



---

---

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

CENTRO DE AGROECOLOGÍA

MAESTRIA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMPUESTOS VOLÁTILES DE *Prunus persica* (L.) PARA EL MANEJO  
AGROECOLÓGICO DE *Macrodactylus nigripes* (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE)

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA:

Biól. Ericka Nieves Silva

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Agustín Aragón García

ASESORES

Dr. Angel Alonso Romero López

Dra. Norma Reyna Robledo Quintos

Dra. Betzabeth Cecilia Pérez Torres

Puebla, Pue., Octubre 2019




**BUAP**

La presente tesis, titulada: "Compuestos volátiles de *Prunus persica* L. para el manejo agroecológico de *Macrodactylus nigripes* (Bates) (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE)", realizada por la alumna Biól. Ericka Nieves Silva, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN  
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Agustín Aragón García


ASESOR: \_\_\_\_\_

  
Dra. Betzabeth Cecilia Pérez Torres


ASESOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Ángel Alonso Romero López

ASESOR EXTERNO: \_\_\_\_\_

  
Dra. Norma R. Robledo Quintos

REVISOR EXTERNO: \_\_\_\_\_

  
Dr. Felipe Tafoya Rangel

Puebla, Pue., Octubre de 2019.

## ÍNDICE

Resumen .....	1
I. Introducción.....	2
II. Antecedentes .....	3
2.1. Importancia económica de <i>Prunus persica</i> .....	3
2.2. Compuestos volátiles de plantas.....	3
2.3. Selección de planta hospedera por parte de los insectos .....	4
2.4. Compuestos volátiles de <i>Prunus persica</i> asociados a la comunicación química de la familia Melolonthidae .....	5
2.5. Generalidades de <i>Macrodactylus nigripes</i> .....	7
2.5.1. <i>Macrodactylus nigripes</i> .....	7
2.5.2. Importancia económica de <i>Macrodactylus nigripes</i> .....	8
2.5.3. Quimiorreceptores asociados a la percepción de compuestos volátiles en <i>M. nigripes</i> .....	9
III. Marco teórico.....	10
3.1. La importancia de la agricultura sustentable dentro del manejo de plagas .	10
3.2. El uso de infoquímicos en programas de manejo .....	10
3.3. Compuestos volátiles de plantas en la comunicación química de la familia Melolonthidae.....	12
IV. Justificación .....	13
V. Hipótesis .....	13
VI. Objetivos .....	14
6.1. Objetivo general .....	14
6.2. Objetivos particulares.....	14
VII. Material y métodos.....	15
7.1. Zona de estudio .....	15
7.2. Obtención de insectos.....	15
7.3. Obtención de plantas .....	15
7.4. Extracción e identificación de compuestos volátiles.....	16
7.5. Bioensayos en laboratorio.....	17
7.5.1. Pruebas de electroantenografía.....	18
7.5.2. Bioensayos con olfatómetro .....	19

7.6. Pruebas con dispositivos en campo.....	21
7.7. Análisis estadístico.....	22
VIII. Resultados.....	23
8.1. Extracción e identificación de compuestos volátiles.....	23
8.2. Pruebas de electroantenografía.....	24
8.3. Bioensayos con olfatómetro.....	26
8.4. Pruebas con dispositivos en campo.....	29
IX. Discusión.....	30
9.1 Extracción e identificación de compuestos volátiles.....	30
9.2. Pruebas de electroantenografía.....	31
9.3. Bioensayos con olfatómetro.....	32
9.4. Pruebas con dispositivos en campo.....	33
X. Conclusiones.....	35
XI. Recomendaciones.....	36
XII. Literatura citada.....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Compuestos volátiles de <i>Prunus persica</i> que intervienen en la comunicación química de especies de Melolonthidae.....	6
<b>Tabla 2.</b> Combinaciones realizadas en bioensayos con olfatómetro.....	20
<b>Tabla 3.</b> Compuestos identificados en <i>Prunus persica</i> con los métodos Headspace estático- SPME y Headspace dinámico.....	23

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de <i>Macroductylus nigripes</i> .....	8
<b>Figura 2.</b> Zona de estudio en donde se llevaron a cabo las recolectas de <i>Prunus persica</i> y <i>Macroductylus nigripes</i> .....	15
<b>Figura 3.</b> Métodos para la extracción de compuestos volátiles de <i>Prunus persica</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas Agilent 7890A.....	18
<b>Figura 5. A.</b> Antena de adultos de <i>Macroductylus nigripes</i> montada en los electrodos. <b>B.</b> Tubo en forma de “L” para estímulo a la antena.....	19
<b>Figura 6.</b> Olfatómetro de dos vías para evaluar la respuesta de hembras y machos de <i>Macroductylus nigripes</i> .....	21
<b>Figura 7. A.</b> Dispositivo con el compuesto (Z)-3-hexenil acetato para las pruebas de atracción de adultos de <i>Macroductylus nigripes</i> . <b>B.</b> Esquema de la posición de dispositivos en campo.....	22
<b>Figura 8.</b> Respuesta de la antena de hembras y machos de <i>Macroductylus nigripes</i> a los compuestos en diferentes concentraciones.....	24
<b>Figura 9.</b> Respuesta de antenas por EAG de hembras de <i>Macroductylus nigripes</i> a (Z)-3-hexenil acetato y R-(+)-limoneno a diferentes concentraciones.....	25
<b>Figura 10.</b> Respuesta de antenas de machos de <i>Macroductylus nigripes</i> a (Z)-3-hexenil acetato y R-(+)-limoneno a diferentes concentraciones.....	26
<b>Figura 11.</b> Respuesta de hembras ( <b>A</b> ) y machos ( <b>B</b> ) de <i>Macroductylus nigripes</i> en bioensayos con olfatómetro con (R)-(+)-limoneno a diferentes concentraciones.....	27
<b>Figura 12.</b> Respuesta de hembras y machos de <i>Macroductylus nigripes</i> en bioensayos con olfatómetro con (Z)-3-hexenil acetato a diferentes concentraciones.....	28
<b>Figura 13.</b> Captura promedio de <i>Macroductylus nigripes</i> a (Z)-3-hexenil acetato (200 µL) en dispositivos colocados en campo.....	29

## Resumen

El “frailecillo” *Macrodactylus nigripes* Bates es considerado una de las plagas que afecta varios cultivos en diferentes estados de la República Mexicana. Uno de estos cultivos es el durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch). Debido a que el manejo de *M. nigripes* se basa principalmente en el uso de plaguicidas, se propone como alternativa el uso de infoquímicos. Se extrajeron los compuestos volátiles (CV) de hojas y frutos de *P. persica* por los métodos de Headspace estático-SPME (microextracción en fase sólida) y Headspace dinámico (HD). Se analizó e identificó por Cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG-EM), 17 compuestos, en su mayoría terpenos y alcanos. De ellos, el R-(+)-limoneno y (Z)-3-hexenil acetato se han reportado que provocan actividad biológica en melolóntidos. Estos compuestos fueron seleccionados para llevar a cabo pruebas de atracción en laboratorio y campo con hembras y machos de *M. nigripes*.

Las pruebas de evaluación de actividad biológica de los compuestos identificados en laboratorio consistieron en registros con electroantenógrafo (EAG) y olfatómetro. En las pruebas con EAG se obtuvieron respuestas antenales estadísticamente significativas para ambos sexos de *M. nigripes* para R-(+)-limoneno y (Z)-3-hexenil acetato en las diferentes concentraciones probadas (50, 100, 150, 200 y 250  $\mu\text{L}$ ). Así mismo, en olfatómetro se probaron las concentraciones de 200, 250, 300, 350 y 400  $\mu\text{L}$ , observándose que en el caso de R-(+)-limoneno no hubo respuesta significativa. Para el compuesto (Z)-3-hexenil acetato se observó una mayor respuesta a la concentración 200  $\mu\text{L}$  seguida de la concentración 250  $\mu\text{L}$ , sin diferencias significativas en la respuesta entre hembras y machos de *M. nigripes*.

La evaluación en campo se llevó a cabo con dispositivos pegajosos, donde se valoró la concentración con mayor respuesta en olfatómetro (250  $\mu\text{L}$ ), encontrándose una respuesta significativa al compuesto por parte de los adultos de ambos sexos, con relación al control. Basados en los anteriores resultados de la investigación, se considera al (Z)-3-hexenil acetato un compuesto con potencial para el manejo agroecológico de *M. nigripes*.

## I. Introducción

Los miembros del género *Macrodactylus* se encuentran distribuidos en México con 27 especies, las cuales desde su fase larvaria se alimentan de la raíz de diferentes cultivos que son de importancia agrícola y como adultos provocan efectos nocivos en las hojas, yemas, flores y frutos (Arce-Pérez y Morón, 2000; Caselín-Castro *et al.*, 2003). Uno de los principales problemas dentro de la agricultura es el abuso en el empleo de insecticidas sintéticos para evitar el problema de plagas. Sin embargo, se sabe que estos productos pueden bajar las poblaciones de insectos plaga a corto plazo, pero debido a que también eliminan a sus enemigos naturales, incrementan rápidamente sus poblaciones a niveles incluso mayores a los que se tenía en principio (resistencia) (Sarandón y Flores, 2014). Además, al aplicarse en los cultivos, los plaguicidas pueden ser lavados o lixiviados hacia corrientes de agua superficiales o subterráneos donde se incorporan a la cadena alimenticia, generando repercusiones negativas para el ambiente y la salud (Gliessman, 2002). Con el fin de reducir el uso de plaguicidas, se han implementado estrategias, las cuales se fundamentan en los principios ecológicos de las interacciones dentro del ecosistema y factores de regulación de las poblaciones (Nava *et al.*, 2003), como el uso de modificadores del comportamiento. Así como, el uso de sustancias químicas (infoquímicos) como feromonas y volátiles de plantas hospederas que funcionan y sirven como estrategia para el manejo de plagas (Contreras, 2011).

En este trabajo se identificaron los compuestos volátiles emitidos por el fruto y hojas de *Prunus persica* (Rosaceae), planta hospedera de los adultos de *Macrodactylus nigripes* Bates y evaluó la respuesta de hembras y machos hacia tales compuestos a través de tres técnicas: bioensayos de atracción en laboratorio. Evaluación de la respuesta antenal con EAG y olfatómetro; así como pruebas en campo con dispositivos de atracción.

## **II. Antecedentes**

### **2.1. Importancia económica de *Prunus persica***

El durazno, *Prunus persica* (L.), pertenece a la familia de las Rosáceas. Es una especie arbórea de hoja caduca, alterna, simple lanceolada y largamente acuminada; sus flores son blancas rosadas; el árbol puede llegar a medir 6 m de altura y de 3 a 4 m de ancho (Mondragón *et al.*, 2007). El durazno es originario de China, siendo introducido por los españoles a México poco tiempo después de la conquista y desde entonces se cultiva en huertos familiares o de traspatio, en regiones de clima templado y subtropical (Espíndola *et al.*, 2009).

El durazno es un fruto estacional con alto precio en el mercado mexicano que varía entre \$40,00 a \$60,00/Kg o más dependiendo de la entidad (SAGARPA, 2015). En México se cultivan 28,842 ha de durazno con una producción anual de 160,663.01 ton, obteniéndose una ganancia de \$1,402,810.27 (SIAP, 2018). Entre los estados con mayor producción se encuentran Chihuahua, Estado de México, Michoacán, Zacatecas, Puebla, Morelos, Tlaxcala, Jalisco y Aguascalientes. Sin embargo, la producción de este fruto se lleva a cabo en la mayoría de los estados de la República Mexicana (Loera-Muro *et al.*, 2017).

### **2.2. Compuestos volátiles de plantas**

Las plantas al ser organismos sésiles, no tienen la capacidad de moverse para escapar de los organismos y condiciones perjudiciales a los que están expuestos, por lo cual han desarrollado diversas estrategias como la producción de sustancias químicas para hacer frente a estos problemas; esto como parte de las interacciones con su entorno (Van Donk *et al.*, 2011; Farré-Armengol *et al.*, 2013). Dichas sustancias también son llamados metabolitos secundarios y entre ellos los compuestos volátiles (CV), que son una mezcla compleja de varios compuestos con presiones de vapor suficientemente altas que al ser expuestos al aire, estos se evaporan y entran en la atmósfera (Dudareva *et al.*, 2004; Marín-Loaiza y Céspedes, 2007). Dichos compuestos son emitidos en pequeñas cantidades a

través de las hojas, frutos, flores e incluso las raíces, pero principalmente por la superficie y sitios de almacenamiento en las hojas (Bautista-Lozada *et al.*, 2012).

La emisión de CV por parte de una planta sana se denomina constitutiva, lo cual sirve como una válvula de escape metabólica, donde se remueve el exceso de energía y carbono que no puede ser asimilado por la planta, siendo así una actividad ventajosa para las plantas. También, existe la emisión de CV inducida, que se da después de que la planta sufre un estrés biótico o abiótico, lo cual representa un gasto energético. Uno de los factores más estudiados en este caso es la fitofagia, donde el volumen de emisión depende del tipo de alimentación del fitófago e incluso de la etapa de desarrollo en que se encuentra el insecto (Bautista-Lozada *et al.*, 2012).

Dentro de las funciones de los CV en la vida de las plantas destaca el de atraer polinizadores, regular los mecanismos involucrados en su propia defensa, mediar la comunicación con otras plantas, influir en la liberación y producción de feromonas en algunos insectos y a menudo aumentar sus respuestas sexuales, así como fungir como termorregulador (Marín-Loaiza y Céspedes, 2007).

### **2.3. Selección de planta hospedera por parte de los insectos**

La búsqueda de la planta hospedera es un proceso activo por el cual los insectos detectan un recurso como es el sitio de oviposición, o recurso para encontrar pareja para el apareamiento o como fuente de alimento, es decir, es una secuencia comportamental mediante la cual el insecto distingue entre una planta hospedera y una no hospedera; los pasos durante este proceso incluyen la búsqueda, localización y aceptación del sitio, basado en la calidad de la planta (Rojas, 2012; Knolhoff y Heckel, 2014). Para este proceso, los insectos utilizan estímulos acústicos, térmicos, visuales, mecánicos y olfativos, siendo estos últimos de los más importantes. La detección de estímulos olfativos puede darse a partir de las estructuras antenales que se encuentran en muchos insectos o gustación a partir de los palpos bucales y maxilares, dependiendo de si el estímulo se percibe en el aire o a través del contacto físico (Holopainen, 2004; Grajales-Conesa *et al.*, 2011; Guidobaldi y Guerenstein, 2012). Los insectos tienen la

capacidad de detectar CV específicos en un ambiente químico muy diverso, los cuales son percibidos por los quimiorreceptores situados en las antenas de los insectos; estos se encargan de crear una representación interna de un mundo externo construido por una variedad casi infinita de diferentes moléculas y que finalmente produce una respuesta conductual y fisiológica (Wicher, 2015).

Diferentes mecanismos de respuesta por parte del insecto ayudan a localizar estímulos químicos y la orientación puede ser dirigida (taxis) y no dirigida (cinecis). La quimiotaxis se presenta cuando el insecto alinea su cuerpo en dirección a la fuente, como resultado de haber detectado moléculas del estímulo químico. En el caso de la cinecis, el insecto no detecta la dirección del estímulo, sino que es estimulada para moverse a diferentes velocidades (ortocinecis) o para girar a diferentes frecuencias (clinocinecis) por cambios en las concentraciones de las sustancias químicas. En la anemotaxis el desplazamiento se da en función del viento y se considera que es uno de los principales medios por el cual los insectos se dirigen hacia la fuente (Finch, 1986; Hiltbold *et al.*, 2013).

#### **2.4. Compuestos volátiles de *Prunus persica* asociados a la comunicación química de la familia Melolonthidae**

En los CV, según la clasificación de infoquímicos de Dicke y Sabelis (1988), se encuentran las feromonas (compuestos para la comunicación entre mismas especies) y los aleloquímicos (compuestos para la comunicación entre diferentes especies), los cuales a su vez se clasifican según quien se vea beneficiado con el compuesto emitido, siendo estos alomonas (emisor), kairomonas (receptor) y sinomonas (ambos organismos). Funcionando estos compuestos como atrayentes o repelentes en diferentes especies. Respecto a lo anterior, se tiene información acerca de compuestos volátiles de *P. persica* que intervienen en la comunicación química de coleópteros Melolonthidae (Tabla 1).

**Tabla 1.** Compuestos volátiles de *Prunus persica* que intervienen en la comunicación química de especies de Melolonthidae.

CV	Especie de Melolonthidae	Función	Referencia
2-feniletanol	<i>Anomala exoleta</i> <i>Anomala octiescostata</i> <i>Cotinis nitida</i> <i>Holotrichia oblita</i> <i>Holotrichia paralela</i> <i>Hoplia communis</i> <i>Oxythyrea cinctella</i> <i>Popilia japonica</i> <i>Protaetia brevitarsis</i>	Atrayente Kairomona Atrayente Atrayente Atrayente Kairomona Atrayente Atrayente Atrayente	Li <i>et al.</i> , 2013 Leal <i>et al.</i> , 1994 Johnson <i>et al.</i> , 2009 Li <i>et al.</i> , 2013  Imai <i>et al.</i> , 1998 Vuts <i>et al.</i> , 2012 Theis, 2006 Chen & Li, 2011
$\alpha$ -pineno	<i>Parastasia bimaculata</i>	Atrayente	Kumano & Yamaoka, 2009
Benzaldehído	<i>Anomala octiescostata</i> <i>Melolontha melolontha</i>	Kairomona Kairomona	Leal <i>et al.</i> , 1994 Imrei & Toht, 2002
Butan-2-ol	<i>Dasylepida ishigakiensis</i> <i>Parastasia bimaculata</i> <i>Scapanes australis</i>	Feromona Atrayente Feromona	Yasui <i>et al.</i> , 2010 Kumano & Yamaoka, 2009 Rochat <i>et al.</i> , 2002
Butan-2-ona	<i>Strategus aloeus</i>	Feromona	Rochat <i>et al.</i> , 2000
Etil acetato	<i>Cotinis mutabilis</i> <i>Cyclocephala guttata</i> <i>Phyllophaga</i> sp	Atrayente Atrayente Atrayente	Camino-Lavin <i>et al.</i> , 1996
Hexan-1-ol	<i>Melolontha melolontha</i>	Kairomona	Imrei & Toht, 2002
Ac. hexanoico	<i>Clinteria ducalis</i> <i>Macroductylus murinus</i> <i>Macroductylus nigripes</i> <i>Macroductylus subspinosus</i> <i>Phyllophaga anxia</i>	Atrayente Atrayente Atrayente Atrayente Atrayente	Pedersen <i>et al.</i> , 2013 Arredondo-Bernal <i>et al.</i> , 1995  Lingenfelter <i>et al.</i> , 2003 Poprawski & Yule, 1992
Linalool	<i>Atrichelaphinis tigrina</i> <i>Dyspilophora trivittata</i> <i>Pachnoda marginata</i> <i>Popillia japonica</i>	Atrayente Atrayente Atrayente kairomona	Steenhuisen <i>et al.</i> , 2013 Donaldson <i>et al.</i> , 1990 Larsson <i>et al.</i> , 2003 Loughrin <i>et al.</i> , 1996
Metil salicilato	<i>Atrichelaphinis tigrina</i> <i>Cotinis nitida</i> <i>Pachnoda interrupta</i> <i>Pachnoda marginata</i>	Atrayente Atrayente Atrayente Atrayente	Steenhuisen <i>et al.</i> , 2013 Johnson <i>et al.</i> , 2009 Bengtsson <i>et al.</i> 2010 Larsson <i>et al.</i> , 2003
Nonanal	<i>Melolontha melolontha</i>	Feromona	Reinecke <i>et al.</i> , 2002
Pentan-3-ona	<i>Strategus aloeus</i>	Feromona	Rochat <i>et al.</i> , 2000
Fenilmetanol	<i>Anomala corpulenta</i> <i>Anomala exoleta</i> <i>Anomala octiescostata</i> <i>Holotrichia oblita</i> <i>Holotrichia paralela</i> <i>Maladera orientalis</i> <i>Popillia quadriguttata</i>	Atrayente Atrayente Kairomona Atrayente Atrayente Atrayente Atrayente	Li <i>et al.</i> , 2013  Leal <i>et al.</i> , 1994 Li <i>et al.</i> , 2013
Propan-1-ol	<i>Protaetia brevitarsis</i>	Atrayente	Chen & Li, 2011

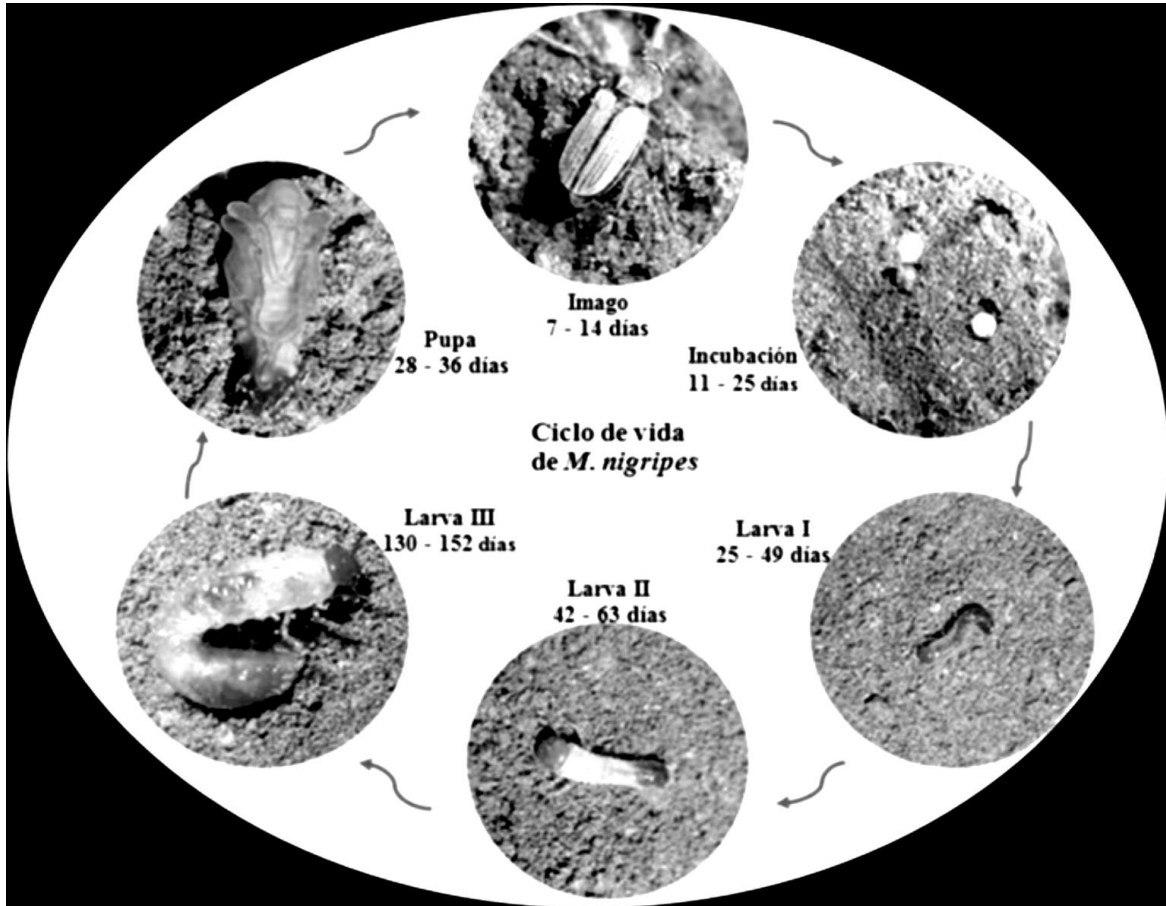
## **2.5. Generalidades de *Macroductylus nigripes***

### **2.5.1. *Macroductylus nigripes***

*Macroductylus nigripes* se encuentra en ambientes templados a fríos, húmedos sub-húmedos, situados entre los 1000 y 2500 m de altitud, distribuyéndose en los estados de Chiapas, Coahuila, Ciudad de México, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz. Situándose en ambientes templados a fríos y húmedos sub-húmedos. Los integrantes de esta especie son holometábolos con huevo, tres estadios larvales, pupa y adulto. El ciclo de vida es usualmente anual y el periodo de actividad comienza cuando los adultos vuelan y muestran comportamiento reproductivo durante la época de lluvias (junio-agosto) (Arce-Pérez y Morón, 2000).

Serapio-Jerónimo *et al.* (2014), citan que las hembras ovipositan dando inicio a la incubación que dura entre 11 y 25 días. De septiembre a octubre se observan larvas de primer estadio que se desarrollan entre 25 y 49 días. Se caracterizan por ser de color blanco, dobladas a la mitad con la cabeza sobre el último segmento; son delgadas con una longitud de 4 a 6 mm. De octubre a diciembre, comienza el segundo estadio que dura entre 42 y 63 días; las larvas de este periodo tienen una longitud de 7 a 11 mm y se diferencian de las del primer estadio por el aumento de tamaño reflejado en la cabeza y el tórax. El tercer estadio inicia en diciembre llegando a abril, con una duración de 130 y 152 días. La larva mide de 17-23 mm al inicio es de color gris, por la materia orgánica ingerida y antes de llegar a pupa cambian a un color blanquecino-amarillento. A finales de abril inicia el periodo de pupa con una duración de 28 ó 36 días. La pupa es exarata de cuerpo alargado de 13 mm de longitud, con un color ámbar amarillento. En los primeros días mantiene la exuvia del tercer estadio, adherida a los urogomphi. Durante la formación del imago, es notorio el cambio de coloración en la pupa; las podotecas, los pterotecas, protórax y la cabeza son las primeras partes que se pigmentan adquiriendo un color ocre que se acentúa en todo el cuerpo. Las partes que se forman primero son las patas, los élitros, la cabeza, el tórax y finalmente el abdomen. Al término del desarrollo se encuentran envueltas por una muda delgada, que se desprenden antes de que emerjan del suelo. El

imago permanecen bajo el suelo de 7 a 14 días, dando lugar a el adulto que emerge durante las primeras semanas de junio, durando así el ciclo total de *M. nigripes* aproximadamente 288.93 días (Fig. 1).



**Figura 1.** Ciclo de vida de *Macroductylus nigripes* (tomado de Serapio-Jerónimo *et al.*, 2014).

### 2.5.2. Importancia económica de *Macroductylus nigripes*

Existen 27 especies de *Macroductylus* distribuidas en México, la mayoría de ellas consideradas plagas agrícolas, son comúnmente llamados “frailecillos”. Dentro de este género se encuentra *M. nigripes*, la cual es una especie generalista, que desde su fase larvaria se alimenta de la raíz y como adulto provoca daños en hojas, yemas, flores y frutos de importancia económica, reportándose que puede reducir el rendimiento de cultivos hasta un 77% de la producción total (Arce-Pérez y Morón 2000; Caselín-Castro *et al.*, 2003). Las plantas hospederas registradas para *M. nigripes* son: *Baccharis conferta*, *Senecio salignus* (Asteraceae), *Brassica*

*napus*, *Brassica oleraceae* (Brassicaceae), *Zea mays*, *Hordeum vulgare* (Poaceae), *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus coccineus*, *Vicia fava*, *Medicago sativa*, *Lupinus* sp. (Fabaceae), *Buddleis* sp. (Scrophulariaceae), *Fraxinus* sp. (Oleaceae), *Malus pumila*, *Pyrus comunis*, *Prunus persica*, *Rubus ideanus* y *Rubus adenotrichus* (Rosaceae) (Arce-Pérez y Morón, 2000).

### **2.5.3. Quimiorreceptores asociados a la percepción de compuestos volátiles en *M. nigripes***

En los insectos, la detección de sustancias químicas se lleva a cabo principalmente por las antenas, una antena típica consta de tres segmentos; escapo, pedicelo y flagelo. Las neuronas receptoras olfativas responsables de la detección de estas sustancias están situadas dentro de los “pelos olfativos” inervados llamados sensilas olfativas, los cuales se distribuyen en las antenas (Guidobaldi y Guerenstein, 2012).

Para *M. nigripes* se tienen reportados cuatro tipos de sensilas quimiorreceptoras: aurículas, basicónicas, celocónicas y placoideos. Las aurículas son estructuras en forma de “oreja de conejo” o “lengua” que se presentan en ambas superficies de las lamelas (interna y externa). Los basicónicas tienen forma de “bastón” encontrándose en las regiones laterales y centrales de ambas superficies de las lamelas. Las celocónicas son un conjunto de sensilas encavadas dentro de una misma cavidad y se ubican en la superficie interna de la lamela distal, media y proximal y las placoideos presentan forma ovalada y alargada y se ubican en todas las regiones y superficies de las tres lamelas (Martínez-Bonilla *et al.*, 2015).

### **III. Marco teórico**

#### **3.1. La importancia de la agricultura sustentable dentro del manejo de plagas**

La agricultura sustentable es el desarrollo y aplicación de la teoría ecológica para el manejo de los sistemas agrícolas, de acuerdo a la disponibilidad de recursos, la cual tiene un enfoque amplio que incorpora la relación entre agricultura, el ambiente y las dimensiones sociales (económica, política y ética), buscándose siempre el punto de equilibrio entre estas dimensiones (Altieri, 1987; Sarandón, 2002).

Una de las principales razones de la incorporación de la agricultura sustentable fue el incremento en el uso de insumos químicos para el manejo de plagas, causando así efectos negativos, entre los cuales está el desarrollo de resistencia por parte de las especies plagas, pérdida de capacidad productiva de los suelos, contaminación de cuerpos de aguas superficiales y subterráneas, pérdida de diversidad y efectos negativos en la salud humana (agricultores y consumidores del producto cosechado) (Gliessman, 2002; Sarandón y Flores, 2014). Lamentablemente, en diferentes regiones agrícolas de México el manejo de plagas se ha basado fundamentalmente en el uso de plaguicidas, consumiéndose anualmente 35 mil toneladas de este producto (Ortíz *et al.*, 2014). Una de las alternativas basadas en principios ecológicos para el control de plagas es el Manejo Integrado de Plagas (MIP), dentro del cual se puede implementar el uso de compuestos atrayentes o repelentes (feromonas y aleloquímicos) (Nava *et al.*, 2003).

#### **3.2. El uso de infoquímicos en programas de manejo**

El MIP es un sistema de apoyo para toma de decisiones en la selección y aplicación de tácticas de control de plagas, ya sea de manera individual o armoniosamente combinadas en una estrategia de manejo (Contreras, 2011).

Debido a que los infoquímicos desempeñan una función importante como elementos de comunicación en diversas interacciones, actuando como modificadores del comportamiento (Rodríguez-Saona, 2012), son considerados

como una alternativa viable para el manejo de plagas de insectos en cultivos agrícolas.

Para poder incorporar a los CV en un programa de manejo es necesario comprender todos los factores que afectan a la relación entre el insecto y la planta, es decir, una detección y seguimiento de la población objetivo. Dentro de las estrategias de manejo que se fundamentan en la modificación del comportamiento del insecto, tenemos las siguientes:

- Atraer y matar: Consta de un atrayente químico que actúa a larga distancia y un componente (insecticida, trampa, etc.) que mata a las plagas, por lo cual el estímulo olfativo que se utilice debe ser tan específico como sea posible para evitar que otros insectos sean eliminados (Foster y Harris, 1997).
- Empujar y jalar: Utiliza atrayentes químicos para dirigir insectos a la fuente de atracción, la cual puede ser un cultivo trampa en combinación con repelentes para evitar que los insectos dañen al cultivo principal (Cook *et al.*, 2007).

Dentro de las ventajas al llevar a cabo un control con CV de acuerdo con Vacas (2011) se tienen las siguientes:

- Reducción de poblaciones por debajo del límite de daño comercial, evitando los inconvenientes de los agroquímicos convencionales.
- Es un método respetuoso con el ambiente y no deja residuos.
- Tienen elevada especificidad, no siendo productos activos frente a otras especies.
- Pueden usarse en conjunto con otros métodos como el control biológico basado en enemigos naturales.
- Es poco probable la aparición de resistencia.

Bajo este enfoque, la estrategia de uso de CV podría permitir el desarrollo de una estrategia para el manejo de *M. nigripes*.

### 3.3. Compuestos volátiles de plantas en la comunicación química de la familia Melolonthidae

El uso de CV permite el establecimiento de estrategias para el manejo de insectos plaga. En el caso de los coleópteros de la familia Melolonthidae (Cherman y Morón, 2014), existen estudios que avalan esta aseveración. Se sabe que estos insectos provocan pérdidas económicas al afectar cultivos agrícolas de importancia económica (Arce-Pérez y Morón, 2000; Guzmán-Mendoza *et al.*, 2013) y para reducir estos efectos negativos se han buscado alternativas de manejo basadas en CV de sus plantas hospederas. En este sentido, Ruther *et al.* (2000), comprobaron la atracción de *Melolontha hipocastani* F. hacia CV de sus plantas hospederas con pruebas de EAG, donde se seleccionaron compuestos para posteriormente llevarlos a probar con trampas en campo. Igualmente, Subaharan *et al.* (2013), llevaron a cabo pruebas de EAG con CV para la atracción de *Holotrichia serrata* F., donde se vio una diferencia en la respuesta dependiendo del sexo; en el caso de hembras se observó respuesta significativa al acetato de propilo y en machos hacia el acetato de etilo. Así mismo se han hecho diversas pruebas de EAG con las especies *Phyllopertha diversa* (Waterhouse), *Anomala cuprea* (Hope), *Dasylepida ishigakiensis* (Niiijima et Kinoshita), *Holotrichia parallela* (Motschulsky), *Hylamorpha elegans* (Burm) y *Metabolus flavescens* (Brenske) (Hansson *et al.*, 1999; Larsson *et al.*, 2001; Wakamura *et al.*, 2009; Ju *et al.*, 2018; Venthur *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019). Las pruebas en olfatómetro en melolóntidos se restringe a la especie *H. parallela* (Ju *et al.*, 2018).

Para integrantes del género *Macrodactylus*, sólo se han registrado datos acerca de CV que atraen a adultos de *Macrodactylus subspinosus* F.; siendo la mezcla de ác. hexanoico, ác. valérico y octil-butirato (Williams *et al.*, 1993, 2000; Heath *et al.*, 2001). Para especies distribuidas en México, los reportes se restringen a *Macrodactylus murinus* Bates y *M. nigripes* (Arredondo-Bernal *et al.*, 1995) probándose los compuestos antes mencionados. Así también se hicieron pruebas de preferencia con el uso de plantas hospederas (*Zea mays*, *Baccharis salicifolia* y *Ananas comosus*) en pruebas con olfatómetro (Nieves-Silva y Romero-López, 2016).

#### **IV. Justificación**

El manejo de plagas en la agricultura convencional, se ha llevado a cabo a partir del uso de productos químicos sintéticos. Entre las consecuencias no deseadas del control químico, destacan la resistencia de plagas, el alza en el costo de producción agropecuaria, la bioacumulación a través de las cadenas tróficas, la pérdida de biodiversidad, la contaminación ambiental y los riesgos para la salud humana, aunado a que muchas veces estos plaguicidas vienen dentro de los alimentos que llegan a nuestra mesa. Por tanto, es necesario darle paso a otras alternativas que son amigables con el ambiente y que además resultan eficaces para disminuir los problemas de plagas como es el uso de infoquímicos y en particular, de los CV. En este caso, se propone para el manejo de *M. nigripes*, pues es una especie plaga de diversos cultivos y cuya actividad ha provocado la disminución del rendimiento de éstos en más del 77% de la producción total (Caselín-Castro *et al.*, 2003). Con base en el uso de CV en este trabajo se procedió a la extracción, identificación de CV de frutos y hojas de durazno, así como la validación de estos aleloquímicos en pruebas de laboratorio y campo.

#### **V. Hipótesis**

- Algunos de los compuestos identificados en *Prunus persica* y obtenidos de forma sintética, tienen actividad biológica dentro de la comunicación química de *M. nigripes*. Por tanto, hembras y machos de esta especie presentan respuestas positivas en electroantenógrafo, olfatómetro, y atracción en dispositivos colocados en campo.

## **VI. Objetivos**

### **6.1. Objetivo general**

Evaluar la respuesta de adultos de *M. nigripes* hacia compuestos sintéticos identificados en frutos y hojas de *P. persica* en bioensayos de laboratorio y campo.

### **6.2. Objetivos particulares**

- Extraer los compuestos volátiles de hojas y frutos de *P. persica* mediante dos técnicas (Headspace estático- microextracción en fase sólida y Headspace dinámico) e identificarlos por cromatografía de gases y espectrometría de masas.
- Establecer bioensayos de laboratorio por EAG y olfatómetro que permitan determinar el efecto de dos de los compuestos volátiles identificados en *P. persica* en hembras y machos de *M. nigripes*.
- Establecer pruebas en campo con dispositivos de atracción para determinar el efecto de los compuestos que resulten con alguna actividad sobre adultos de *M. nigripes* en los bioensayos de laboratorio.

## VII. Material y métodos

### 7.1. Zona de estudio

La obtención de frutos y hojas de *P. persica*, la captura de adultos de *M. nigripes* y la ejecución de las pruebas de campo se llevaron a cabo en una zona agrícola en el municipio de Huejotzingo (latitud 19°10'31.70"N, longitud 98°24'39.37"O) (Fig. 2), localizado en la parte del centro oeste del estado de Puebla. La temperatura registrada en el trabajo de campo (durante las fechas del 11 al 24 de julio de 2019) fue de 23 a 26.9°C con humedad de entre 40 y 60%.



**Figura 2.** Zona de estudio en donde se llevaron a cabo las recolectas de las muestras de *P. persica* e insectos experimentales, así como las pruebas de campo. Mapa elaborado con base en imágenes satelitales disponibles en el programa Google Earth con las coordenadas obtenidas con GPS.

### 7.2. Obtención de insectos

Entre los meses de junio y julio de 2019 se colectaron manualmente hembras y machos de *M. nigripes* en arbustos de *P. persica*, ubicada en Huejotzingo, Puebla. Los adultos capturados fueron trasladados al Laboratorio de Manejo de Plagas ubicado en el Centro de Agroecología del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CENAGRO-ICUAP), donde los organismos fueron sexados e identificados de acuerdo a las claves propuestas por Arce-Pérez y Morón (2000). Posteriormente, fueron colocados en frascos de plástico de 1 L,

para su traslado al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI), Instituto Politécnico Nacional, en el estado de Morelos.

### **7.3. Obtención de plantas**

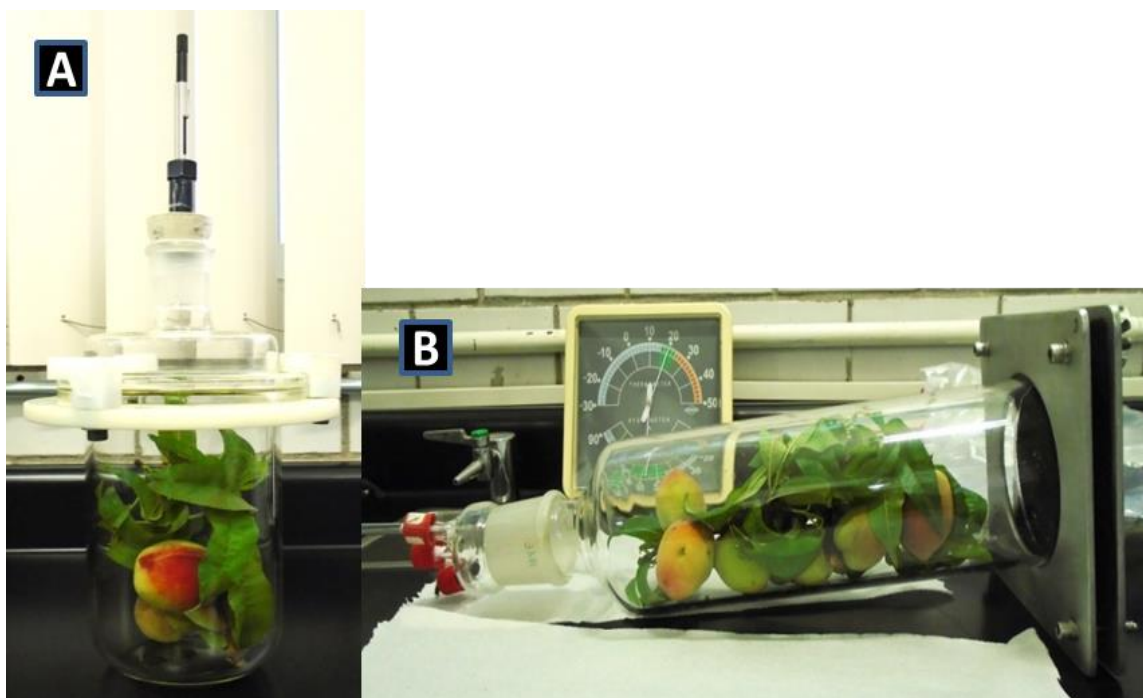
En los meses de mayo y junio de 2018 se colectaron hojas y frutos de *P. persica* que tuvieran un diámetro aproximado de 6 a 6.5 cm de diámetro, esto en la misma zona de estudio y se depositaron en bolsas ziploc con capacidad de 1 kg, para ser trasladadas, para su análisis al Laboratorio de Ecología Química de Insectos del CEPROBI-IPN, en Yautepec Morelos.

### **7.4. Extracción e identificación de compuestos volátiles**

Se emplearon dos métodos para la extracción e identificación de CV, el método de Headspace estático- SPME y HD con SuperQ. El primero consiste de una cámara de vidrio de 1 L de capacidad y de un sujetador que contiene una fibra de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB, 65  $\mu\text{m}$ ). Dentro de la cámara de microextracción se colocaron las hojas y frutos de *P. persica* (144 g). Posteriormente, se introdujo el sujetador dentro de la cámara, exponiendo la fibra PDMS/DVB durante 3 h (Fig. 3A). El otro método se compone de un cartucho de SQ (Altech Associates, EUA), una cámara de vidrio de 1.5 L de volumen y una corriente de aire filtrado con carbón activado producido por una bomba de vacío con un flujo de 1 L/min. Se emplearon 288 g de hojas y frutos de *P. persica* (Fig. 3B).

Posteriormente, los CV capturados por SPME fueron desorbidos térmicamente exponiendo la fibra durante 30 min en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM) (Agilent 7890A) (Fig. 4). Para el caso de aireación dinámica se inyectó 1  $\mu\text{L}$  del extracto obtenido previamente reconcentrado con hidrógeno hasta 200  $\mu\text{L}$ . Para la separación y análisis de los CV se utilizó una columna DB5-MS (30 m, 0.25 mm de diámetro interno, 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de la película). Los parámetros de temperatura del cromatógrafo fueron: 250°C inyector, 60°C temperatura inicial del horno con un incremento de 3°C/min hasta llegar a 240°C, como gas acarreador hidrogeno (2 mL/min) y el

inyector en modo splitless. El espectrofotómetro de masas Agilent 5975C se trabajó en EI (70 EV) en modo SCAN (50 a 400 Da). La identificación de los compuestos se realizó mediante la biblioteca Wiley 275 y NIST 11 tomando en cuenta los compuestos con una similitud de espectros mayor a 80% y se calcularon los índices de retención (IR), a partir de los tiempos de retención (TR), para lo cual se inyectó una serie de alcanos lineales.



**Figura 3.** Métodos utilizados para la extracción de compuestos volátiles de *Prunus persica*. **A.** Headspace estático- SPME. **B.** Headspace dinámico con SuperQ.

### 7.5. Bioensayos en laboratorio

Las pruebas en laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ecología Química de Insectos del CEPROBI-IPN bajo las mismas condiciones de temperatura, humedad e iluminación ( $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$ , 60 W).



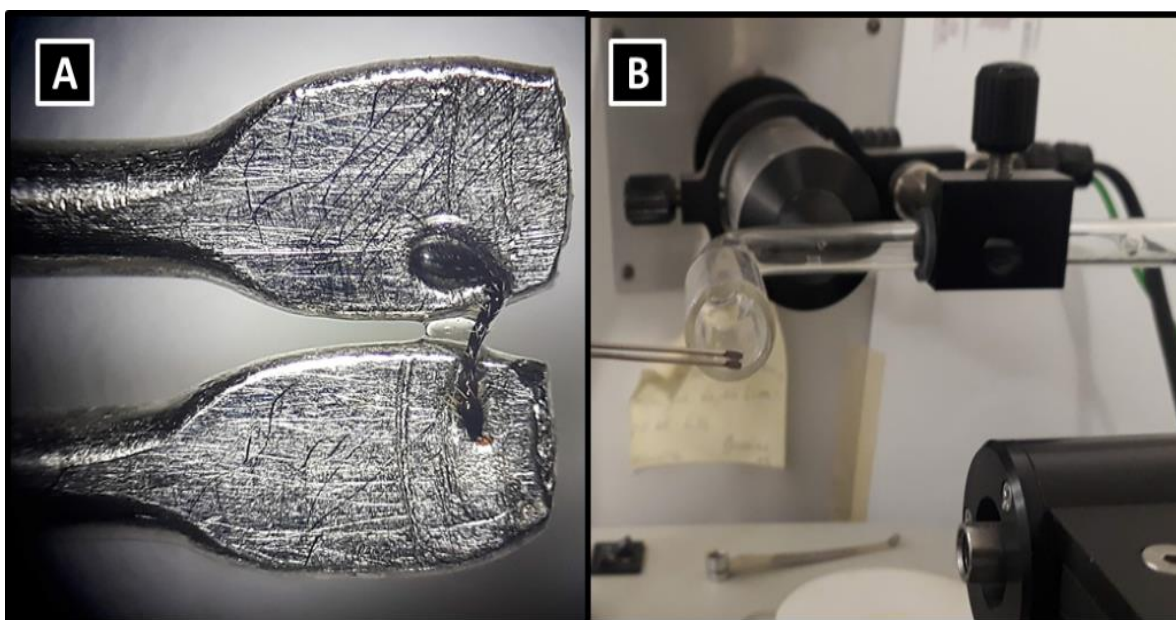
**Figura 4.** Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas Agilent 7890A.

### 7.5.1. Pruebas de electroantenografía

Las pruebas con EAG se efectuaron en un equipo Syntech 420 (Alemania) conformado por la sección de electrodos en donde se colocan las antenas, el preamplificador y el amplificador.

Con la ayuda de un microscopio estereoscópico, pinzas y tijeras entomológicas se escindieron las antenas y con la ayuda de un gel conductor (Syntech) se fijaron a los electrodos (Fig. 5A). Los CV puestos a prueba fueron (Z)-3-hexenil acetato ( $\geq 98\%$  de pureza-Sigma Aldrich) y (R)-(+)-limoneno con ( $\geq 99\%$  de pureza-Sigma Aldrich) a las concentraciones 50, 100, 150, 200 y 250  $\mu\text{L}$ ; para dichas concentraciones se utilizó como disolvente hexano, el cual se empleó como control. Se añadieron 5  $\mu\text{L}$  de cada estímulo a probar por medio de una micropipeta (Drummond) en un papel filtro (Whatman No. 2) de 10 x 5 mm. Cada estímulo se dejó volatilar durante 20 s y el tiempo transcurrido entre cada

estímulo fue de 2 min. La estimulación de la antena se efectuó a partir de una corriente de aire puro humidificado (0.7 mL/min), con una bomba de aire Syntech (Stimulo controler CS-5S), el cual fue dirigido hacia ésta a través de un tubo de vidrio en forma de “L” (Fig. 5B). El papel filtro impregnado con el compuesto se colocó dentro de una pipeta Pasteur, la cual se insertó en uno de los extremos del tubo de vidrio en forma de “L”. Se aplicó un estímulo de 1 s con un flujo de aire de 0.5 L/min (soplo), con el cual se le hizo llegar el estímulo a la antena. Este proceso se realizó en un tiempo máximo de 10 min, ya que pasado este tiempo se notaba la pérdida de señal. Finalmente las respuestas mostradas por las antenas (n=15) se registraron en el software EAGPro, en el que se registraron los valores de despolarización (mV) para el análisis estadístico.



**Figura 5. A.** Antena de adultos de *Macroductylus nigripes* montada en los electrodos. **B.** Tubo en forma de “L” para hacer llegar el estímulo a la antena.

### 7.5.2. Bioensayos con olfatómetro

Estas pruebas se llevaron a cabo entre las 10:00 y las 15:00 hrs, considerando el momento en que los adultos de *M. nigripes* tienen mayor actividad según observaciones de campo. Se empleó un olfatómetro de dos vías en “Y” de vidrio para bioensayos activos, el cual se compone por un tubo central de 14 cm y dos brazos de 13 cm de longitud, con un diámetro de 2.5 cm (Fig. 6). Los brazos se conectan a una cámara de vidrio de 6.5 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro

interior, en la cual se coloca el papel filtro con el estímulo correspondiente. A su vez estas cámaras están conectadas a un flujómetro (Cole Parmer, PMR-010295, USA) que controla la entrada de 500 mL/min de aire filtrado con carbón activado, el flujo de aire se generó con una bomba (Welch Rietsche Thomas, Modelo 2522B-01, EUA). En cada brazo del olfatómetro se colocó cada uno de los estímulos químicos en un papel filtro de 1 x 1 cm y en la parte inferior se colocó un adulto (hembra o macho) de *M. nigripes* para cada bioensayo, según sea el caso. Cada experimento se realizó con una duración máxima de 5 min o hasta que se observó una respuesta por parte de los adultos, para cada tratamiento se realizaron 40 repeticiones por sexo. Las combinaciones que se probaron se encuentran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Combinaciones realizadas en bioensayos con olfatómetro.

<b>Bioensayo</b>	<b>Combinaciones</b>
<b>1</b>	Control vs. (R)-(+)-limoneno 200 µL
<b>2</b>	Control vs. (R)-(+)-limoneno 250 µL
<b>3</b>	Control vs. (R)-(+)-limoneno 300 µL
<b>4</b>	Control vs. (R)-(+)-limoneno 350 µL
<b>5</b>	Control vs. (R)-(+)-limoneno 400 µL
<b>6</b>	Control vs. (Z)-3-hexenil acetato 200 µL
<b>7</b>	Control vs. (Z)-3-hexenil acetato 250 µL
<b>8</b>	Control vs. (Z)-3-hexenil acetato 300 µL
<b>9</b>	Control vs. (Z)-3-hexenil acetato 350 µL
<b>10</b>	Control vs. (Z)-3-hexenil acetato 400 µL

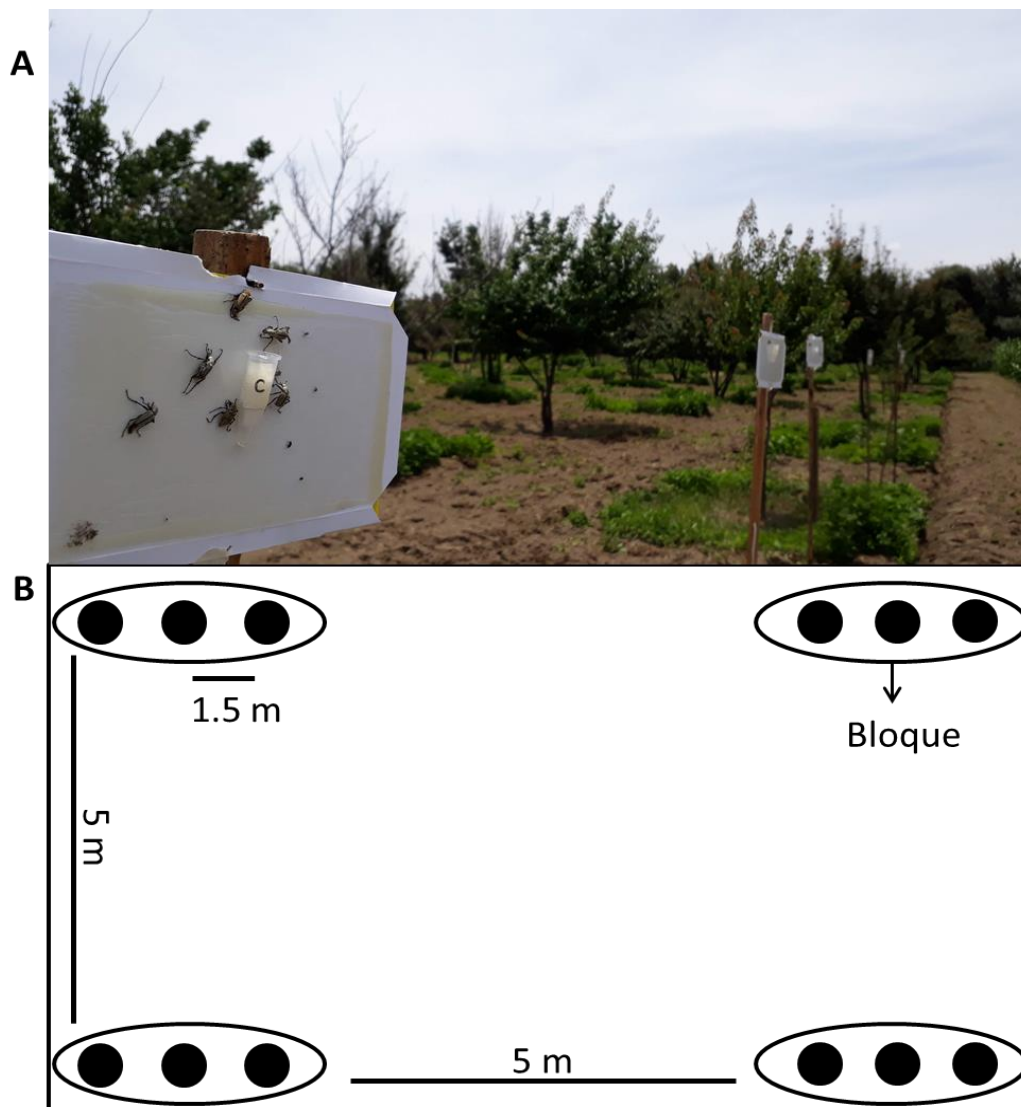
Después de utilizar el olfatómetro, este se lavó con detergente libre de fosfatos (SolBright, México), se enjuagó con agua y hexano HPLC (Caledon, Canadá) y se puso en el horno a 200°C por 60 min.



**Figura 6.** Olfatómetro de dos vías para evaluar la respuesta de hembras y machos de *Macroductylus nigripes* hacia compuestos volátiles considerados en el presente estudio. Luxómetro utilizado para medir la iluminación en el laboratorio de bioensayos.

### 7.6. Pruebas con dispositivos en campo

Ya definido el CV activo, (Z)-3-hexenil acetato en los bioensayos de laboratorio, se procedió a las pruebas de atracción en campo realizadas de 11:00 a 14:00 hrs, periodo en que se observó la mayor actividad de *M. nigripes*. Esto se llevó a cabo en el transcurso de 15 días durante el mes de julio de 2019. El diseño experimental que se utilizó fue de bloques al azar con tres tratamientos y 28 repeticiones, los tres tratamientos que se probaron fueron: a) el compuesto (Z)-3-hexenil acetato a la concentración de 200  $\mu$ L (500  $\mu$ L) depositado en algodón que se colocó dentro de un tubo Eppendorf; b) un control donde se colocó dentro del tubo Eppendorf un algodón con hexano (500  $\mu$ L) y c) testigo (trampa vacía). La unidad experimental consistió en una trampa pegajosa modificada de Arredondo-Bernal *et al.* (1995) de 17 cm x 7 cm de superficie, colocadas en una estaca de madera con una altura de 1.5 m (Fig. 7A) y una distancia entre cada unidad experimental de 1.5 m y una separación entre bloque y bloque de 5 m (Fig. 7B).



**Figura 7.** **A.** Dispositivo con el compuesto (Z)-3-hexenil acetato para las pruebas de atracción de adultos de *Macrodactylus nigripes*. **B.** Esquema de la posición de dispositivos en campo.

### 7.7. Análisis estadístico

Para los resultados obtenidos en las pruebas de EAG se aplicó un ANOVA para medidas repetidas por rangos de Friedman y prueba de Tukey para establecer diferencias entre tratamientos. Los datos obtenidos en bioensayos con olfatómetro se analizaron con una prueba binomial y para la captura con dispositivos en campo se analizarán con la prueba de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba de Tukey para diferencia entre tratamientos; así como la prueba de suma de rangos Mann-Witney para determinar diferencias entre sexos.

## VIII. Resultados

### 8.1. Extracción e identificación de compuestos volátiles

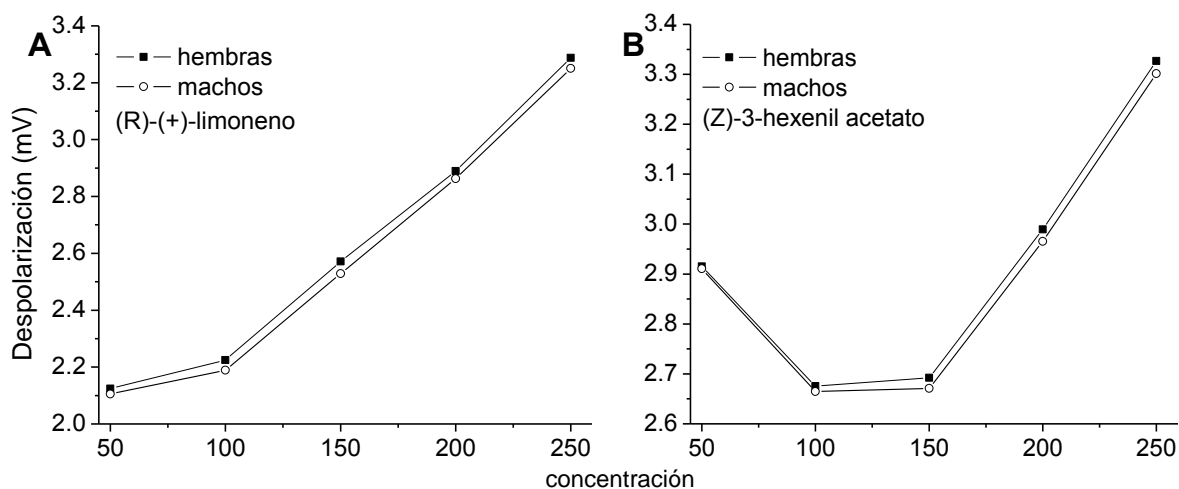
Se identificaron un total de 17 compuestos utilizando dos métodos de extracción en *P. persica* (Tabla 3). De los cuales, con el método de Headspace estático-SPME, el compuesto más abundante fue el  $\beta$ -ocimeno, seguido de trans- $\alpha$ -bergamoteno, pentadecano, cariofileno, heptadecano, dodecano, hexadecano y  $\alpha$ -E-E-farneseno. Así mismo con Headspace dinámico, el compuesto más abundante fue  $\beta$ -ocimeno, seguido de  $\alpha$ -E-E-farneseno, trans- $\alpha$ -bergamoteno, cariofileno, pentadecano, benzaldehído, etenilbenceno,  $\alpha$ -felandreno, (-) $\beta$ -bourboneno, o-cimeno, (R)-(+)-limoneno, (Z)-3-hexenil acetato, humeleno, heptadecano, canfeno y hexadecano.

**Tabla 3.** Compuestos identificados en *Prunus persica* con los métodos Headspace estático- SPME y Headspace dinámico.

Compuesto	Fórmula	No. CAS	IR	SPME TR	HD TR
etenilbenceno	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>	100-42-5	896	-	3.164
canfeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	79-92-5	948	-	4.155
benzaldehído	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	100-52-7	959	-	4.357
(Z)-3-hexenil acetato	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	3681-71-8	1004	-	5.27
$\alpha$ -felandreno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	99-83-2	1007	-	5.348
O-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	527-84-4	1023	-	5.812
(R)-(+)-limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5989-27-5	1027	-	5.936
$\beta$ -ocimeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	13877-91-3	1043	6.343	6.401
dodecano	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	112-40-3	1200	11.701	-
(-) $\beta$ -bourboneno	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	5208-59-3	1350	-	18.866
trans- $\alpha$ -bergamoteno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	17699-05-7	1410	20.125	20.136
$\beta$ -cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	87-44-5	1412	20.249	20.26
humeleno			1448	-	22.659
pentadecano	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	629-62-9	1500	23.764	23.775
$\alpha$ -E-E-farneseno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	502-61-4	1504	23.857	23.868
hexadecano	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	544-76-3	1600	27.589	27.604
heptadecano	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	629-78-7	1700	31.259	31.254

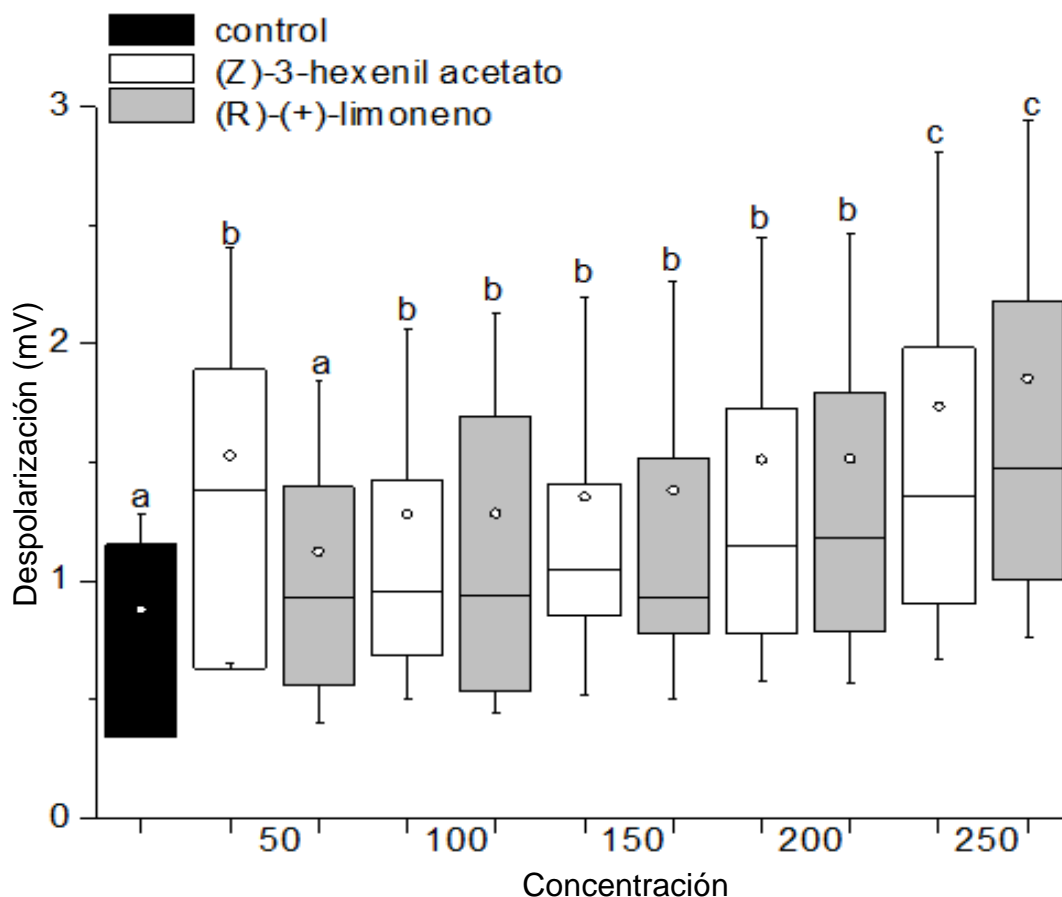
## 8.2. Pruebas de electroantenografía

Para el compuesto (R)-(+)-limoneno tanto en hembras como machos de *M. nigripes* se notó una despolarización de acuerdo al aumento de la concentración, siendo muy similares las respuestas en ambos sexos (Fig. 8A). Por el contrario, para el compuesto (Z)-3-hexenil acetato en ambos sexos se dio una respuesta aproximada de 2.9 mV a la concentración 50  $\mu$ L, para después bajar la respuesta a las concentraciones 100 y 150  $\mu$ L y luego la respuesta fue en aumento en las concentraciones de 200 y 250  $\mu$ L (Fig. 8B).



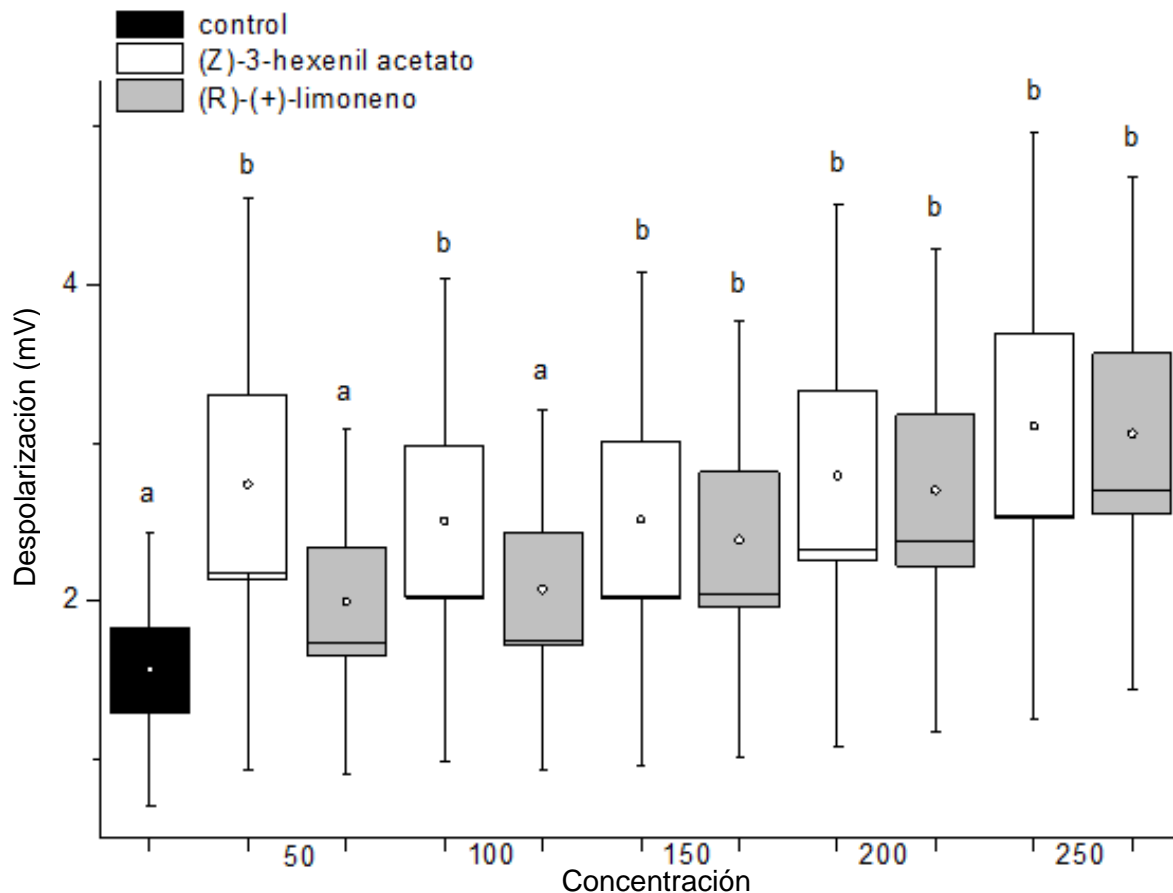
**Figura 8.** Respuesta de la antena de hembras y machos de *Macroductylus nigripes* a los compuestos en diferentes concentraciones **A.** (R)-(+)-limoneno. **B.** (Z)-3-hexenil acetato.

Las hembras de *M. nigripes* respondieron significativamente ( $p > 0.05$ ) para (R)-(+)-limoneno a las concentraciones de 100, 150, 200 y 250  $\mu$ L con respecto al control. Para el caso de (Z)-3-hexenil acetato, se encontró respuesta significativa a las concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250  $\mu$ L con respecto al control (Fig. 9).



**Figura 9.** Respuesta de antenas de hembras de *Macroductylus nigripes* a (Z)-3-hexenil acetato y R-(+)-limoneno a diferentes concentraciones. Letras diferentes significan diferencias significativas basadas en ANOVA para medidas repetidas por rangos de Friedman y prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), ( $n=15$ ).

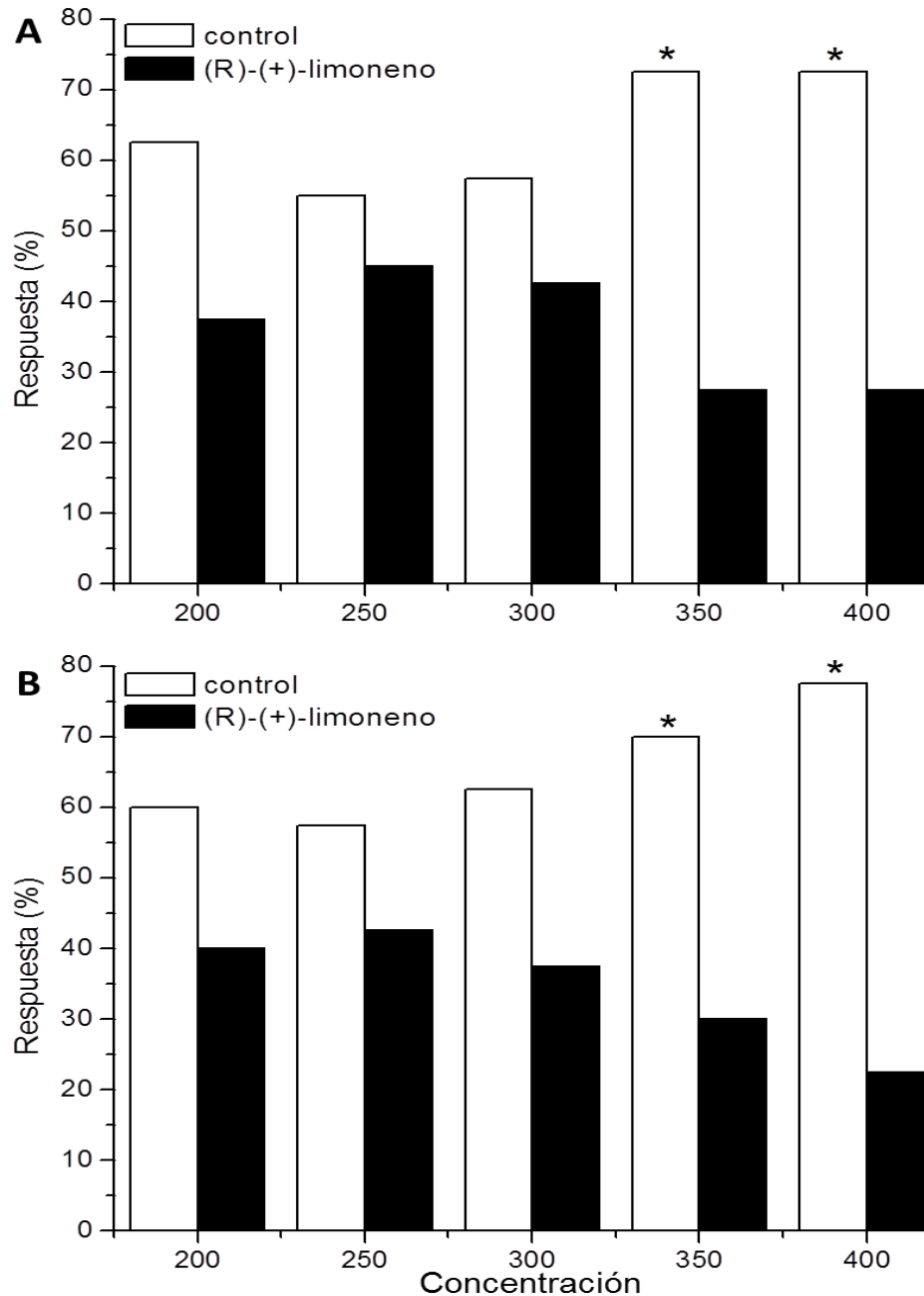
Machos de *M. nigripes* respondieron significativamente ( $p < 0.05$ ) para el efecto de (R)-(+)-limoneno a las concentraciones de 150, 200 y 250  $\mu\text{L}$  con respecto al control. Igualmente para el caso de (Z)-3-hexenil acetato, se encontró respuesta significativa ( $p < 0.05$ ) a las concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250  $\mu\text{L}$  con respecto al control (Fig. 10).



**Figura 10.** Respuesta de antenas de machos de *Macroductylus nigripes* a (Z)-3-hexenil acetato y R-(+)-limoneno a diferentes concentraciones. Letras diferentes significan diferencias significativas basadas en ANOVA para medidas repetidas por rangos de Friedman y prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), ( $n = 15$ ).

### 8.3. Bioensayos con olfatómetro

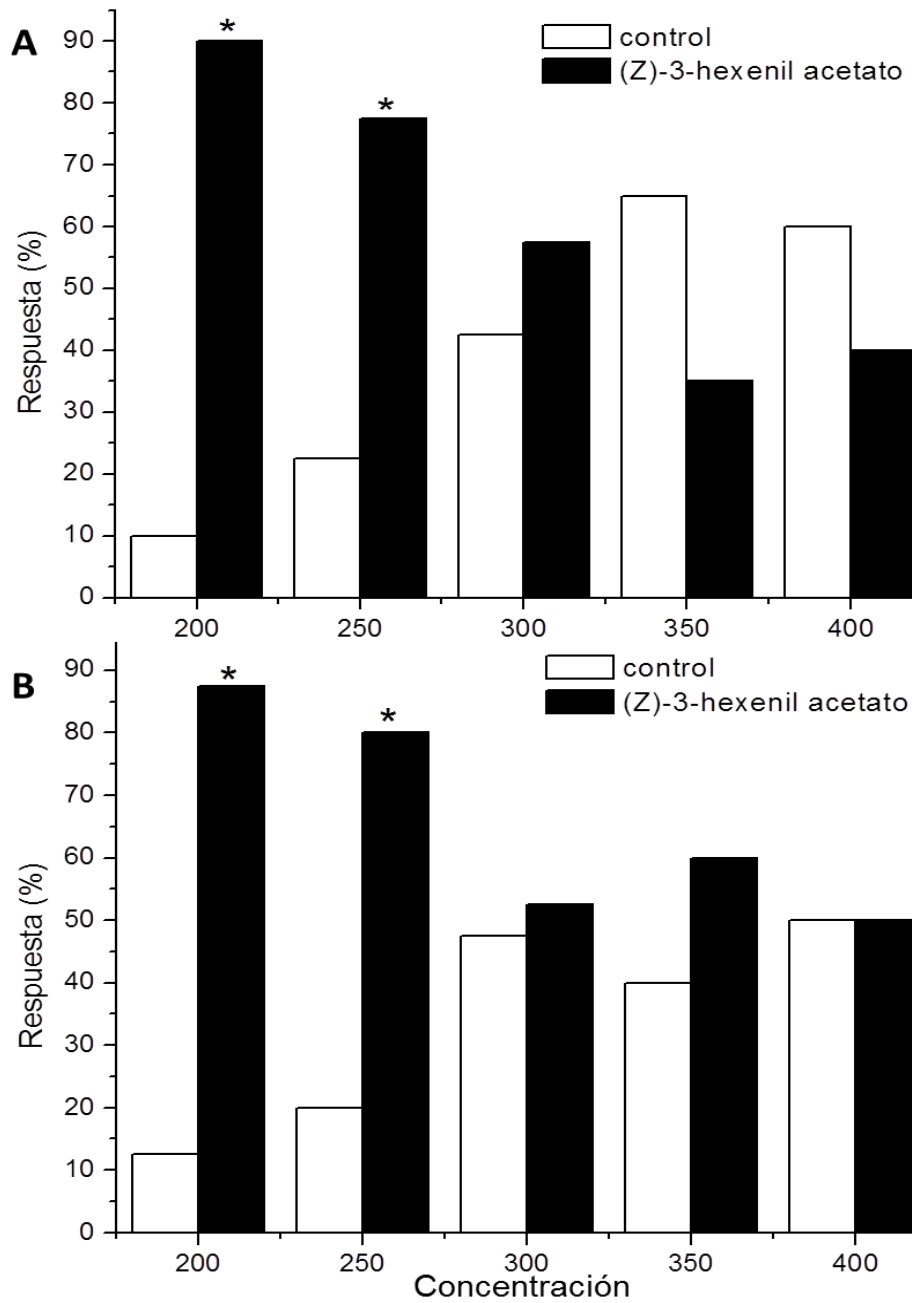
En los bioensayos llevados a cabo con el compuesto R-(+)-limoneno, la tendencia de respuesta fue similar en hembras (Fig. 11A) y machos (Fig. 11B) de *M. nigripes* no presentándose diferencias significativas. Por otra lado, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el efecto de las concentraciones 200, 250 y 300  $\mu\text{L}$ . Sin embargo, para las concentraciones de 350 y 400  $\mu\text{L}$  hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a favor del control, es decir, a mayor concentración del compuesto se notó una menor respuesta hacia este.



**Figura 11.** Respuesta de hembras (A) y machos (B) de *Macrodactylus nigripes* en bioensayos con olfatómetro con (R)-(+)-limoneno a diferentes concentraciones. \*Significa diferencia significativa con prueba binomial ( $p < 0.05$ ), ( $n = 40$ ).

De la misma manera para el compuesto (Z)-3-hexenil acetato, la respuesta de hembras (Fig. 12A) y machos (Fig. 12B) presentó una tendencia de respuesta similar, no obstante, para este compuesto se notó una respuesta significativa ( $p < 0.05$ ) a la concentración 200 y 250  $\mu\text{L}$  con respecto al control. Sin embargo,

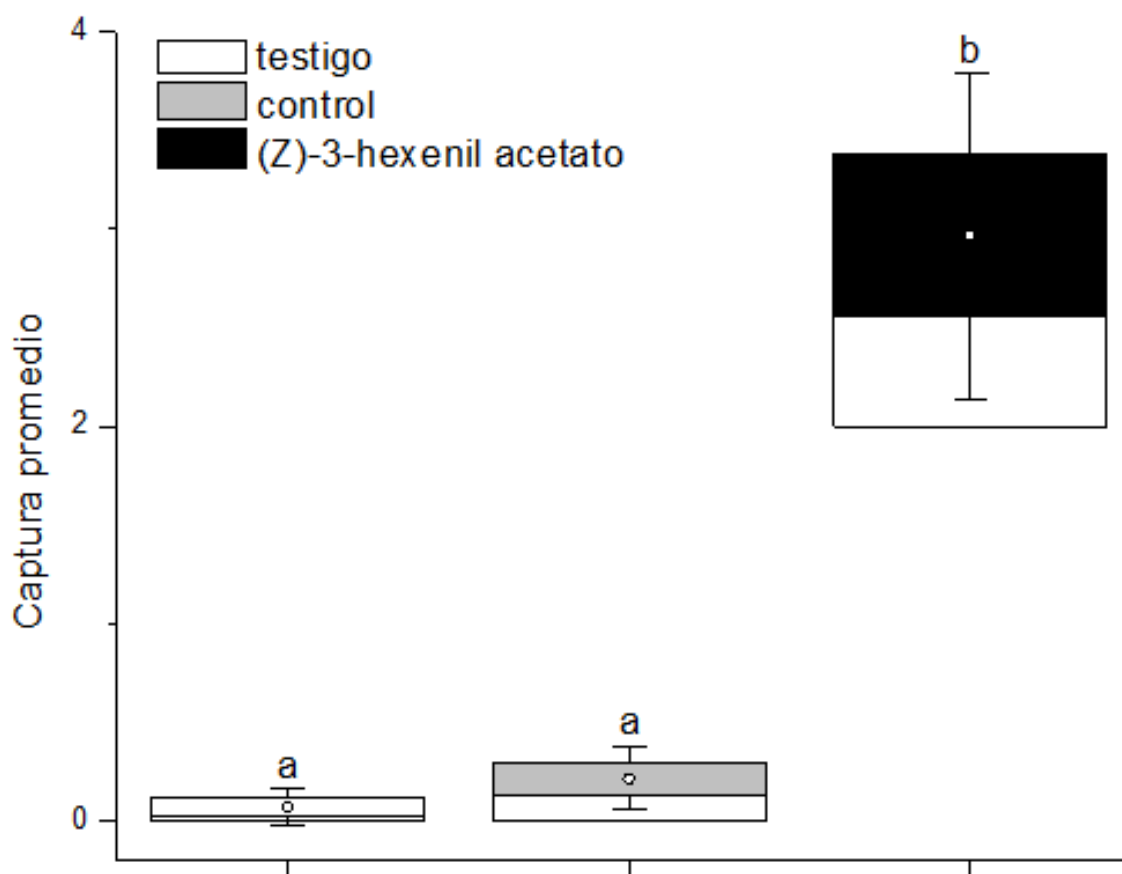
también se observó una disminución de la respuesta a mayor concentración del compuesto, tanto para hembras como para machos.



**Figura 12.** Respuesta de hembras (A) y machos (B) de *Macrodoctylus nigripes* en bioensayos con olfatómetro con (Z)-3-hexenil acetato a diferentes concentraciones. \*Significa decir diferencia significativa con prueba binomial ( $p < 0.05$ ), ( $n = 40$ ).

#### 8.4. Pruebas con dispositivos en campo

Con las pruebas llevadas en campo con el dispositivo de captura, se capturaron un total de 83 organismos de *M. nigripes* de los cuales 33 fueron hembras y 50 machos, no presentándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sexos. Se observaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en la respuesta de *M. nigripes* hacia el efecto de (Z)-3-hexenil acetato, con respecto al control (hexano) y el testigo, no habiendo diferencia estadísticas entre testigo y control (Fig. 13).



**Figura 13.** Captura promedio por día/trampa de *Macroductylus nigripes* a (Z)-3-hexenil acetato (200  $\mu$ L) en dispositivos puestos en campo. Testigo (trampa vacía) y control (hexano). Letras diferentes significan diferencias significativas basadas en la prueba de Kruskal-Wallis y prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), ( $n=28$ ).

## IX. Discusión

### 9.1 Extracción e identificación de compuestos volátiles

En el perfil químico del durazno destacan los terpenos (50%), alcanos (25%) y cetonas (12.50%), siendo los terpenos el grupo más importante y ampliamente distribuido en la naturaleza, ya que además de formar parte del sistema de comunicación química de varios insectos, son comúnmente encontrados en el perfil químico de muchas plantas, teniendo como principal función la de repeler a insectos fitófagos, hongos y patógenos (Rivas *et al.*, 2012; Sarwar, 2012). Nuestros resultados difieren con Dabbou *et al.* (2016) en que extrajeron compuestos de *P. persica* y el perfil químico se compuso principalmente de hidrocarburos seguido de terpenos, alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas y lactonas, esto podría deberse a que la metodología difirió en el tipo de fibra utilizada, tiempo de exposición de la misma, entre otros factores. Los resultados encontrados en este trabajo coinciden con Montero-Prado *et al.* (2013); Li *et al.* (2013), quienes reportaron a (Z)-3-hexenil acetato,  $\beta$ -cariofileno, dodecano, heptadecano, hexadecano, pentadecano,  $\beta$ -ocimeno y o-cimeno en el durazno. Los métodos utilizados en otros trabajos para la extracción de compuestos de *P. persica* han sido principalmente por Headspace estático- SPME, obteniendo los mejores resultados comparados con otros métodos (Sánchez *et al.*, 2012; Dabbou *et al.*, 2016; Seker *et al.*, 2016) y el método de HD sólo se ha reportado por Li *et al.* (2013). Referente a lo anterior, se encontró diferencia en la extracción por Headspace- SPME (7 compuestos) y HD (13 compuestos), esto debido a que ambos métodos difieren en cuanto a sensibilidad y para el caso de Headspace estático- SPME, la extracción va a depender significativamente del tipo de fibra utilizada, por ello, es recomendable combinar diferentes métodos de extracción que permita un análisis completo y representativo de la muestra biológica (Schmelz *et al.*, 2004). De esta forma, en ambos métodos se identificaron el  $\beta$ -cariofileno, heptadecano, hexadecano, pentadecano, trans- $\alpha$ -bergamoteno,  $\alpha$ -E-E-farneseno y  $\beta$ -ocimeno. Tomando en cuenta que *M. nigripes* se alimenta de las hojas y frutos de la planta hospedera, se consideró hacer la extracción de CV de ambas partes simultáneamente. Sin embargo, para futuros estudios y con el fin de

saber cuáles son los CV que emite cada parte de la planta, se sugiere extraerse de manera individual.

## 9.2. Pruebas de electroantenografía

La amplitud de la respuesta antenal de hembras y machos de *M. nigripes* hacia los compuestos fue muy parecida, lo cual difiere con trabajos anteriores como el de Reinecke *et al.* (2005), en el que se obtuvo una mayor respuesta por machos que por hembras de *Melolontha melolontha* a los diferentes compuestos probados. Esta diferencia se puede deber a que se trata de especies con hábitos muy diferentes, ya que el macho de *M. melolontha* presenta antenas con lamelas mucho más grandes que la de las hembras. Así también, Subaharan *et al.* (2013) hicieron pruebas de EAG para la especie *Holotrichia serrata* mostrándose diferencias en ambos sexos. Sin embargo, con relación a los resultados obtenidos en este trabajo, Martínez-Bonilla *et al.* (2015) citan que a pesar de que existe un dimorfismo sexual en cuanto al área lamelar en *M. nigripes*, estos no difieren en cuanto a los tipos de quimiorreceptores que presentan, por tanto, se puede argumentar que hembras y machos de *M. nigripes* tienen la misma capacidad de recepción de estímulos químicos, específicamente aquellos que tienen que ver con la alimentación. Por otra parte, para el compuesto (R)-(+)-limoneno, se encontró una tendencia a subir la despolarización de la antena como consecuencia de subir la concentración, dato que coincide con trabajos anteriores con las especies *Phyllopertha diversa*, *Anomala cuprea* y *Dasylepida ishigakiensis*, (Hansson *et al.*, 1999; Larsson *et al.*, 2001; Wakamura *et al.*, 2009). Contrario a lo anterior, para el compuesto (Z)-3-hexenil acetato no se observó una respuesta antenal ascendente de acuerdo a la concentración, coincidiendo con Ruther *et al.* (2002) quienes probaron el mismo compuesto y se observó que entre la concentración de 10 a 100  $\mu\text{L}$  hubo una disminución de la despolarización de la antena por *Melolontha hippocastani*. Así también la misma tendencia en las especies *M. melolontha*, *Holotrichia parallela*, *Hylamorpha elegans* y *Metabolus flavescens* (Reinecke *et al.*, 2005; Ju *et al.*, 2018; Venthur *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019).

La única referencia que se tiene en melolóntidos sobre la respuesta hacia (R)-(+)-limoneno en pruebas de EAG es el trabajo de Steenhuisen *et al.* (2013) en donde se obtuvo una respuesta significativa de la especie *Atrichelaphinis tigrina* a dicho compuesto con respecto al control, este resultado fue similar al presente trabajo. Para el compuesto (Z)-3-hexenil acetato, se tiene el trabajo de Larsson *et al.* (2001) en el que neuroreceptores olfativos de hembras y machos de *A. cuprea* presentaron respuestas significativas a este compuesto. De manera similar sucede en machos de *P. diversa* y finalmente también en hembras y machos de *M. melolontha* (Hansson *et al.*, 1999; Ruther *et al.*, 2002; Reinecke *et al.*, 2005).

### 9.3. Bioensayos con olfatómetro

En bioensayos con olfatómetro para esta especie son nulas las referencias que se tienen, en México y específicamente para el género *Macrodactylus* Burmeister, se han llevado a cabo bioensayos con olfatómetro con estructuras del aparato reproductor femenino, así también con hembras hechas artificialmente y hembras vivas como estímulo para machos de *Macrodactylus mexicanus* observándose respuestas positivas. Concluyéndose así, que existen compuestos activos que intervienen en la comunicación química sexual de estos insectos (García-Canales y Romero-López, 2017). Sin embargo, con respecto a la comunicación química alimentaria, se reportan respuestas positivas similares de hembras y machos de *M. nigripes* hacia hojas de *Baccharis salicifolia*, *Zea mays* y frutos de *Ananas comosus*. También empleando los extractos de las plantas antes mencionadas (Nieves-Silva y Romero-López, 2016), coincidiendo con este trabajo en que la respuesta de hembras y machos no difirió. Sin embargo, se sabe que al probar toda la planta implica que lleva una mezcla de varios compuestos y por tanto se esperarían una respuesta positiva del organismo. Con respecto al punto anterior, en este caso probando con compuestos individuales específicamente con (R)-(+)-limoneno, se observó una disminución de la respuesta en hembras y machos de *M. nigripes* a las más altas concentraciones. De acuerdo a nuestro único antecedente con este compuesto en Melolóntidos, se hicieron pruebas de EAG y se observó una respuesta de *Atrichelaphinis tigrina*, sin embargo, no se realizaron

posteriormente pruebas en olfatómetro para confirmar una respuesta de atracción (Steenhuisen *et al.*, 2013). Relacionado a esto, se sabe que (R)-(+)-limoneno es uno de los compuestos que se emite por árboles como respuesta al ataque de algunos escarabajos (Faccoli *et al.*, 2011). Apoyando el punto anterior, se ha reportado como repelente efectivo de otros coleópteros de la familia Bostrichidae, Curculionidae y Tenebrionidae (Tripathi *et al.*, 2003; Yoon *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2016), pudiendo ser que se presente el mismo fenómeno en *M. nigripes* de acuerdo a lo observado en bioensayos con olfatómetro. Por otra parte, con esto podemos confirmar que aunque se observe una respuesta en EAG no necesariamente quiere decir, que sea un compuesto atrayente en campo.

En el caso de bioensayos con (Z)-3-hexenil acetato, solo se han reportado bioensayos en olfatómetro con la especie *H. parallela*, en que al igual que este trabajo, se observaron respuestas significativas en hembras y machos (Ju *et al.* 2018). Sin embargo, en el presente trabajo las proporciones de respuestas de ambos sexos de *M. nigripes* fueron similares, contrastando con Ju *et al.* (2018) en el hecho de que se encontró una mayor respuesta de machos que de hembras, interpretando este resultado en que probablemente (Z)-3-hexenil acetato funcione sinérgicamente con alguna feromona sexual.

#### **9.4. Pruebas con dispositivos en campo**

Con relación a las pruebas en campo se observó el mismo patrón que con las pruebas de EAG y olfatómetro debido a que fue similar la atracción de hembras y machos de *M. nigripes* hacia (Z)-3-hexenil acetato. Coincidiendo con lo reportado por Zhang *et al.* (2011), que empleó el mismo compuesto en trampas, observándose respuesta significativa hacia el compuesto con respecto al control y no presentando diferencia de respuesta de hembras y machos de *Hoplia spectabilis*. De manera similar, Ju *et al.* (2018) capturaron en trampas con (Z)-3-hexenil acetato mayor número de machos que de hembras de *H. parallela*, sin embargo, no se observó una diferencia estadística significativa. Así mismo, una mezcla sintética de compuestos de hojas verdes puestas a prueba en campo, resultó atrayente de machos de las especies *M. hippocastani* y *M. melolontha*,

siendo (Z)-3-hexenil acetato uno de estos compuestos (Ruther *et al.*, 2000; Imrei y Toht, 2002). Contrastando con lo anterior, Reinecke *et al.* (2002) en pruebas con trampas, encontraron que el control (solvente) y el (Z)-3-hexenil acetato capturaron similar número de organismos de *M. melolontha*. Pero, dentro de una mezcla de compuestos de hojas verdes, funcionó como atrayente y el 97% de capturas fueron machos. Esto relacionado a que existe un dimorfismo sexual en comportamiento de vuelo, concluyendo que estos compuestos pueden servir como kairomona sexual en *M. melolontha*. Para el caso del género *Macrodactylus*, al igual que en el presente trabajo, para la especie *M. subspinosus*, Williams *et al.* (1990) observaron respuestas significativas hacia la combinación de compuestos puestos a prueba en trampas (ácido hexanoico, ácido valérico, octil butirato). En México, basándose en el trabajo antes mencionado, Arredondo-Bernal *et al.*, (1995) probaron la misma combinación de compuestos en campo, observando respuesta atrayente para las especies de *M. nigripes* y *M. murinus*. Así mismo, Williams *et al.* (2000) encontró respuesta positiva de *M. subspinosus* hacia la combinación de compuestos de ácido hexanoico, ácido valérico, octil butirato, alfa-ionona y trans-2-nonanol, esto con respecto al control.

Aunque en este trabajo se obtuvieron resultados estadísticamente significativos hacia el compuesto con respecto al testigo y control, se considera que la captura promedio de *M. nigripes* fue relativamente baja, esto puede deberse a que se utilizó sólo un compuesto que resultó atrayente en pruebas con olfatómetro. Es decir, donde no existe influencia de algún otro estímulo olfativo, hecho que no se puede controlar en campo y que además ocurren estímulos visuales, olfativos de otras plantas que se encuentran alrededor y con el cual tal vez la cantidad y concentración del compuesto se disipa en el ambiente. Sin embargo, (Z)-3-hexenil acetato es un compuesto con gran perspectiva para el manejo de *M. nigripes*. Para tal fin, se sugiere implementar pruebas con diferentes cantidades y concentraciones del compuesto, además de valorar diferentes tipos de trampas, considerando los factores bióticos y abióticos que rodea el sitio de prueba.

## X. Conclusiones

- Se identificaron un total de 17 compuestos en *P. persica* con los métodos de Headspace estático- SPME y Headspace dinámico, observándose diferencias en ambos métodos, con respecto al número de compuestos aislados e identificados en cada uno.
- Los estímulos químicos puestos a pruebas en EAG, olfatómetro y campo generaron respuestas de despolarización y desplazamiento en las mismas tendencias para hembras y machos de *M. nigripes*. Por tanto, ambos sexos poseen el mismo nivel de percepción de estímulos químicos con actividad alimentaria.
- En las pruebas de EAG se observó respuesta de hembras y machos estadísticamente significativa para (R)-(+)-limoneno y (Z)-3-hexenil acetato.
- Las pruebas en olfatómetro de dos vías mostraron respuesta atrayente de hembras y machos de *M. nigripes* por el compuesto (Z)-3-hexenil acetato, observándose lo contrario para (R)-(+)-limoneno.
- Las pruebas de campo con el compuesto (Z)-3-hexenil acetato mostraron respuestas significativas de ambos sexos de *M. nigripes* con respecto al control.
- Basado en las pruebas de laboratorio y campo el compuesto (Z)-3-hexenil acetato tiene potencial como compuesto atrayente de *M. nigripes*.

## **XI. Recomendaciones**

Se sugiere implementar pruebas de campo con diferentes cantidades y concentraciones del compuesto (Z)-3-hexenil acetato, de forma que se pueda establecer la cantidad y concentración adecuada para atraer el mayor número de *M. nigripes*.

Con la finalidad de hacer un manejo eficaz de esta especie, se recomienda realizar más pruebas de campo y valorar diferentes tipos de trampas, considerando los factores bióticos y abióticos que rodea el sitio de prueba.

## XII. Literatura citada

- Altieri, M. A. 1987. Agroecology. The Scientific Basis of alternative agriculture. Westview Press, Boulder, Colorado. 227 pp.
- Arce-Pérez, R. y M. A. Morón. 2000. Taxonomía y distribución de las especies de *Macrodactylus latreille* (Coleoptera: Melolonthidae) en México y Estados Unidos de América. Acta Zoológica Mexicana, 79: 123-239.
- Arredondo-Bernal, H. C., J. Cibrián-Tovar and R. N. Williams. 1995. Responses of *Macrodactylus* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae) and other insects to food attractant in Tlaxcala and Jalisco, México. Florida Entomologist 78 (1): 56-61.
- Bautista-Lozada, A., A. E. Bravo-Monzón, y F.J. Espinosa-García. 2012. Importancia ecológica de la emisión de compuestos volátiles vegetales. Temas Selectos en Ecología Química de Insectos. 269 p.
- Bengtsson, J. M., S. P. Chinta, Y. Wolde-Hawariat, M. Negash, E. Seyoum, B. S. Hansson, F. Schlyter, S. Schulz and Y. Hillbur. 2010. Pheromone-based mating and aggregation in the sorghum chafer, *Pachnoda interrupta*. Journal of Chemical Ecology, 36: 768-777.
- Camino-Lavin, M., A. Jimenez-Perez, V. Castrejon-Gomez, F. Castrejon-Ayala and R. Brito. 1996. Performance of a new trap for melolonthid scarabs, root pest. Southwestern Entomologist, 21: 325-330.
- Caselín-Castro, S., J. L. Carrillo Sánchez, C. Llanderal Cázares y H. Bravo Mojica. 2003. Incidencia de *Macrodactylus nigripes* bates (Coleoptera: Melolonthidae) en maíz y haba en Tlaxcala, México. Agrociencia, 37(3): 291-297.
- Chen, L., Y. Y. Li and K. M. Shao. 2019. A practical technique for electrophysiologically recording from lamellated antenna of scarab beetle. Journal of Chemical Ecology, 45(4): 392-401.
- Chen, R. Z. and Y. Li. 2011. A novel plant volatile attractant scheme to protect corn in China from the white-spotted flower chafer (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae). Journal of Pest Science, 84(3): 327-335.
- Cherman, M. A. y M. A. Morón. 2014. Validación de la familia Melolonthidae Leach, 1819 (Coleoptera: Scarabaeoidea). Acta Zoológica Mexicana, 30 (1): 201-220.

- Contreras, I. A. 2011. Búsqueda de Redes de Ecología para el desarrollo de semioquímicos aplicables al Manejo Integrado de Plagas en México. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 234 p.
- Cook, S. M., Z. R. Khan and J. A. Pickett. 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*, 52: 375:400.
- Dabbou, S., C. Lussiana, S. Maatallah, L. Gasco, H. Hajlaoui and G. Flamini. 2016. Changes in biochemical compounds in flesh and peel from *Prunus persica* fruits grown in Tunisia during two maturation stages. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100: 1-11.
- Dicke, M. and M. W. Sabelis. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology*, 2(2): 131-139.
- Donaldson, J. M. I., T. P. McGovern and T. L. Ladd. 1990. Floral attractants for Cetoniinae and Rutelinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1298-1305.
- Dudareva, N., E. Pichersky and J. Gershenzon. 2004. Biochemistry of Plant Volatiles. *Plant Physiology*, 135(4): 1893-1902.
- Espíndola, M., R. D. Elías, J. J. Aguilar y E. Campos. 2009. Guía técnica para la producción de durazno en la región sur del estado de México. Folleto técnico, 43.
- Faccoli, M., G. Anfora and M. Tassin. 2011. Stone Pine Volatiles and Host by *Tomicus destruens* (Wollaston) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytidae). *Silva Lusitana*, 19: 61-73.
- Farré-Armengol, G., I. Filella, J. Llusia and J. Pañuelas. 2013. Floral volatile organic compounds: Between attraction and deterrence of visitors under global change. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 15(1): 56-67.
- Finch, S. 1986. Chapter two - Assessing Host-Plant Finding by Insects, 23-63. In: *Insect-Plant Interactions*. Springer Series in Experimental Entomology, New York. 342 p.
- Foster, S. P. and M. O. Harris. 1997. Behavioral manipulation methods for insect pest management. *Annual Review of Entomology*, 42: 123-146.
- García-Canales, S. C. y A. A. Romero-López. 2017. Respuesta de machos de *Macrodactylus mexicanus* Burmeister (Coleoptera: Melolonthidae) en pruebas de olfatómetro y extracción de compuestos con posibles implicaciones químico-ecológicas. *Entomología mexicana*, 4: 443-449.

- Gliessman, S.R. 2002. Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 2002. 359 p.
- Grajales-Conesa, J., V. Meléndez-Ramírez y L. Cruz-López. 2011. Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4): 1356-1367.
- Guidobaldi F. y Guerenstein, 2012. El sistema olfativo de los insectos. 46-71. En: Temas selectos en Ecología Química de Insectos. El colegio de la Frontera Sur, México. 446 p.
- Guo, S., W. Zhang, J. Liang, C. You, Z. Geng, C. Wang and S. Du. 2016. Contact and Repellents Activities of the Essential Oil from *Juniperus formosana* against Two Stored Product Insects. *Molecules*, 21(4): 504.
- Guzmán-Mendoza, R., Z. Ibarra-Miranda y C. Rodríguez-Hernández. 2013. Fertilización y plantas asociadas al maíz para el manejo de frailecillo *Macrodactylus nigripes* (Coleoptera: Melolonthidae). En: Métodos biorracionales para el manejo de plagas. Agricultura sostenible 8. Colegio de postgraduados y Sociedad Mexicana de Agricultura sostenible. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 105 p.
- Hansson, B. S., M. C. Larsson and W. S. Leal. 1999. Green leaf volatiles-detecting olfactory receptor neurones display very sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiological Entomology*, 24(2): 121-126.
- Heath, J. J., R. N. Williams and P. L. Phelan. 2001. High light intensity: a critical factor in the wind-tunnel flight of two scarabs, the rose chafers and Japanese beetle. *Journal of Chemical Ecology*, 27(3): 419-429.
- Hiltpold, I., E. Bernklau, L. B. Bjostad, N. Alvarez, N. E. Miller-Struttman, J.G. Lundgren and B. E. Hibbard. 2013. Nature, Evolution and Characterization of Rhizospheric Chemical Exudates Affecting Root Herbivores. In: Chapter three -Advances in Insect Physiology. Johnson, S. N., I. Hiltpold and J. Turlings (Eds.). 45:1-264.
- Holopainen, J. K. 2004. Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends in Plant Science*, 9(11): 529-533.
- Imai, T., M. Maekawa, S. Tsuchiya and T. Fujimori. 1998. Field attraction of *Hoplia communis* to 2-phenylethanol, a major volatile component from host flowers, *Rosa* spp. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 1491-1497.

- Imrei, Z. and M. Toht. 2002. European common cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) (Coleoptera: Scarabaeidae, Melolonthinae): preliminary results of attraction to green leaf odours. *Novenyvedelem*, 39:19-22.
- Johnson, D. T., B. A. Lewis, R. J. Bryant, R. Liyanage, J. O. Lay and M. A. Pszczolkowski. 2009. Attractants for the green June beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 102(6): 2224-2232.
- Ju, Q., X. Li, X. Q. Guo, L. Du, C. R. Shi and M. J. Qu. 2018. Two odorant-binding proteins of the dark black chafer (*Holotrichia parallela*) display preferential binding to biologically active host plant volatiles. *Frontiers in Physiology*, 18: 1-14.
- Knolhoff, L. M. and D. G. Heckel. 2014. Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 59: 263-278.
- Kumano-Nomura, Y. and R. Yamaoka. 2009. Beetle visitations, and associations with quantitative variation of attractants in floral odors of *Homalomena propinqua* (Araceae). *Journal of Plant Research*, 122(2): 183-192.
- Larsson, M. C., M. C. Stensmyr, S. B. Bice and B. S. Hansson. 2003. Attractiveness of fruit and flower odorants detected by olfactory receptor neurons in the fruit chafer *Pachnoda marginata*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(5): 1253-1268.
- Larsson, M. C., W. S. Leal and B. S. Hansson. 2001. Olfactory receptor neurons detecting plant odours and male volatiles in *Anomala cuprea* beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Insect Physiology*, 47(9): 1065-1076.
- Leal, W. S., M. Ono, M. Hasegawa and M. Sawada. 1994. Kairomone from dandelion, *Taraxacum officinale*, attractant for scarab beetle *Anomala octiescostata*. *Journal of Chemical Ecology*, 20(7): 1679-1704.
- Li, W. Z., L. Yang, X. W. Shen, Y. H. Yuan, M. H. Luo and X. R. Guo. 2013. Prescription screening and field evaluation of broad spectrum attractants of scarab beetles from *Ricinus communis*. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 21:480-486.
- Lingenfelter, E. A., R. N. Williams, L. W. Haynes and D. S. Flicke. 2003. Evaporation rates of five component attractant for the rose chafer (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Entomological Science*, 38:104-110.

- Loera-Muro, A., R. Gutiérrez-Campos, M. Delgado, S. Hernández-Camacho and R. J. Holguín-Peña. 2017. Identification of *Plum pox virus* causing sharka disease on peach (*Prunus persica* L.) in Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 39(1): 83-86.
- Loughrin, J. H., D. A. Potter, T. R. Hamilton-Kemp and M. E. Byers. 1996. Volatile compounds from crabapple (*Malus* spp.) cultivars differing in susceptibility to the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newman). *Journal of Chemical Ecology*, 22(7): 1295-1305.
- Lu, P. F., H. L. Qiao, Z. C. Xu, J. Cheng, S. X. Zong and Y. Q. Luo. 2014. Comparative analysis of peach and pear fruit volatiles attractive to the oriental fruit moth, *Cydia molesta*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 388-395.
- Marín-Loaiza, J. C. y C. L. Céspedes. 2007. Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicación al agro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, (4), 328-351.
- Martínez-Bonilla, O. K., A. A. Romero-López y L. N. Benítez-Herrera. 2015. Morfometría corporal y antenal *Macroductylus mexicanus* y *Macroductylus nigripes* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) y descripción de sus sensilas lamelares. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Entomología* (n. s.), Número especial 1: 81-87.
- Mondragón, J. C., M. R. Fernández, G. S. Pérez y N. H. García. 2007. Guía para cultivar duraznero en Guanajuato, México: INIFAP-Bajío, Folleto técnico. 7-21.
- Montero-Prado, P., K. Bentayeb and C. Nerín. 2013. Pattern recognition of peach cultivars (*Prunus persica* L.) from their volatile components. *Food Chemistry*, 138(1) 724-731.
- Nava, U., M. Ramírez y K. F. Byerly. 2003. Manejo integrado de plagas en sistemas agrícolas sustentables. En: *Agricultura orgánica*. Salazar, E., M. Fortis, A. Vázquez y C. Vázquez (Eds.). Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. México. 258 p.
- Nieves-Silva, E. y A. A. Romero-López. 2016. Olfatómetro portátil para el estudio de interacciones entre “frailecillos” (Coleoptera: Melolonthidae) y plantas. *Entomología Mexicana*, 3: 516-522.
- Ortíz, I., M. A. Ávila-Chávez y L. G. Torres. 2014. Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 4(1): 26-46.

- Pedersen, H., S. Watthana, A. Kocyan and K. O. Srimuang. 2013. Pollination biology of *Luisia curtisii* (Orchidaceae): indications of a deceptive system operated by beetles. *Plant Systematics and Evolution*, 299(1): 177-185.
- Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1992. Field assays to determinate attractancy of natural and synthetic lures to *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Col., Scarabaeidae). *Journal of Applied Entomology*, 114: 305-314.
- Reinecke, A., J. Ruther and M. Hilker. 2002. The scent of food and defence: green leaf volatiles and toluquinone as sex attractant mediate mate finding in the European cockchafer *Melolontha melolontha*. *Ecology Letters*, 5(2): 257-263.
- Reinecke, A., J. Ruther and M. Hilker. 2005. Electrophysiological and behavioural responses of *Melolontha melolontha* to saturated and unsaturated aliphatic alcohols. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1): 33-40.
- Rivas, A. C., P. Monteiro, M. Barros, D. Machado, C. Sales and D. Sales. 2012. Biological activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene enantiomers. *Molecules*, 17(6): 6305-6316.
- Rochat, D., J. P. Morin, T. Kakul, L. Beaudoin Ollivier, R. Prior, M. Renou, I. Malosse, T. Stathers, S. Embupa and S. Laup. 2002. Activity of male pheromone of Melanesian rhinoceros beetle *Scapanes australis*. *Journal of Chemical Ecology*, 28(3): 479-500.
- Rochat, D., P. Ramirez Lucas, C. Malosse, R. Aldana, T. Kakul and J. P. Morin. 2000. Role of solid-phase microextraction in the identification of highly volatile pheromones of two Rhinoceros beetles *Scapanes australis* and *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae). *Journal of Chromatography*, 885: 433-444.
- Rodríguez-Saona, C. 2012. En: Rojas, J.C. y E.A. Malo (Eds.). *Temas selectos en Ecología Química de insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p.
- Rojas, J. C. 2012. El papel del estímulo químico durante la búsqueda de hospedero por Lepidópteros herbívoro. 287-314. En: Rojas, J.C. y E.A. Malo (Eds.). *Temas selectos en Ecología Química de insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p.

- Ruther, J., A. Reinecke, and M. Hilker. 2002. Plant volatiles in the sexual communication of *Melolontha hippocastani*: response towards time dependent bouquets and novel function of (Z)-3-hexen-1-ol as a sexual kairomone. *Ecological Entomology*, 27(1): 76-83.
- Ruther, J., A. Reinecke, K. Thiemann, T. Tolasch, W. Francke and M. Hilker. 2000. Mate finding in the forest cockchafer, *Melolontha hippocastani*, mediated by volatiles from plants and females. *Physiological Entomology*, 25(2): 172-179.
- SAGARPA. 2015. Margenes de comercialización: Durazno. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Sánchez, G., C. Besada, M. L. Badenes, A. J. Monforte and A. Granell. 2012. A non-targeted approach unravels the volatiles network in peach fruit. *Plos One*, 7(6): 1-11.
- Sarandón, S. J. 2002. Incorporando el enfoque agroecológico en las Instituciones de Educación Agrícola Superior: la formación de profesionales para una agricultura sustentable. *Revista Agroecología y Desarrollo Rural Sustentável. EMATERS RS. Brasil*, 3(2): 40-49.
- Sarandón, S. J. y C. C. Flores. 2014. La insustentabilidad del modelo de agricultura actual. 13-41. En : Sarandón S. J. y C. C. Flores (Eds.). *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables*. La Plata: Universidad Nacional de La Plata. Argentina. 466 p.
- Sarwar, A. 2012. Plant design for the separation of various components from turpentine oil. Master of Science Thesis. Forest Products and Chemical Engineering Department of Chemical and Biological Engineering Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden. 46 p.
- Schmelz, E. A., J. Engelberth, J. H. Tumlinson, A. Block and H. T. Alborn. 2004. The use of vapor phase extraction in metabolic profiling of phytohormones and other metabolites. *The Plant Journal*, 39(5): 790-808.
- Seker, M., N. Ekinici and E. Gür. 2016. Effects of different rootstocks on aroma volatile constituents in the fruits of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv. 'Cresthaven'). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 45(1): 1-13.

- Serapio-Jerónimo, M. A., R. Guzmán-Mendoza, C. Herrera-Fuentes y J. Orendain Mendez. 2014. Ciclo de vida y comportamiento de *Macrodactylus nigripes* Bates, 1887 (Coleoptera: Melolonthidae) en Ixtlahuaca, México. *Entomología Mexicana*, 1: 710-714.
- SIAP. 2018. Cierre de producción agrícola por año. SAGARPA. <http://www.siap-gob.mx>.
- Steenhuisen, S. L., A. Jorgens and S. D. Johnson. 2013. Effects of volatiles compounds emitted by *Protea* species (Proteaceae) on antennal electrophysiological responses and attraction of cetoninae beetles. *Journal of Chemical Ecology*, 39(3): 438-446.
- Subaharan, K., A. R. V. Kumar and P. Ganiger. 2013. Electrophysiological responses of chafer beetle, *Holotrichia serrata* (F.) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12(2): 155-159.
- Theis, N. 2006. Fragrance of Canada thistle (*Cirsium arvense*) attracts both floral herbivores and pollinators. *Journal of Chemical Ecology*, 32(5):917-927.
- Tripathi, A. K., V. Prajapati, S. P. S. Khanuja and S. Kumar. 2003. Effect of *d*-Limonene on three stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 96(3): 990-995.
- Vacas, S. 2011. Uso de semioquímicos en el control de plagas. Estudios básicos y de aplicación. Tesis Doctoral. Centro de Ecología Química Agrícola. Universidad Politécnica de Valencia, España, 296 p.
- Van Donk, E., A. Ianora and M. Vos. 2011. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. *Hydrobiologia*, 668, 3-19.
- Venthur, H., J. J. Zhou, A. Mutis, R. Ceballos, R. Mella-Herrera, G. Larama, A. Avila, P. Iturriaga-Vásquez, M. Faundez-Parraguez, M. Alvear and A. Quiroz. 2016.  $\beta$ -Ionone as putative semiochemical suggested by ligand binding an odorant-binding protein of *Hylamorpha elegans* and electroantennographic recordings. *Entomological Science*, 19(3): 188-200.
- Vuts, J. M. B. Kaydan, A. Yarimbatman and M. Toth. 2012. Field catches of *Oxythyrea cinctella* using visual and olfactory cues. *Physiological Entomology*, 37(1): 92-96.

- Wakamura, S., H. Yasui, T. Akino, T. Yasuda, M. Fukaya, S. Tanaka, T. Maeda, N. Arakaki, A. Nagayama, Y. Sadoyama, M. Kishita, A. Oyafuso, Y. Hokama, A. Kobayashi, K. Tarora, T. Uesato, A. Miyagi and J. Osuga. 2009. Identification of (*R*)-2-butanol as a sex attractant pheromone of the White grub beetle, *Dasylepida ishigakiensis* (Coleoptera: Scarabaeidae), a serious sugarcane pest in the Miyako Island of Japan. *Applied Entomology and Zoology*, 44(2): 231-239.
- Wicher, D. 2015. Chapter two—Olfactory Signaling in Insects. In: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 130: 1-131.
- Williams, R. N., T. P. McGovern, M. G. Klein y D. S. Fickle. 1990. Rose chafer (Coleoptera: Scarabaeidae): improved attractants for adults. *Journal of Economic Entomology*, 83: 111-116.
- Williams, R. N., D. S. Fickle and T. P. McGovern. 1993. Attractants for the rose chafer, *Macrodactylus subspinosus* (F.) containing alpha-ionone. United States Department of Agriculture, Patent 5, 202, 124.
- Williams, R. N., D. S. Flicke, T. P. McGovern and M. G. Klein. 2000. Development of an attractant for the scarab pest *Macrodactylus subspinosus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal Economy Entomology*, 93(5): 1480-1484.
- Yasui, H., S. Wakamura, S. Tanaka, K. Harano, F. Mochizuki, A. Nagayama, Y. Hokama and N. Arakaki. 2010. Quantification of 2-butanol as a sex attractant pheromone and related alcohols emitted by individual white grub beetle, *Dasylepida ishigakiensis* (Coleoptera: Sacarabaeidae). *Applied Entomology and Zoology*, 45:129-135.
- Yoon, C., S. H. Kang, S. A. Jang, Y. J. Kim and G. H. Kim. 2007. Repellent efficacy of caraway and grapefruit oils for *Sitophilus oryzae* (Coleptera: Curculionidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 10(3): 263-267.
- Zhang, Q. H., J. H. Ma, Q. Q. Yang, J. A. Byers, M. G. Klein, F. Y. Zhao and Y. Q. Luo. 2011. Olfactory and visual responses of the longlegged chafer *Hoplia spectabilis* Medvedev (Coleoptera: Scarabaeidae) in Qinghai Province, China. *Pest Management Science*, 67(2): 162-169.