas de los ésteres butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato en diferentes proporciones y concentraciones, en la captura de hembras sexualmente maduras apareadas de *A. ludens*, en bioensayos de doble elección en túneles de viento.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

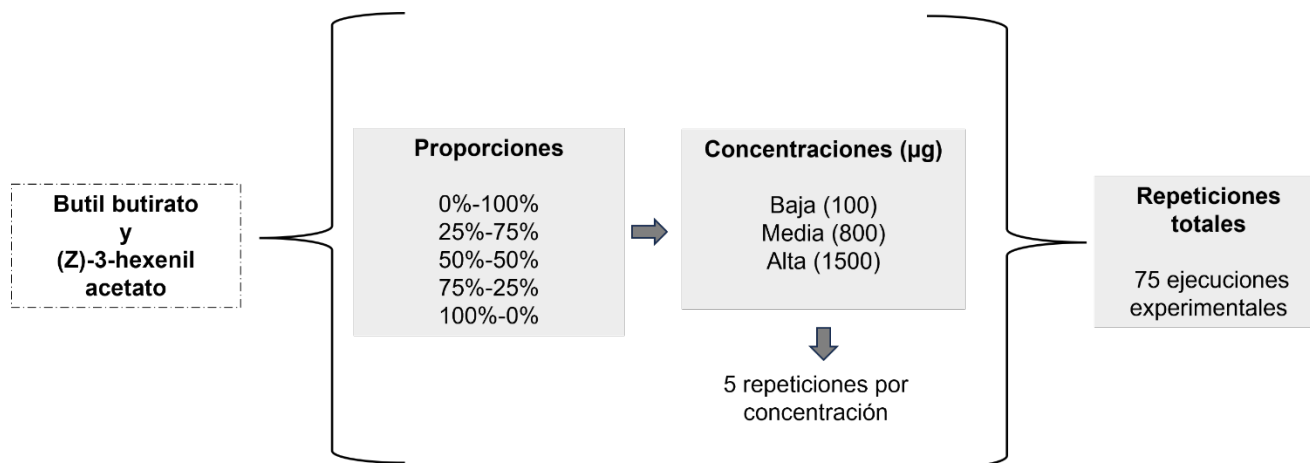
### 6.1 Obtención de insectos

Para la obtención del material biológico se realizaron colectas de frutos infestados de naranja agria (*Citrus x aurantium* L.) en la región de Xalapa, Veracruz, y se llevaron al “Laboratorio de Recepción y Procesamiento de Frutas” del Instituto de Ecología, A. C. para su procesamiento. Los frutos infestados se colocaron en cestas de plástico sobre rejillas con vermiculita como sustrato para simular el medio de pupación. Las pupas fueron extraídas y posteriormente colocadas en recipientes de plástico de 250 mL con vermiculita en el fondo. Se humidificaron cada tercer día con un atomizador con agua esterilizada hasta su emergencia. Una vez alcanzada su madurez sexual, las moscas adultas fueron expuestas a frutos de Toronja 'Marsh' (*Citrus x paradisi* Macfad) para continuar/multiplicar la colonia de *A. ludens* de la cual provinieron todas las hembras utilizadas en los bioensayos en túnel de viento. Las moscas recién emergidas se colocaron en jaulas de plexiglás (30 × 30 × 30 cm) y se alimentaron *ad libitum* con una dieta artificial constituida por una mezcla de proteína hidrolizada y sacarosa (1:3), suministrándose además agua purificada en un recipiente de plástico de 150 mL a través de algodón o fieltro empapado. Los adultos se mantuvieron en condiciones controladas de laboratorio con un fotoperiodo de 12:12 h L:O hasta su utilización. Se utilizaron grupos de 25 hembras sexualmente maduras apareadas (de entre 12 y 20 días de edad) para los bioensayos de comportamiento en túneles de viento.

## 6.2 Diseño experimental

Se diseñó un experimento aleatorizado usando el software Design-Expert® 10 (StatEase Inc., Minneapolis, MN). El experimento consistió en cinco combinaciones de los compuestos butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato en proporciones: 0%-100%; 25%-75%, 50%-50%, 75%-25%, y 100%-0% expuestas a concentraciones de 100 µg (baja), 800 µg (media), y 1500 µg (alta), con cinco repeticiones, para un total de 75 ejecuciones experimentales (Diagrama 1). Las variables explicativas fueron: un experimento de mezcla-cantidad que incluyó dos componentes en la mezcla: butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato, y un factor numérico: la concentración de las mezclas, evaluada en tres niveles: alta, media, y baja. La variable de respuesta fue la cantidad de moscas capturadas, medida como la proporción de moscas adheridas a las esferas pegajosas que contenían las mezclas de los ésteres, en relación con la proporción de moscas capturadas en las esferas control. Se ajustó un modelo de superficie de respuesta para evaluar el efecto de las diferentes mezclas en la captura de hembras sexualmente maduras de *A. ludens*. La selección del modelo se basó en: (i) un modelo secuencial de suma de cuadrados para evaluar si la adición de nuevos términos mejoraba el poder explicativo del modelo, (ii) una prueba de falta de ajuste, y (iii) valores  $R^2$  ajustados y predichos para evaluar la calidad del ajuste del modelo a los datos experimentales (Anderson & Whitcomb, 2005).

**Diagrama 1.** Diseño experimental aleatorizado de bioensayos en túnel de viento



### 6.3 Bioensayos en túneles de viento

Se analizó la respuesta conductual de hembras adultas de *A. ludens* a mezclas sintéticas que contenían diferentes proporciones y concentraciones de los ésteres sintéticos: butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato. Para ello, se utilizaron túneles de viento de plexiglás ( $1.29 \times 0.41 \times 0.40$  m) en forma rectangular (Figura 4). El aire, aspirado por una bomba de extracción, entró por un extremo del túnel y pasó a través de un filtro con carbón activado que permitió la eliminación de olores. Enseguida, el aire limpio arrastró los tratamientos odoríficos desde la fuente de olor hacia el extremo opuesto del túnel, donde se liberó un grupo de 25 hembras por tratamiento. Cada grupo fue considerado como una repetición y se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. Previo a los bioensayos, las hembras adultas se colocaron en jaulas de plexiglás ( $30 \times 30 \times 30$  cm) 18 h antes de la prueba. A las jaulas se les suministró agua, pero no comida. En los días de prueba, las moscas fueron transferidas a un recipiente de plástico ( $6 \times 8$  cm, cilindro de liberación) con una tapa de malla. Se les permitió aclimatarse a las condiciones ambientales del túnel de viento durante al menos una hora antes de someterlas al ensayo ( $27 \pm 2$  °C,  $69 \pm 4$  % HR, intensidad de luz en el túnel derecho:  $424 \pm 37.23$  (2000) lux, intensidad de luz en el túnel izquierdo:  $424 \pm 47.47$  (2000) lux). Posteriormente, las moscas fueron expuestas a pruebas de dos opciones utilizando esferas de poliestireno (5 cm de diámetro) pintadas con pintura acrílica vinílica a base de agua (Malo et al., 2005) (de acuerdo con los valores colorimétricos obtenidos a partir del muestreo del cultivar 'Golden Delicious':  $L^* = 65.79 \pm 0.98$ ,  $a^* = -4.59 \pm 1.27$ ,  $b^* = 43.14 \pm 2.03$ ) para simular el color, la forma, y el tamaño de la manzana 'Golden Delicious', el cultivar que más se infesta en campo (M. Aluja, datos no publicados). Además, cada esfera fue cubierta con pegamento sin olor (Stickem®) para analizar el número de hembras capturadas (adheridas) tras 24 h de exposición al olor (Robacker & Rodriguez, 2004). Una de las esferas fue cebada con la mezcla de los ésteres sintéticos, y la otra con diclorometano, el compuesto control. Se pipetearon alícuotas de 100  $\mu$ L de las concentraciones (100, 800 y 1500  $\mu$ g) de las mezclas sintéticas de los ésteres (en proporciones de 0%-100%; 25%-75%, 50%-50%, 75%-25%, y 100%-0%) y del tratamiento control en un trozo de papel filtro. A

continuación, el papel filtro fue introducido en una septa de plástico (1.5 cm de diámetro) ubicada en la zona centro de la esfera. Las esferas fueron colocadas a 12 cm de distancia en la sección de entrada del viento en el túnel. Las moscas fueron utilizadas una sola vez.



**Figura 4.** Túneles de viento mostrando el montaje de esferas de poliestireno cubiertas con pegamento sin olor (Stickem®) para capturar a las moscas. En cada túnel se colocaron dos esferas, una contenía la mezcla de los ésteres sintéticos, y la otra el tratamiento control (diclorometano). Las esferas fueron rotadas de manera aleatoria en cada réplica.

#### 6.4 Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto de las mezclas sintéticas sobre la captura de moscas de *A. ludens* en los bioensayos en túneles de viento, se realizó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución de error binomial. La variable de respuesta fue la proporción de moscas capturadas en las esferas que contenían las mezclas, en

relación con las esferas control. Las variables explicativas fueron: i) las combinaciones definidas por las proporciones de butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato y ii) las concentraciones evaluadas en tres niveles (baja, media y alta). El modelo GLM binomial fue ajustado utilizando la función 'glm' del software RStudio (R Core Team, 2023) especificando la familia binomial y la función de enlace 'logit'. Para evaluar la significancia global del modelo, se utilizó un análisis de devianza (ANOVA) con prueba de  $\chi^2$ . La adecuación del modelo fue evaluada mediante la inspección visual de los residuales.

## 7. RESULTADOS

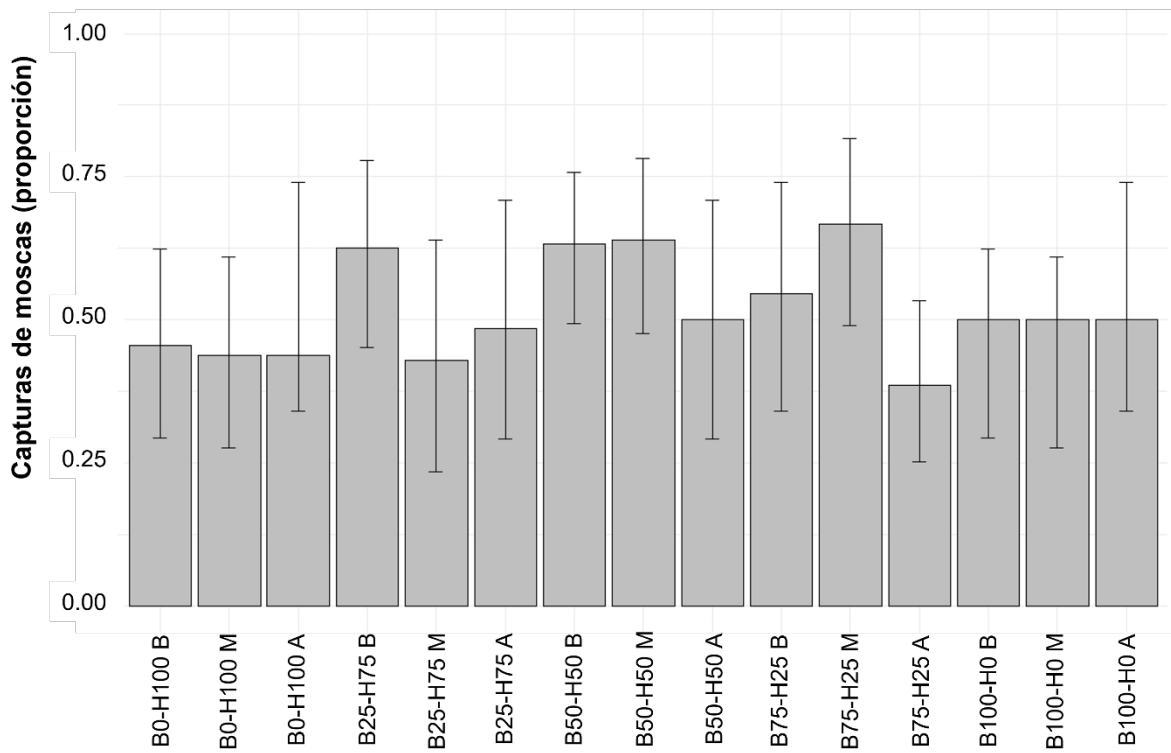
### 7.1 Evaluación del efecto de las mezclas sintéticas sobre la captura de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento

El análisis de devianza realizado para evaluar el efecto de las mezclas sintéticas sobre la captura de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento mostró que la inclusión de los tratamientos no mejoró significativamente el ajuste del modelo ( $\chi^2= 14.358$ ,  $gl = 14$ ,  $P = 0.4234$ ). Estos resultados indican que las combinaciones y concentraciones de butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato probadas no tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la captura de moscas de *A. ludens*. En el Cuadro 1 se presentan los resultados del GLM.

Aunque no se encontró un efecto estadísticamente significativo de las mezclas sintéticas sobre la captura de hembras de *A. ludens*, la mayor proporción de moscas capturadas en comparación con el control se observó con la combinación de butil butirato al 75% y (Z)-3-hexenil acetato al 25% a concentración media (i.e., 800  $\mu\text{g}$ ), seguida de la combinación de butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato ambos al 50% en concentración media (también a 800  $\mu\text{g}$ ) (Figura 5).

**Cuadro 1.** Coeficientes estimados del modelo lineal generalizado (GLM) para la captura de hembras de *Anastrepha ludens* en función de los tratamientos con mezclas sintéticas.

Predictor	Coeficiente	Error Estándar	Valor z	Valor P
Intercepto	0.1823	0.4282	0.426	0.67
Tratamientobutyl0_hexenyl100_baja	-0.3646	0.5528	-0.66	0.509
Tratamientobutyl0_hexenyl100_media	-0.4336	0.5571	-0.778	0.436
Tratamientobutyl100_hexenyl0_alta	-0.1823	0.5426	-0.336	0.737
Tratamientobutyl100_hexenyl0_baja	-0.1823	0.5916	-0.308	0.758
Tratamientobutyl100_hexenyl0_media	-0.1823	0.5916	-0.308	0.758
Tratamientobutyl25_hexenyl75_alta	-0.2429	0.552	-0.44	0.66
Tratamientobutyl25_hexenyl75_baja	0.3285	0.5627	0.584	0.559
Tratamientobutyl25_hexenyl75_media	-0.47	0.6146	-0.765	0.444
Tratamientobutyl50_hexenyl50_alta	-0.1823	0.6191	-0.294	0.768
Tratamientobutyl50_hexenyl50_baja	0.3613	0.5207	0.694	0.488
Tratamientobutyl50_hexenyl50_media	0.3882	0.5511	0.704	0.481
Tratamientobutyl75_hexenyl25_alta	-0.6449	0.5284	-1.221	0.222
Tratamientobutyl75_hexenyl25_baja	1.15E-16	0.6055	0	1
Tratamientobutyl75_hexenyl25_media	0.5108	0.5774	0.885	0.376



**Figura 5.** Medias estimadas de capturas de hembras de *A. ludens* en bioensayos en túneles de viento, basadas en GLM con distribución de error binomial, en función de las combinaciones de los compuestos y las concentraciones de las mezclas. Donde B= butil butirato y H= (Z)-3-hexenil acetato. Los números en las etiquetas del tratamiento representan las proporciones de los compuestos en la mezcla, y las letras finales indican la concentración de la mezcla: Baja (B), Media (M), Alta (A). Las barras de error indican intervalos de confianza del 95%.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo no mostraron un efecto estadísticamente significativo de las combinaciones de los compuestos butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato ni de las concentraciones de las mezclas probadas en la captura de moscas de *A. ludens* en los bioensayos en túneles de viento. Aunque estos resultados no fueron los esperados, ofrecen varias perspectivas importantes a considerar. Por ejemplo, con base en los hallazgos obtenidos por Barran-Prior (2023), será necesario reevaluar la selección de compuestos volátiles para futuras pruebas olfatométricas. Esta reevaluación podría incluir estudios más avanzados en donde se involucre la ecología química reversa mediante un enfoque proteómico. Esto implicaría la identificación de proteínas específicas que estén involucradas en la percepción de los olores de la manzana por parte de *A. ludens*, lo que facilitaría la selección de ligandos (compuestos) que sean reconocidos por estas proteínas (Ruiz-May et al., 2020; Aluja et al., 2024).

Las respuestas de EAG reportadas por Barran-Prior (2023) demostraron claramente que las antenas de *A. ludens* detectaron consistentemente a los compuestos butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato, lo que sugiere la presencia de receptores olfativos para estos compuestos. Sin embargo, la falta de respuesta conductual (en condiciones de túnel de viento) significativa cuando estos volátiles se presentaron de manera individual (a diferentes concentraciones) o en combinación, en las concentraciones probadas, podría indicar que la sensibilidad de los receptores no es suficiente para desencadenar una respuesta de comportamiento significativa. En este punto es importante mencionar que, el hecho de que un compuesto genere respuestas antenales en un insecto no necesariamente implica que dicho compuesto también provoque respuestas conductuales (Malo et al., 2005; Parra-Bardehle, 2009; Bruce & Pickett, 2011).

La electroantenografía proporciona información sobre la detección de compuestos a nivel fisiológico (Guidobaldi & Guerenstein, 2012), pero la respuesta de comportamiento involucra procesos cognitivos (Vosshall & Stocker, 2007) como la evaluación de la calidad del estímulo, por ejemplo, que pueden no haber sido

activados por los tratamientos aquí probados. En ese sentido, es posible que no se hayan utilizado las proporciones y concentraciones adecuadas de los dos ésteres para alcanzar el umbral de respuesta conductual de *A. ludens*, o que sea necesario incorporar otros compuestos volátiles en la mezcla. No obstante, también se considera que *A. ludens* podría estar percibiendo el aroma de las manzanas como un “todo”, en lugar de una mezcla de compuestos individuales. Esto implica que la atracción de esta especie podría depender de la sinergia entre múltiples compuestos volátiles específicos presentes en el aroma natural de la manzana. Si algunos de estos compuestos están ausentes o en proporciones incorrectas en las mezclas sintéticas, muy probablemente el olor resultante no sea percibido como "ideal" por *A. ludens*, lo que disminuiría su efectividad en la atracción. Algo similar fue reportado por Webster et al. (2010), quienes encontraron que el pulgón del frijol negro, *Aphis fabae* (Scopoli), mostró una fuerte atracción hacia una mezcla de quince volátiles que constituyen el aroma de su planta hospedera. Sin embargo, cuando estos volátiles se presentaron de manera individual, no hubo un compuesto único que explicara la atracción de los pulgones, solo la mezcla completa de olores provocó una respuesta positiva.

Por el contrario, en el caso de la “mosca de las manzanas”, *R. pomonella*, se logró identificar un compuesto, el butil hexanoato, que demostró ser tan atractivo como la mezcla completa del aroma de manzana (Averill et al., 1988). Años más tarde, se identificó una mezcla constituida por cinco ésteres que resultó ser más atractiva que el butil hexanoato (Zhang et al., 1999) y que hasta la fecha se utiliza para el monitoreo de *R. pomonella* en huertos comerciales de manzana en los EUA (Cha et al., 2012). Este éxito pudo deberse a varias razones. Primero, es posible que *R. pomonella* tenga una sensibilidad olfativa diferente y que estos cinco compuestos sean suficientes para activar una respuesta de atracción robusta en esta especie. En cambio, *A. ludens* podría necesitar una mezcla más compleja de compuestos volátiles para generar una respuesta de atracción comparable. Esta complejidad puede ser la razón por la cual, hasta la fecha, no se han identificado componentes volátiles específicos de sus frutos hospederos que puedan ser efectivos como atrayentes en el campo para su monitoreo y control. Segundo, *R.*

*pomonella* podría estar adaptada a responder a un perfil más simplificado de volátiles debido a la especificidad de su relación con hospederos principalmente dentro de la familia de las Rosáceas (e.g., *M. domestica*; *Crateagus mexicana*, *Crateagus greggiana*, *P. persica*, *Prunus domestica*, entre otros) mientras que *A. ludens*, al tener una gama más amplia de hospederos dentro de diferentes familias de plantas, podría requerir de un perfil de olores más complejo para que el estímulo de olor se traduzca en un comportamiento específico como la búsqueda de recursos de oviposición.

Finalmente, no hay que olvidar que la manzana es un fruto que *A. ludens* apenas comienza a atacar (i.e., se trata de un hospedero muy reciente) y que, en consecuencia, es muy posible que aún no esté adaptada a responder al volatilo completo de este fruto o a compuestos individuales del mismo. Además, las moscas utilizadas en este estudio provienen de infestaciones en cítricos, no en manzanas. Dado que estas moscas no han estado expuestas previamente a los volátiles de las manzanas, es probable que no hayan desarrollado los mecanismos necesarios para reconocer estos compuestos. Para futuras investigaciones, se sugiere coleccionar y utilizar moscas de *A. ludens* que se encuentren en las áreas circundantes en donde se cultivan manzanas y que ya se encuentran interactuando con el volatilo de esta Rosácea. Esto permitiría una evaluación más precisa de la capacidad de respuesta a los volátiles de este frutal.

Además de la calidad de los estímulos de olor, otros factores como las condiciones experimentales dentro del túnel, pudieron haber influido en la falta de respuestas de atracción significativas. Aquí descarto los factores ambientales como la temperatura y la humedad del ambiente debido a que estas variables fueron controladas dentro del laboratorio para simular las condiciones de campo en las que *A. ludens* opera. Más bien se podría atribuir a las características del túnel como la distribución y flujo del aire, así como la intensidad de la luz (Cruz-López et al., 2006; Mesquita et al., 2018). Aunque el flujo de aire laminar dentro de los túneles también se controló, probablemente la velocidad del aire no fue lo suficientemente elevada para transportar las mezclas sintéticas desde la fuente de olor hacia el sitio de

liberación de los insectos, y para cuando estas llegaron a las antenas de las moscas, la concentración y la eficacia de la señal se pudieron haber reducido. Sin embargo, para confirmar esto serán necesarias pruebas adicionales en donde se manipule el flujo de aire y se utilicen controles positivos, es decir, estímulos de olor conocidos a los que se sabe que *A. ludens* responde, como el atrayente proteico Ceratrap<sup>®</sup>, por ejemplo.

Aunque los resultados aquí reportados no arrojen un efecto estadísticamente significativo de los dos ésteres que forman parte del aroma de la manzana en la captura de moscas *A. ludens*, no descarto la posibilidad de que la mosca mexicana de la fruta esté realmente reconociendo y respondiendo al perfil volátil de este frutal, pero muy probablemente lo que esté ocurriendo en la naturaleza es que está respondiendo a señales químicas más complejas en su entorno. Como ya se mencionó anteriormente, factores como la complejidad del volatilo, las interacciones químicas entre los compuestos aún no entendidas, la variabilidad en la sensibilidad y especificidad de los receptores olfativos, las posibles limitaciones del diseño experimental o inclusive la diversidad genética dentro de las poblaciones de esta mosca pudieron haber influido en la atracción de *A. ludens* hacia las esferas cebadas con los tratamientos. Todo esto señala la necesidad de investigaciones adicionales que consideren más a fondo la complejidad de los volatilos naturales y los mecanismos biológicos subyacentes en la percepción y respuesta de las moscas a estos estímulos.

## **9. CONCLUSIÓN**

Aunque los resultados de este estudio no mostraron un efecto estadísticamente significativo de las mezclas de butil butirato y (Z)-3-hexenil acetato en la captura de moscas de *A. ludens*, esto no descarta la posibilidad de que esta especie realmente perciba y responda al volatilo de la manzana.

La falta de respuesta conductual significativa observada podría deberse a la necesidad de reevaluar la selección de compuestos volátiles y sus concentraciones,

considerar la sinergia entre múltiples volátiles específicos, y ajustar las condiciones experimentales del túnel de viento.

Este trabajo enriquecerá el limitado conocimiento que se tiene sobre la ecología química de *A. ludens* y su interacción con los volátiles de la manzana, y podría proporcionar información que motive la realización de nuevos estudios enfocados en la respuesta conductual de *A. ludens* a estos ésteres y otros compuestos volátiles de la manzana.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aluja, M. (1993). Manejo integrado de la Mosca de la Fruta. *Editorial Trillas*. México, D.F. 251.
- Aluja, M. & Prokopy, R. (1992). Host search behavior by *Rhagoletis pomonella* flies: inter-tree movement patterns in response to wind-borne fruit volatiles under field conditions. *Physiological Entomology* 17: 1-8.
- Aluja, M. & Prokopy, R. (1993). Host odor and visual stimulus interaction during intratree host finding behavior of *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology* 19: 2671-2696.
- Aluja, M. & Mangan, R. (2008). Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. *Annual Review of Entomology* 53: 473-502.
- Aluja, M., Prokopy, R., Buonaccorsi, J., & Cardé, R. (1993). Wind tunnel assays of olfactory responses of female *Rhagoletis pomonella* flies to apple volatiles: effect of wind speed and odor release rate. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 68: 99-108.

- Aluja, M., Sivinski, J., Van Driesche, R., Anzures-Dadda, A., & Guillén, L. (2014). Pest management through tropical tree conservation. *Biodiversity and Conservation* 23: 831-853.
- Aluja, M., Cabagne, G., Altúzar-Molina, A., Pascacio-Vallafán, C., Enciso, E., & Guillén, L. (2020). Host plant and antibiotic effects on scent bouquet composition of *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* calling males, two polyphagous tephritid pests. *Insects* 11: 309.
- Aluja, M., Guillén, L., Pascacio-Vallafán, C., Juárez-Durán, M., Miranda-Salcedo, M., & Liedo, P. (2024). Management of economically important native and exotic fruit fly (Tephritidae) species in Mexico. En: Capítulo 13, pp. 355 – 406, Mello-García, F.R, ed. Management of Fruit Flies in the Americas, Springer Verlag. 572 p.
- Aluja, M., Piñero, J., López, M., Ruíz, C., Zúñiga, A., et al. (2000). New host plant and distribution records in Mexico for *Anastrepha* spp., *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker, *Rhagoletis zoqui* Bush, *Rhagoletis* sp., and *Hexachaeta* sp. (Diptera: Tephritidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 102: 802-815.
- Anderson, M. & Whitcomb, P. (2005). RSM simplified: optimizing processes using response surface methods for design of experiments. Productivity Inc.: New York, USA.
- Averill, A., Reissig, W., & Roelofs, W. (1988). Specificity of olfactory responses in the tephritid fruit fly, *Rhagoletis pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 211-222.
- Baker, A., Stone, W., Plummer, C., & McPhail, M. (1944). A review of studies on the Mexican fruit fly and related Mexican species. *United States Department of Agriculture (USDA) Miscellaneous Publications* 531: 155.

- Bale, J., Masters, G., Hodkinson, I., Awmack, C., Bezemer, T., et al. (2002). Herbivory in global climate change research: Direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology* 8: 1-16.
- Barran-Prior, R. (2023). Estudio comparativo del volatilo de *Casimiroa edulis* y de los cultivares de *Malus x domestica* 'Golden Delicious', 'Rayada', y 'Criolla', y de la respuesta electroantenográfica y conductual de adultos de *Anastrepha ludens* a estos volátiles. [Tesis de Maestría]. Instituto de Ecología, A. C.
- Bellard, C., Cassey, P., & Blackburn, T. (2016). Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology Letters* 12: 20150623.
- Berrigan, D., Carey, J., Guillen, J., & Celedonio, H. (1988). Age and host effects on clutch size in the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 73-80.
- Birke, A. & Aluja, M. (2018). Do mothers really know best? Complexities in testing the preference-performance hypothesis in polyphagous frugivorous fruit flies. *Bulletin of Entomological Research* 108: 674-684.
- Birke, A., Guillén, L., Midgarden, D., & Aluja, M. (2013). Fruit flies, *Anastrepha ludens* (Loew), *A. obliqua* (Macquart) and *A. grandis* (Macquart) (Diptera: Tephritidae): three pestiferous tropical fruit flies that could potentially expand their range to temperate areas. *JE Peña* (ed.), Potential Invasive Pests. CAB International, Wallingford, UK, 192-213.
- Bozinovic, F. & Cavieres, L. (2019). El cambio climático y la biología funcional de los organismos. Ediciones UC. Consultado el 12/06/2023 en: <https://edss.bibliotecabuap.elogim.com/eds/ebookviewer/ebook/ZTAwMHh3d19fMjYyOTcwNV9fQU41?sid=abfcb344-6850-4608-bfd1-fed239ea653e@redis&vid=2&hid=/&format=EB>

- Brito, N., Moreira, M., & Melo, A. (2016). A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *Journal of Insect Physiology* 95: 51-65.
- Bruce, T. & Pickett, J. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects-finding the right mix. *Phytochemistry* 72: 1605-1611.
- Cardé, R. & Roelofs, W. (1973). Temperature modification of male sex pheromone response and factors affecting female calling in *Holomelina immaculata* (Lepidoptera: Arctiidae). *The Canadian Entomologist* 105: 1505-1512.
- Cardé, R. (1984). Chemo-orientation in flying insects. *Chemical Ecology of Insects* (pp.111-124). Boston, MA: Springer US.
- Carlsson, M., & Hansson, B. (2003). Dose-response characteristics of glomerular activity in the moth antennal lobe. *Chemical Senses* 28: 269-278.
- Cha, D., Yee, W., Goughnour, R., Powell, T., Feder, J., et al. (2012). Identification of host fruit volatiles from black hawthorn and English ornamental hawthorn attractive to western *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology* 38:319-329.
- Comité Asesor Nacional sobre Especies Invasoras. (2010). Estrategia nacional sobre especies invasoras en México, prevención, control y erradicación. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Comisión Nacional de Áreas Protegidas, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- CONABIO. (2023). Información sobre Especies Invasoras en el Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Cruz-López, L., Malo, E., Toledo, J., Virgen, A., Del Mazo, A., & Rojas, J. (2006). A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. *Journal of Chemical Ecology* 32: 351-365.

- Díaz-Fleischer, F. & Castrejón-Gómez, V. (2012). El papel de los semioquímicos en el manejo de las Moscas de la Fruta (Diptera: Tephritidae). En J. Rojas & E. Malo (Eds.), *Temas selectos en Ecología Química de Insectos* (pp. 401-426). México: El Colegio de la Frontera Sur.
- Díaz-Fleischer, F., Papaj, D., Prokopy, R., Norrbom, A., & Aluja, M. (1999). Evolution of fruit fly oviposition behavior. En *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (M. Aluja & A. Norrbom, eds.), pp. 811-841 (Capítulo 30). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 944 p.
- Díaz-Santiz, E., Rojas, J., Cruz-López, L., Hernández, E., & Malo, E. (2016). Olfactory response of *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) to guava and sweet orange volatiles. *Insect Science* 23: 720-727.
- Dobson, H. (2006). Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. *Biology of Floral Scent* (pp. 147-198). CRC press.
- Duan, J. & Prokopy, R. (1992). Visual and odor stimuli influencing effectiveness of sticky spheres for trapping apple maggot flies *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* 113 :271-279.
- Duarte, C., Alonso, S., Benito, G., Dachs, J., Montes, C., et al. (2006). Cambio global: Impacto de la actividad humana sobre el sistema Tierra. *IPCC Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)* 73-101.
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist* 198: 16-32.
- FAO. (2020). Climate Related Transboundary Pests and Diseases. Consultado el: 19/10/2023 en: <http://www.fao.org/3/a-ai785e.pdf>
- Field, C. & Barros, V. (2014). Climate change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability: Regional aspects. *Cambridge University Press*.

- Finch, S. & Collier, R. (2000). Host-plant selection by insects: a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96: 91-102.
- Galizia, C. & Sachse, S. (2010). Odor coding in insects. In Menini A, editor. *The Neurobiology of Olfaction* 35: 70.
- García-Ramírez, M., Cibrián-Tovar, J., Arzuffí-Barrera, R., López-Collado, J., & Soto-Hernández, M. (2004). Preferencia de *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) por volátiles de frutos verdes o amarillos de mango y naranja. *Agrociencia* 38: 423-430.
- Garza Urbina, E. (2001). El barrenillo del chile *Anthonomus eugenii* y su manejo en la Planicie Huasteca. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Ébano. *Folleto Técnico* 4: 15. San Luis Potosí, México.
- González, R., Toledo, J., Cruz-López, L., Virgen, A., Santiesteban, A., et al. (2006). A new blend of white sapote fruit volatiles as potential attractant to *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 99: 1994-2001.
- Grupo Técnico del Programa Nacional de Moscas de la Fruta (PNMF), DGSV, SAGARPA - SENASICA. (2017). Manual técnico para el plan de emergencia en las zonas libres de Moscas de la Fruta del género *Anastrepha* 3: 1-21. Consultado el 13/10/2023 en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/239237/MT\\_para\\_el\\_Plan\\_de\\_Emergencia\\_en\\_Zonas\\_Libres\\_de\\_MF\\_genero\\_Anastrepha.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/239237/MT_para_el_Plan_de_Emergencia_en_Zonas_Libres_de_MF_genero_Anastrepha.pdf)
- Guidobaldi, F. & Guerenstein, P. (2012). El sistema olfativo de los insectos. *National Scientific and Technical Research Council*. CONICET. CICYTTP. Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica a la Producción.

- Guillén, L., López-Sánchez, L., Velázquez, O., Rosas-Saito, G., Altúzar-Molina, A. et al. (2023). New insights on the antennal morphology of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) using advanced microscopy techniques. *Insects* 14(652): 1-20.
- Hernández-Ortiz, V. (2007). Diversidad y biogeografía del género *Anastrepha* en México. *Moscas de la fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): Diversidad Biología y Manejo* (pp. 53-76). S y G editores, Distrito Federal, México.
- Howse, P., Stevens, J., & Jones, O. (2013). Insect pheromones and their use in pest management. *Springer Science & Business Media* (pp. 126-130).
- Ibáñez-López, A. & Cruz-López, L. (2001). Glándulas salivales de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae): Análisis químico y morfológico, y actividad biológica de los componentes volátiles. *Folia Entomológica Mexicana* 40: 221-231.
- IPCC. (2007). Climate Change 2007: The physical Science Basis. Fourth IPCC Assessment Report Working Group 1. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK.
- IPCC. (2018). Global warming of 1.5 °C. IPCC Special Report Working Group 1 Technical Support Unit. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK.
- Jang, E. & Light, D. (2020). Olfactory semiochemicals of tephritids. In *Fruit Fly Pests* (pp. 73-90). CRC Press.
- Jones, V. & Davis, D. (1989) Evaluation of traps for apple maggot (Diptera: Tephritidae) populations associated with cherry and hawthorn in Utah. *Environmental Entomology* 18: 521-525.
- Knudsen, J., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Stahl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *Botanical Review* 72: 1-120.

- Lasa, R. & Williams, T. (2022). Comparación de atrayentes para *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) en México: ¿existe un atrayente mejor que el CeraTrap? *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie) 38: 1-13.
- Leyva, J., Browning, H., & Gilstrap, F. (1991). Development of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) in several host fruit. *Environmental Entomology* 20: 1160-1165.
- Liedo, P. & Toledo, J. (2007). Ecología de poblaciones y manejo integrado de las moscas de la fruta en el Soconusco, Chiapas, México. En: *Moscas de la Fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): Diversidad, Biología y Manejo* (pp. 133-144). S. y G. editores, Distrito Federal, México.
- Liedo, P., Carey, J., Celedonio, H., & Guillen, J. (1993). Demography of *Anastrepha* fruit flies: a case study of three species of economic importance. En: *Fruit flies: Biology and Management* (pp. 119-124). New York, NY: Springer New York.
- Malo, E., Cruz-López, L., Toledo, J., Mazo, A., Virgen, A., & Rojas, J. (2005). Behavioral and electrophysiological responses of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to guava volatiles. *Florida Entomologist* 88: 364-371.
- Mesquita, P., Magalhães-Junior, J., Cruz, M., Novais, H., Santos, J., et al. (2018). Sources of protein as food baits for *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae): tests in a wind tunnel and the field. *Florida Entomologist* 101:20-24.
- Miller, J. & Strickler, K. (1984). Finding and accepting host plants. In: *Chemical Ecology of Insects* (pp.127-157). Boston, MA: Springer US.
- NOM-075-FITO-1997 (Norma Oficial Mexicana). (1998). Por la que se establecen los requisitos y especificaciones para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta. SAGARPA. DOF (Diario Oficial de la Federación, publicada el 16 de marzo de 1998).

- Pachauri, R. & Reisinger, A. (2007). Climate Change 2007: Synthesis Report. *Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report on Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)* 92-122. Geneva, Switzerland.
- Parra-Bardehle, L. (2009). Factores biológicos y químicos asociados en la interacción entre *Aegorhinus superciliosus* (Coleoptera: Curculionidae) y su hospedero *Vaccinium corymbosum* L. [Tesis de Doctorado]. Universidad de la Frontera.
- Quilici, S., Atiama-Nurbel, T., & Brévault, T. (2014). Plant odors as fruit fly attractants. *Trapping and the Detection, Control, and Regulation of Tephritid Fruit Flies: Lures, Area-Wide Programs, and Trade Implications* 119-144.
- R Core Team (2023). A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria, Vienna.
- Rasgado, M., Malo, E., Cruz-López, L., Rojas, J., & Toledo, J. (2009). Olfactory response of the Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to *Citrus aurantium* volatiles. *Journal of Economic Entomology* 102: 585-594.
- Riverón, J., Boto, T., & Alcorta, E. (2009). The effect of environmental temperature on olfactory perception in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 55: 943-951.
- Robacker, D. & Rodriguez, M. (2004). A simple and effective cylindrical stickytrap for fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 492-495.
- Robacker, D., Warfield, W., & Flath, R. (1992). A four-component attractant for the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), from the host fruit. *Journal of Chemical Ecology* 18: 1239-1254.
- Robledo, N., & Arzuffi, A. (2004). Identificación de los compuestos volátiles de papaya y cuagayote mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Revista Latinoamericana de Química* 32: 30-36.

- Roitberg, B. (1985). Search dynamics in fruit-parasitic insects. *Journal of Insect Physiology* 31: 865-872.
- Royer, L. & MacNeil, J. (1993). Effect of relative humidity conditions on responsiveness of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) males to female sex pheromone in a wind tunnel. *Journal of Chemical Ecology* 19: 61- 69.
- Ruiz-May, E., Altúzar-Molina, A., Elizalde-Contreras, J., Arellano-de Los Santos, J., Monribot-Villanueva, et al. (2020). A first glimpse of the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) antenna morphology and proteome in response to a proteinaceous attractant. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 8086.
- Rull, J., Aluja, M., & Feder, J. (2010). Evolution of intrinsic reproductive isolation among four North American populations of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 100: 213-223.
- Sachse, S. & Krieger, J. (2011). Olfaction in insects: the primary processes of odor recognition and coding. *e-Neuroforum* 2: 49-60.
- Sánchez-Gracia, A. (2005). Evolución molecular de los genes del Sistema olfatorio OS-E y OS-F en diferentes especies de *Drosophila*. Universitat de Barcelona.
- SENASICA. (2013). Cochinilla rosada del hibisco *Maconellicoccus hirsutus* (Green). Dirección General de Sanidad Vegetal – Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad De México. Última actualización: Febrero, 2016. *Ficha Técnica* 6: 25.
- SENASICA. (2019a). Pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* (Kirkaldy). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-Dirección General de Sanidad.
- SENASICA. (2019b). Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria – Dirección General de

Sanidad Vegetal – Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad De México. Última actualización: Mayo, 2019. *Ficha Técnica 77*: 16.

Sequeira, R., Millar, L., & Bartels, D. (2001). Identification of susceptible areas for the establishment of *Anastrepha* spp. fruit flies in the United States and analysis of selected pathways. *Raleigh. NC USDA-APHISPPQ Center Plant Health Science Technology 47*.

Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I., Lešić, V., & Lemić, D. (2021). The impact of climate change on agricultural insect pests. *Insects 12*: 440.

Städler, E. (1984). Contact chemoreception. *Chemical Ecology of Insects* (pp. 3-35). Boston, MA: Springer US

Thomas, D. (2004) Hot peppers as a host for the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist 87*: 603-608.

Tiwari, S., Kate, A., Mohapatra, D., Tripathi, M., Ray, H., et al. (2020). Volatile organic compounds (VOCs): Biomarkers for quality management of horticultural commodities during storage through e-sensing. *Trends in Food Science & Technology 106*: 417-433.

Vosshall, L. & Stocker, R. (2007). Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annual Review of Neuroscience 30*: 505-533.

Wakie, T., Yee, W., Neven, L., & Kumar, S. (2019). Modeling the abundance of two *Rhagoletis* fly (Diptera: Tephritidae) pests in Washington State, USA. *PLoS One 14*: e0217071.

Webster, B., Bruce, T., Pickett, J., & Hardie, J. (2010). Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Animal Behaviour 79*: 451-457.

- Yee, W., Klaus, M., Cha, D., Linn Jr, C., Goughnour, R., et al. (2012). Abundance of apple maggot, *Rhagoletis pomonella*, across different areas in central Washington, with special reference to black-fruited hawthorns. *Journal of Insect Science* 12(124): 1-14.
- Zeyner, R. & Tichy, H. (2000). Integration of temperature and olfactory information in cockroach antennal lobe glomeruli. *Journal of Comparative Physiology A* 186: 717-727.
- Zhang, A., Linn, C., Wright, S., Prokopy, R., Reissig, W., et al. (1999). Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology* 25: 1221-1232.