



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Generalidades del sistema olfativo de *Macrodactylus nigripes* y comparación de quimiorreceptores antenales de *M. nigripes* y *Macrodactylus mexicanus* (Coleoptera: Melolonthidae)

Tesis presentada como requisito para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

Omar Kareem Martínez Bonilla

ASESOR DE TESIS:

Dr. Angel Alonso Romero López



AGOSTO, 2015

Agradecimientos

Académicos

Al PROMEP, por la beca académica asignada. Agradecimiento especial al Dr. M. Morón por gestionar los permisos de colecta y el estudio de microscopía electrónica de barrido. A T. Laez (INECOL) por su apoyo para la obtención de las imágenes de las lamelas. Para la colecta de los adultos de *Macrodactylus mexicanus* y *Macrodactylus nigripes*, a C. Rojas, R. Arce y E. Rodríguez (INECOL). Agradecimiento también al INECOL por el apoyo brindado a A.A. Romero-López para una estancia de investigación.

Dr. Angel Alonso Romero López, a quien agradezco por la dirección, sugerencias y correcciones de este proyecto, las cuales fueron acertadas y todo fue en pos de que este trabajo fuera llevado a cabo con la mejor “hechura” posible. Agradezco su tiempo y valiosa cooperación y ayuda para despejar todas mis dudas y a pesar de que estaba a punto de “tirar la toalla” me inspiró a seguir por el “camino del saber”.

Al Dr. Salvador Galicia Isasmendi quien mostró la mejor disponibilidad para sacar adelante este proyecto de tesis, a pesar de que no fuera su estudiante como tal. Fue un gran apoyo para realizar distintos análisis, así como sus sugerencias para este escrito.

Agradezco también su cooperación en los trabajos que se llevaron a cabo para el LX Congreso de Entomología, llevado a cabo en la ciudad de Morelia, Michoacán.

Al M. en C. Gonzalo Yanes López quien fue mi primer revisor de esta tesis; por sus conocimientos compartidos; por el haberme dicho “ñoño” en sus clases de Biogeografía y que prestó tiempo de su trabajo en la investigación para revisar este documento.

A la M. en C. Concepción López Téllez, quien me ayudó con sus acertadas recomendaciones y sugerencias para este trabajo tan especial, así como para la presentación del mismo.

Quiero externar mucha gratitud a usted, ya que mostró un gran interés en mi trabajo y se interesó en el “potencial y desempeño académico” de este aprendiz de biólogo.

Al Dr. Aragón, por prestar tiempo de sus labores en este camino del infinito saber, para conllevar un trabajo bien hecho. Es un gran honor estar frente de una eminencia en el campo de la entomología.

A Luz Neri Benítez Herrera, quien aportó mucho de su valioso conocimiento y tiempo para guiarme en la redacción, formato y estética.

A Rosa María Galindo, quien me motivó en cada una de mis actividades dentro de esta hermosa carrera.

A Raquel Trujillo Vélez, quien me apoyó en las colectas para nuestras tesis, así como en la disección de insectos.

A Francisco Javier Pérez Estrada, por haberme apoyado en las labores académicas en las que consiste este arduo trabajo, observaciones bajo microscopio, salidas de campo, redacción, etc.

A Erika Nieves Silva, por ayudar en la colecta de estos increíbles artrópodos, así como en la manera de trabajar otros organismos.

Al Dr. César Antonio Sandoval Ruíz, quien me ayudó y declaró las cualidades académicas que este estudiante ha obtenido.

A los siguientes profesores-investigadores en los respectivos periodos:

Biol. Guillermo Tello Romo (Introducción a la biología general, 1er cuatrimestre. Otoño 2009); M.C. Hugo Molina Arroyo (Desarrollo de habilidades para el pensamiento complejo, 1er cuatrimestre. Otoño 2009); QFB: Guillermo Rueda Luna (Tópicos de química para biólogos, 1er cuatrimestre. Otoño 2009); Dra. Dulce María Figueroa Castro **a** (Biología vegetal I, 2do cuatrimestre. Primavera 2010); Biol. Raúl Rojas García (Biología animal I, 2do cuatrimestre. Primavera 2010); Lic. Ignacio (Lengua extranjera I, 2do cuatrimestre. Primavera 2010); Dra. Dolores López Morales **a** (Estructura y función molecular I, 2do cuatrimestre. Primavera 2010); Biol. José Praxedis Amaro López (Formación humana y social, 2do cuatrimestre. Primavera 2010); Dra. Dulce María Figueroa Castro **b** (Biología vegetal II, 3er cuatrimestre. Otoño 2010); Dra. Dolores López Morales **b** (Estructura y función celular, 3er cuatrimestre. Otoño 2010); Dr. Jesús Vásquez Martínez (Biología animal II, 3er cuatrimestre. Otoño 2010); Dra. Maribel (Biomatemáticas I, 3er cuatrimestre. Otoño 2010); Dr. Mario Cahuantzi (Biomatemáticas II, 4to cuatrimestre. Primavera 2011); M. en C. Dalia Molina Romero (Estructura y función molecular II, 4to cuatrimestre. Primavera 2011); Biol. Eloy Herrera Vásquez (Biología de hongos, 4to cuatrimestre. Primavera 2011); QFB. Rocío Bustillos Cristales (Genética general, 5to cuatrimestre. Otoño 2011); Dr. Jesús Rubén Torres García (Fisiología vegetal, 5to cuatrimestre. Otoño 2011); PhD. Ricardo Enrique Caicedo Rivas **a** (Morfología animal, 5to cuatrimestre. Otoño 2011); M. en C. Montserrat Vásquez Balbuena (Fisiología animal, 6to cuatrimestre. Primavera 2012); M. en C. Ana Lucía Castillo Meza (Teoría de la evolución, 6to cuatrimestre. Primavera 2012); M. en C. Guadalupe Gutiérrez Mayén (Ecología general, 6to cuatrimestre. Primavera 2012); Dr. Héctor Juan García Chávez **a** (Métodos de investigación I, 6to cuatrimestre. Primavera 2012); Dr. Angel Alonso Romero López (Sistemática, 7mo cuatrimestre. Otoño 2012); Dra. Sombra Patricia Rivas Arancibia (Caracterización del ambiente, 7mo cuatrimestre. Otoño 2012); Rolando Rueda Luna (Horticultura, 7mo cuatrimestre. Otoño 2012); M. en C. Carmen Navarro Carvajal (Métodos de investigación II, 7mo cuatrimestre. Otoño 2012); Biol. Pedro Serrano Sánchez

(Teoría de la ciencia, 8vo cuatrimestre. Primavera 2013); Lic. Daniel de Ita Luna (Lengua extranjera II, 8vo cuatrimestre. Primavera 2013); Dra. Adriana Berenice Silva Gómez (Métodos de investigación en laboratorio I, 8vo cuatrimestre. Primavera 2013); M. C. Carlos Castañeda Posadas (Paleontología, 9no cuatrimestre. Otoño 2013); Lic. Ana María (Lengua extranjera III, 9no cuatrimestre. Otoño 2013); Dr. Héctor Juan García Chávez **b** (Métodos de investigación en campo I); Biol. Pedro Serrano Sánchez **b** (Ciencia, sociedad e historia, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Dr. Jesús Martínez Vásquez **b** (Zoología de vertebrados, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); M. en C. Gonzalo Yánes Gómez (Biogeografía, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Dr. Ricardo Enrique Caicedo Rivas **b** (Malacología, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Lic. Ricardo (Lengua extranjera IV, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Dr. Angel Alonso Romero López **b** (Práctica profesional, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Dr. Angel Alonso Romero López **c** (Servicio Social, 10mo cuatrimestre. Primavera 2014); Dr. Angel Alonso Romero López **d** (Investigación experimental I (Tesis I). Verano 2014); Dr. César Sandoval Ruíz (Zoología de invertebrados, 11vo cuatrimestre. Otoño 2014); Dr. Carlos Ruíz Jiménez (Botánica superior, 11vo cuatrimestre. Otoño 2014); Dr. Antonio Fernández Crispín (Manejo y conservación de recursos bióticos, 11vo cuatrimestre. Otoño 2014); M. en C. Héctor Julio García Flores (Innovación y talento emprendedor, 11vo cuatrimestre. Otoño 2014); Dr. Angel Alonso Romero López **e** (Investigación experimental II (Tesis II, 12vo cuatrimestre. Primavera 2015).

A todos ellos por cada una de sus enseñanzas, tiempo empeñado en transmitir su conocimiento, por todo eso y mucho más, gracias. Gracias por aportar partes esenciales para la formación como biólogo y maravillarme con el mundo de la ciencia y de la biología.

Personales

Al “profe” Angel, quien ha fungido como mi padre académico y con un buen desempeño en dicho cargo. Por todos esos consejos y ánimos, por corregirme tantas veces y que fuera eso lo que ahora agradezco y de todo corazón.

Le agradezco de antemano que haya dirigido de esa manera tan única a este aprendiz de biólogo.

Le estimo demasiado por haberme aceptado como su tesista, a pesar de ser un chico “relajiento”, pero creo en lo que me ha dicho usted muchas veces, que soy capaz, y sí, así fue y así será. Reconozco que mi orgullo y mi personalidad arrogante y pesimista puede llevarme a un vacío enorme que no existe, que sólo yo creo esos momentos, pero este round aún no acaba, y al ser de campeonato, es el round decisivo y más emocionante.....

Reitero mi gratitud inmensa hacia usted porque a pesar de que mis ánimos decayeran, siempre tuvo una respuesta coherente para alentarme a seguir adelante y no rendirme, pues usted lo dijo bien, tengo algo que pocos tienen: “espíritu de lucha”.

Siempre recordaré con cariño los días en los que platicábamos sobre cosas muy interesantes y algunas veces, charlas de “cuates”. Sus consejos siempre fueron puntuales y de verdad que gracias por todas esas correcciones, si no hubiera sido por ello, nunca hubieran considerado este humilde trabajo como uno de los más completos para ser tesis de licenciatura que en su vida hayan leído, según lo dicho por los revisores de dicho proyecto.

Profe, muchas gracias por haber creído en mí, por alentarme y levantarme con sus oportunas y acertadas palabras de aliento, de verdad, muchas gracias.

A Luz, por haber sido paciente con mi forma de ser, aunque siempre expresó inconformidad cuando la sentía. Gracias, Lucesita, muchas gracias, te agradezco por todo el tiempo que me soportaste, por ayudarme en los momentos en que me surgían dudas para la elaboración de este y los otros trabajos dentro del grupo “Ecología Química”.

De verdad que fuiste una luz guía para mi. Me encausaste por un buen camino, el del orden y disciplina.

¡¡Muchísimas gracias!!

Rosy. ¿Qué puedo decir de ti? Que eres una mujer muy capaz, que me ha enseñado a andar por el camino del bien, a pesar de que sea muy irreverente.

A la “doctora” Raquel, quien me hacía sentir bien en esos momentos de estrés en el laboratorio, por soportar mis chistes negros y malos y de vez en cuando darme el honor de echarme una “bailada” en el laboratorio o en las salidas de campo.

Raquelita, ¡¡¡¡vales mil!!!!!!

Al “doctor profesor don” Paco, por siempre llegar a trabajar con una cara de felicidad y entusiasmo, y de paso levantar el mío (sin albur). Muchas gracias por esos ratos de risas y pláticas amenas, por siempre estar al pendiente del trabajo del equipo. Paquito, eres un triunfador.

Kika, gracias por también soportar mis ocurrencias, y reírte de mis cosas graciosas. Por el apoyo que me brindaste en cada colecta.

Doc Isasmendi, muchas gracias por ser ese investigador siempre tan responsable y sumamente inteligente. Lo admiro por tener grandes y vastos conocimientos y a pesar de ello, ser una persona sencilla y dispuesta a trabajar.

Gracias por ayudarme en cada uno de los proyectos, a pesar de que usted no estuviera dentro del grupo ni yo inscrito con usted. Eso habla muy bien de la clase de persona que es usted.

Profa Concha, muchas gracias por el apoyo sincero hacia mi persona, por el interés en este pequeño trabajo, así como reírse también de mis actos cómicos.

Profe Gonzalo, desde que tomé Biogeografía, siempre me dijo que era un ñoño y no me dejaba participar en las clases cada que usted preguntaba, ya que soy un ñoño, jeje.

Que ese ánimo y esa alegría que contagia en sus clases nunca decaigan.

A mis amigos

Raquel, Paco, ustedes no sólo son mis compañeros de equipo, son también considerados como mis amigos y estaré cada que me requieran, eso si es que requieren la ayuda de este mequetrefe.

Uryke, tú eres mi mejor amigo, y a pesar de ser esa persona tan gruñona, tienes un corazón noble y sincero. Sabes mucho de mis secretos y has sido testigo de ellos. Gracias por saber guardarlos, por guiarme en muchas cosas, vaya, este tiempo que he vivido contigo (sin que suene comprometedor) ha sido maravilloso.

Tus consejos siempre fueron atinados, me hiciste ver el mundo de otra manera, y más allá de que hacíamos fiestas locas, siempre hubo respeto, pues creo que somos como Goku y Vegeta, nos necesitamos y somos polos opuestos.

Tanto tú como yo, conocemos nuestros lados débiles, y somos tan orgullosos y enojones pero hemos llorado, y somos los únicos que nos hemos visto así.

Tus sentimientos son nobles y eres un gran ejemplo para mí (recuerda que mis Transformers no son juguetes).

Camarindios (antes “mamers”): Pepe, eres muy inteligente, sólo guíate y disciplínate y así llegarás muy lejos; Suri, eres muy inteligente y de los más destacados no sólo de la generación 2009, sino, de todas las que ha habido en esta escuela, la cual considero que te queda chica para tu capacidad; David, ejemplo de disciplina y responsabilidad, fuiste mi entrenador personal y vaya que me gustaron tus rutinas; Peña, otro gran entrenador personal, ¡jarre comander!; Roy, güerito, a pesar de todo, eres una persona que tiene mucho potencial, sabes muy bien lo que debes dejar de hacer y enfocarte.

Wreckers y DJD: César “Rapto” fuiste tú quien me motivó a ingresar a este grupo, y saber que no soy el único con esta gran afición de coleccionar Transformers. Gracias por agrandar mi colección con piezas de extra lujo; Aldo, tus palabras siempre fueron de alguien maduro, muchas gracias por todo; Erick “Terci” a pesar de lo que pasó, yo soy fiel a todos mis amigos y gracias por recibir mis figuras importadas; Arturo, a pesar de la edad siempre hay que tener un corazón de niño pero al mismo tiempo de un hombre decidido, y sabes que te admiro, por eso nunca te pude hablar de “tú”, ante todo, soy respetuoso; Rafa, mi admiración, no cualquiera llega a ese grado, eres el Ratchet de cualquiera que te requiera.

Me gusta compartir un gusto con ustedes y que no sólo hablemos de eso, sino, de lo más trascendental de la vida.

Strikers MMA Team: Cada uno de ustedes me hizo ver que el mundo no se trata de sólo pelear, se trata de pelear por lo que uno quiere, por lo que uno se llena, y sobre todo por quienes se quiere.

Bruno, gracias por darme animarme tanto, por motivarme aún más, por admirarme. Y mira que tú ya probaste las mieles de pelear en el extranjero. Ahora me toca a mí hacerlo.

Coaches Jordan, Raúl, Bullying, Roura aunque no tenga el hash tag en este medio, no hace falta, no hace falta presumir lo obvio.

Mi admiración y respeto para ustedes, son verdaderos guerreros de otro nivel. Nunca rendirse y seguir por lo que viene.

Fer, Gaby, Erick, Alex, Gerardo, Rubén, Toño, Monse, son personas muy valiosas, gracias a ustedes y muchas otras personas por externar su opinión y admiración hacia mí, y miren que yo no he hecho méritos para merecerlo.

Chicos, son muy buenos y más que eso, son muy buenas personas. Crean en sus capacidades y llegarán muy lejos.

A las personas que más me importan

Madre, no tengo palabras para agradecer todo lo que me has dado. Siempre he dicho que me has dado más de lo que necesito, más de lo que merezco.

Siempre me inculcaste el valor de la responsabilidad y a pesar de todos esos regaños en mi infancia y hasta ahora, los agradezco, pues la vida es sumamente hermosa y ése es el mejor regalo de todos.

Todos esos días de desvelo cuando me esperabas a dormir cuando estaba trabajando o estudiando se valoran, pues no cualquiera puede saber lo que es ser madre y padre al mismo tiempo. Esta tesis va dedicada a ti, por todas esas grandes enseñanzas que me has dado.

Mamita chula, te amo, y sabes que a pesar de haber “abandonado el nido” como repetidas ocasiones me lo has mencionado, siempre estarás en mi corazón.

Es duro aceptar que en la familia también se cierran ciclos, pero se abren otros ciclos familiares, que al final unirán nuevamente anteriores ciclos (ya sabes lo que te ha dicho papá).

Estoy seguro que el Kareem niño estaría muy feliz y satisfecho si conociera al actual yo, y es que ese yo, tú lo hiciste, tú lo guiaste hasta el final para llegar a cumplir sus metas.

Por el momento, misión completa.

Lets finish this.

Aldo, más que un agradecimiento es un gran honor poder ser tu hermano, tanto en las buenas como en las malas, mi orgullo siempre ha prevalecido, pero mi amor por ti es verdadero y sabes que cuando me requieras ahí estaré.

Me es muy grato y satisfactorio que siempre habrá apoyo de tu parte y de verdad que todos esos días de juegos interminables los llevaré en mi mente y corazón. Mi querido compañero de travesuras infantiles.

Eres mi hermano y aunque te golpee o haga cosas malas, no permitiré que alguien te dañe, eso jamás.

Padre, qué más puedo decirte, si todo lo sabes de mi sin siquiera haber vivido conmigo todo este tiempo. Después de todo, es como si fuera tu copia con diferente cuerpo.

Me hubiera fascinado estar contigo, pero no sucedió así, sin embargo, por algo pasan las cosas, y en un momento tan crucial en mi vida, apareciste, brindándome tu apoyo incondicional.

Mi amor, admiración y respeto sinceros.

Carnalitas Ángela y Belén, me han enseñado que a pesar de ser tan cruel y despiadado, tengo un lado débil, y ustedes lo han sabido sacar.

Abue Tere “chapis”, siempre tengo un grato recuerdo de todos esos momentos cuando iba a la escuela, la verdad, ninguno de nosotros sería lo que somos sin ti, sin tus sabios consejos, sin esos sacrificios que hiciste en tu juventud.

Todos nosotros fuimos, somos y seremos por nuestra historia, por nuestro pasado, y tú creaste una gran historia, y qué decir de tu familia. Citaré lo que hace poco me dijiste: “La vida es demasiado corta para desperdiciarla en vicios, estupideces, libertinaje, borracheras y demás cosas, pero, ¿qué pasa cuando les das “alas” a los alacranes? Ellos irían y te picarían, sin en cambio, las mariposas son libres porque saben a lo que vienen a este mundo, pero también se pueden cegar por tantas luces. Se vale salir, divertirse, pero eso de ir a despedidas de solteros, tomando como burro, eso ya no es bien visto, eso ya no habla bien de una persona que se crió con principios, ya que sólo te deslumbraste por las luces de la ciudad”. Esas palabras son ciertas, y sumamente llegadoras, tanto que me enojé conmigo mismo por olvidar esos valores enseñados en mi nicho familiar y aún más, mi honor como persona había decaído por realizar dichos actos estúpidos. Pero siempre estás ahí, para darme tu bendición, por quererme tanto, por cuidarme mucho.

Gracias mami Tere.

A la memoria de mi tío Javi, quien siempre me inspiró con su gran intelecto, esa personalidad única que dejó huella en mi persona.

Muchísimas gracias querido tío, a pesar de que no estás con nosotros, siempre te recordaremos con mucho cariño, respeto y admiración.

La verdad que me gustaría que pudieras leer estas palabras, pero sé que sentías lo que yo por ti. Ese último abrazo que nos dimos fue tan grande y protector.

Quién diría que ese chamaco revoltoso que tanto “carajeabas” terminó siendo un gran y fiel seguidor tuyo, te quiero demasiado, tío. Jamás olvidaré las palabras a tu manera, que al final llegarían a todos tus hermanos y sobrinos, llevándolos al éxito profesional y familiar, y éste punto fue el que más ha recaído en todos y en mí, pues siempre dabas tiempo para pasar con tu querida familia cada que podías descansar de tu arduo trabajo.

Eres mi súper héroe celestial.

A mi amada Jessi. Tú eres esa personita especial que llevo en mi corazón y en mi mente, y aunque no lo creas, esta tesis también se debe gracias a ti, pues todas esas charlas acerca de ello, me inspiraron aún más.

Jessi, no tengo palabras para agradecerte todo lo que has hecho por mí, sólo sé que te amo con todo mi corazón y cuenta conmigo. Si algún día necesitas de mi ayuda, estaré al pendiente de lo que requieras. Tus palabras siempre las llevo conmigo porque estuviste cuando estaba a punto de caer, pero me levantaste con todo ese apoyo que me brindaste, especialmente esa dulce sonrisa que ilumina mi vida con una inmensa luz de felicidad.

Gracias por darme la oportunidad de conocer el amor, el amor que nunca había sentido fuera de mi familia. Gracias por este gran sentimiento que has logrado en mí. Simplemente..... Eres genial y maravillosa, eres la chica más hermosa del mundo.

A veces las personas decimos cosas que no sentimos cuando nos enojamos, y la verdad es que tú más que nadie has visto más allá de las mentiras que digo al enojar, ya que esta carrera la elegí sabiendo que es muy bonita, pero también requiere de mucho esfuerzo como todo lo bueno.

Te dedico este trabajo porque aunque no muestreaste conmigo, no hiciste análisis estadísticos, etc. Me ayudaste en mucho con tus palabras y ese enorme optimismo que tienes y que tanto te caracteriza. De verdad que fuiste tú quien me levantó de esta caída.

Si tuviera que elegir un compañero de equipo, te elegiría a ti por ser una persona tan valiosa, responsable, dedicada, entusiasta, optimista. Jamás te rindes, y eso admiro de ti, y creo que por eso hacemos una linda pareja ¿o no? También por eso mismo eres mi compañera perfecta; juntos hacemos un equipo sin igual.

Gracias por siempre ser tan linda y por tener las palabras adecuadas para todo.

Te amo, mi estrella deslumbrante.

Doy gracias a la vida por nacer en cuna de ganadores, de mujeres y hombres inteligentes. Siempre he dicho con muchísimo orgullo que mi familia es triunfadora, tíos, primos, todos. Eso es obvio, todos fuimos encausados por padres buenos, que siempre se esforzaron en cada momento para darnos lo mejor, para brindarnos un

futuro digno, y está de más decir que nos han dejado la mejor herencia de todas: el estudio.

Por último, sólo quiero decir que en todo momento habrá algo que nos haga sentir que hemos perdido, sin embargo, no es así, pues existen personas que detrás nuestro están para apoyarnos y darnos su apoyo y aliento.

La vida está llena de momentos buenos y malos, pero los malos son los que nos hacen valer más, pues pocos son quienes tienen la capacidad y el valor para salir adelante.

No importa qué tan fuerte seas o qué tan fuerte golpees, la vida siempre golpeará más fuerte. Lo que importa es qué tanto estás dispuesto a soportar todos esos golpes y levantarte sin rendirte.

Aprende a ser como el fénix, renace de las cenizas para ser un nuevo ser en todo sentido, sin dejar de lado tu esencia.

La naturaleza es más sabia de lo que se cree, poco a poco perdemos a los amigos, perdemos todo, perdemos y perdemos hasta que decimos “¿eh, qué estoy haciendo aquí? ¡Ya no tengo motivos para continuar!” Sin embargo, siempre hay algo por lo que debemos continuar, y eso se llama VIVIR.

Mi padre me dijo una vez “un camino no es camino si no hay piedras, pero está en ti si tropiezas por ir de prisa o por no llevar cautela”. Estas palabras fueron las que me dieron el plus para terminar este proyecto de vida y culminar una etapa muy importante, así como seguir por lo que venga en el largo y sinuoso camino de la vida.

ÍNDICE

Resumen	1
Asimismo, se encontraron diferencias significativas con las medidas del área de las LD y LP entre hembras y machos de <i>M. nigripes</i> , así como en las LM y LP entre ambos sexos de <i>M. mexicanus</i> . En lo referente a la morfología externa de los quimiorreceptores antenales, se identificaron cuatro tipos básicos en la cara interna y externa de las lamelas de ambas especies y de ambos sexos: Placoideos (PLAS), basicónicos (BAS), auricílicos (AUS) y celocónicos (COS), además de mecanorreceptores quéticos (CHS) y tricoideos (TRS) en la periferia de todas las lamelas. Los PLAS fueron los más numerosos y con una distribución más homogénea, y tuvieron diferencias muy significativas en ambas caras de las lamelas de <i>M. nigripes</i> y <i>M. mexicanus</i>	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Generalidades sobre los coleópteros Melolonthidae	3
2.2. Generalidades del género <i>Macroductylus</i>	4
2.3. Características generales de <i>Macroductylus mexicanus</i> (Burmeister)	6
2.4. Características generales de <i>Macroductylus nigripes</i> (Bates)	7
2.5. Dimorfismo sexual en melolóntidos	8
2.6. Generalidades del sistema olfativo, antenas y receptores antenales: relevancia en la comunicación química de los melolóntidos	9
2.7. La electrofisiología como técnica para la confirmación de respuestas olfativas	11
3. Justificación	13
4. Hipótesis	14
5. Objetivos	14
5.1. General	14
5.2. Particulares	15
6. Metodología	15
6.1 Obtención del material biológico	15
6.2. Estudio anatómico del sistema olfativo de <i>Macroductylus nigripes</i>	15
6.3. Medición del cuerpo, antenas y lamelas de los adultos de ambas especies ...	16
6.4. Preparación de las lamelas para la microscopía electrónica de barrido	16
6.5. Conteo de los receptores antenales, morfometría de cada tipo de receptores y elaboración de mapas de distribución	17
6.6. Obtención de registros electrofisiológicos en <i>Macroductylus nigripes</i>	17

6.7. Análisis estadístico.....	18
7. Resultados.....	18
7.1. Estudio anatómico del sistema olfativo de <i>Macrodactylus nigripes</i>	18
7.2. Medidas del cuerpo y de los apéndices antenales de hembras y machos de <i>M. mexicanus</i> y <i>M. nigripes</i>	21
7.3. Longitud de las lamelas.....	22
7.4. Ancho de las lamelas	24
7.5. Área de las lamelas	25
7.6. Tipos de quimiorreceptores en <i>Macrodactylus nigripes</i> y <i>Macrodactylus mexicanus</i>	27
7.7. Distribución de quimiorreceptores en lamelas de ambas especies	29
7.8. Comparación del número de los quimiorreceptores de la cara interna y externa en macho y hembra de ambas especies.....	33
8. Registros electrofisiológicos de <i>M. nigripes</i> hacia estímulos químicos	37
9. Discusión	41
Estudio anatómico del sistema olfativo de <i>Macrodactylus nigripes</i>	41
Dimensiones del cuerpo y estructuras antenales	42
Área de las lamelas en las especies estudiadas	43
Tipos de quimiorreceptores en <i>Macrodactylus nigripes</i> y <i>Macrodactylus mexicanus</i>	44
Comparación del número de los quimiorreceptores de la cara interna y externa en macho y hembra de <i>M. nigripes</i> y <i>M. mexicanus</i>	45
11. Literatura citada	49

Resumen

El sistema olfativo de los machos de *Macroductylus nigripes* (Bates) está constituido por los “cuerpos de seta” (CS), los cuales, son un par de estructuras lobuladas que flanquean al protocerebro medio y a los lóbulos olfativos (LO). Todas estas estructuras se ubican en la región central del cerebro del insecto. Los CS, a su vez, están formados por las células de Kenyon, el cáliz y el pedúnculo. Se observaron también los nervios antenales y los nervios ópticos en las zonas correspondientes a las antenas y ojos compuestos, respectivamente. En torno a estos resultados, se registraron las respuestas olfativas de otros machos de esta especie a diferentes estímulos químicos (extractos de la cámara genital de las hembras y hexano como control). Por medio de un equipo electrofisiológico, se obtuvieron respuestas positivas por parte de los machos, principalmente hacia el extracto de cámaras genitales. Se realizó un estudio comparativo de las antenas de adultos de *M. nigripes* y *Macroductylus mexicanus* (Burmeister), en la búsqueda de dimorfismo sexual a este nivel. Se observaron diferencias estadísticas significativas en el tamaño del cuerpo de los adultos hembras y machos de ambas especies, así como en la longitud del flagelo y maza antenal. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas de ambos sexos de *M. mexicanus* para la longitud de las lamelas distal (LD), media (LM) y proximal (LP). En el caso del ancho de las LM y LP, éstas presentaron diferencias estadísticamente significativas entre hembras y machos de esta especie.

Se encontraron diferencias significativas en *M. nigripes* para la longitud de las LM y LP, siendo mayor la longitud de las lamelas en los machos. *M. mexicanus* presentó diferencias significativas en las LD, LM y LP, siendo mayor la longitud de éstas en machos.

Las hembras de *M. nigripes* presentaron la mayor longitud de las lamelas en contraste con las de *M. mexicanus*, y se obtuvieron diferencias significativas estadísticamente en las LD y LM. Los machos

Para el ancho de las lamelas de *M. nigripes*, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para las tres lamelas, siendo mayor el ancho de éstas en los machos de esta especie. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la LD en la comparación del ancho de las lamelas de machos.

Asimismo, se encontraron diferencias significativas con las medidas del área de las LD y LP entre hembras y machos de *M. nigripes*, así como en las LM y LP entre ambos sexos de *M. mexicanus*. En lo referente a la morfología externa de los quimiorreceptores antenales, se identificaron cuatro tipos básicos en la cara interna y externa de las lamelas de ambas especies y de ambos sexos: Placoideos (PLAS), basicónicos (BAS), auricílicos (AUS) y celocónicos (COS), además de mecanorreceptores quéticos (CHS) y tricoideos (TRS) en la periferia de todas las lamelas. Los PLAS fueron los más numerosos y con una distribución más homogénea, y tuvieron diferencias muy significativas en ambas caras de las lamelas de *M. nigripes* y *M. mexicanus*.

1. INTRODUCCIÓN

Los escarabajos de la familia Melolonthidae, conocidos coloquialmente como “melolóntidos”, “mayates”, “escarabajos de mayo”, “sanjuaneros” o “escarabajos de junio”, son un grupo de insectos que son considerados como plagas de importancia económica, sobre todo en su etapa larvaria (“gallinas ciegas”) donde se alimentan de diversos cultivos de importancia económica (Arce y Morón, 2000). Dentro de este grupo están incluidos los integrantes del género *Macroductylus*, para los cuales se han buscado alternativas en torno al manejo de las especies consideradas como plagas, con el uso de insecticidas. Sin embargo, no se ha obtenido una solución definitiva a este problema y se ha recurrido a alternativas, como el manejo etológico basado en infoquímicos (Romero-López, 2012). Para estar en condiciones de concretar un manejo de este tipo, es indispensable contar con información del esquema de comunicación química sexual (Romero-López *et al.*, 2010a) de las especies implicadas en las afectaciones de los cultivos agrícolas. Uno de los elementos de dicho esquema que puede brindar incluso información sobre cuestiones taxonómicas y filogenéticas, es el de las estructuras de recepción, las cuales en este grupo de insectos se concentran en los conocidos como sensilas o receptores antenales (Leal, 1998; Romero-López *et al.*, 2010a). Por ello, en el presente estudio se considera importante el obtener información sobre la anatomía del sistema olfativo de un melolóntido, tomando como modelo a un adulto del género *Macroductylus*, así como realizar pruebas de electrofisiología con el fin de obtener resultados que muestren las respuestas olfativas a estímulos químicos. A partir de ello, la morfología de dichas estructuras y en particular, el interés se centra en ofrecer información básica sobre los diferentes tipos, distribución lamelar y número de los quimiorreceptores ubicados en las lamelas de hembras y machos de *Macroductylus nigripes* (Bates) y *Macroductylus mexicanus* (Burmeister).

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades sobre los coleópteros Melolonthidae

De acuerdo a Morón *et al.* (2014), la familia Melolonthidae comprende un número considerable de coleópteros (conocidos como “melolóntidos”) de formas, tamaños y hábitos variados. En general, los integrantes de este grupo presentan antenas formadas por ocho a diez artejos, de los cuales tres a siete corresponden a la maza antenal; El *canthus* ocular siempre presente; Abdomen con seis esternitos visibles y siete pares de orificios respiratorios, tres o cuatro en las regiones pleurales, dos o tres en los extremos esternales y uno en la región tergal; Placa pigdial completamente expuesta o cubierta en parte por los élitros; Los parámetros genitales masculinos bilobulados o fusionados; Dimorfismo sexual diverso, desde muy acentuado hasta poco perceptible; Coloración diversa, de origen químico, físicoquímico o físico; Las larvas son escarabeiformes con antenas formadas por 4 artejos alargados; Epifaringe asimétrica; Maxila con galea y lacinia fusionadas. Placas respiratorias con muchas oquedades o cribiformes; Patas posteriores largas; Pupa exarata y adéctica; Abdomen con nueve segmentos, cuatro pares de orificios respiratorios funcionales anulares y cuatro pares rosetiformes atrofiados, en ocasiones con órganos dioneiformes y urogomorphi (Morón *et al.*, 2014). El tamaño corporal es variable; los adultos tienen una longitud total de 3 a 130 mm, mientras que la anchura máxima de los élitros es de 1.8 a 51 mm y la expansión alar entre 8 y 230 mm. La longitud dorsal es de 12 a 225 mm y la anchura del abdomen de 2 a 40 mm.

Los melolóntidos están presentes en todos los hábitats continentales, insulares y algunos lénticos, excepto en ambientes con hielos perennes. Se encuentran desde el edafón hasta el dosel; los adultos se alimentan con hojas, flores, tallos, frutos, polen, néctar, savia, corteza y detritus vegetal, rara vez depredan adultos o inmaduros de coleópteros, homópteros o formícidos. Las larvas consumen raíces, humus o xilema. Varias especies se asocian con nidos de termitas y hormigas y madrigueras de roedores (Morón *et al.*, 1997; Morón *et al.*, 2014). Se trata de insectos holometábolos, con huevo, tres estadios larvales, pupa y adulto. El ciclo de vida es usualmente anual, bianual o trianual (Deloya y Morón, 1994; Morón *et al.*, 2014).

Con respecto a la ecología y comportamiento de estos insectos, el interés se ha centrado recientemente en aspectos de su comportamiento precopulatorio, principalmente la fase relacionada con la participación de sustancias químicas. De ahí surge el término “comunicación química sexual”, el cual se refiere a la fase del comportamiento precopulatorio que se encuentra mediado por infoquímicos (atrayentes o feromonas sexuales) producidas y liberadas por las hembras, la recepción de éstas por parte de los machos y el acercamiento físico de la pareja, previo a la cópula (Romero-López *et al.*, 2010a). A la fecha, los reportes acerca de esto predominan para integrantes del género *Phyllophaga* (Romero-López 2012; Romero-López y Morón, 2013), aunque ya hay algunos datos preliminares para integrantes del género *Macrodactylus* en aspectos de la composición de sus atrayentes sexuales (Romero-López *et al.*, datos no publicados) y sobre el potencial sitio productor de éstos (Benítez-Herrera *et al.*, 2015).

2.2. Generalidades del género *Macrodactylus*

El género *Macrodactylus* está integrado por los conocidos como “alfilerillos” o “rose chafers” (en lengua inglesa) en su estado adulto y “gallinas ciegas” en su etapa larvaria. Estos insectos forman parte de la subfamilia Melolonthinae e integran el género más representativo de la tribu Macrodactylini en Norte y Centroamérica. Se diferencia de los géneros *Isonichus* y *Ceraspis* (cercanos filogenéticamente) por su cuerpo alargado, largo y esbelto, de 7.0 a 13 mm de largo por 2 a 4.5 mm de anchura humeral, largas y delgadas patas que dan nombre al género (Arce-Pérez y Morón, 2000). Los adultos de *Macrodactylus* son de tamaño pequeño (8 a 13 mm), de colores variados y cubiertos de pelos dispuestos uniformemente o formando líneas regulares sobre los élitros. Presentan cabeza alargada, ovalada, plana; clípeo apenas rebordeado, poco estrecho y redondeado; ojos pequeños, poco convexos muy distantes del protórax; antenas de nueve segmentos, el tercero, cuarto y quinto alargados, casi iguales, el sexto muy pequeño; Protórax más largo que ancho, fuerte y anguloso en los lados; Escutelo bastante grande, redondeado atrás; Élitros más anchos que el protórax en su base, planos, alargados y estrechos adelante y atrás; Patas muy largas y delgadas; coxas intermedias distantes; tibias anteriores

distantes; tibias anteriores bidentadas en la punta, alargadas; las cuatro posteriores con espinas; tarsos delgados, ciliados, los cuatro posteriores muy largos, las uñas largas y hendidas en la punta. El quinto segmento abdominal no es más largo que los precedentes y el sexto es más pequeño (Morón, 1995; Morón *et al.*, 1997). Los miembros de este género presentan un marcado dimorfismo sexual a nivel corporal. El carácter más común es la forma del abdomen, mientras que en las hembras es ancho, muy convexo y voluminoso, con pequeñas sedas dispersas o acumuladas en la parte central, en los machos es estrecho y cóncavo en una vista lateral, con hileras oblicuas de sedas espiniformes cortas o largas a cada lado de la línea media de los esternitos II-V. La placa pigdial permite diferenciar machos y hembras; en los primeros siempre es larga, oval y subtriangular, mientras que en las hembras es más corta, ancha y triangular, en ocasiones abovedada y fuertemente proyectada (Arce-Pérez y Morón, 2000) (Figura 1).

El tiempo de apareamiento del estado adulto depende del final de las lluvias y del comienzo de la floración de cultivares. En forma general los adultos se empiezan a observar a partir del mes de abril, registrándose las más altas poblaciones en los meses de mayo y junio (Arce-Pérez y Morón, 2000). Los integrantes del género *Macroductylus* presentan una generación al año y el tiempo de oviposición hasta el estado adulto es de más o menos 295 a 310 días. La hembra deposita sus huevos en el suelo alrededor de las raíces de las plantas. Los huevos tienen un periodo de incubación de 13 a 15 días, luego nacen pequeñas larvas blancas del tipo escarabeiforme de aproximadamente 2 mm de largo (Arce-Pérez y Morón, 2000). Se conocen tres estadios larvarios. La pupa es del tipo libre o exarata y dura más o menos 24 días antes de pasar al estado adulto (Arce-Pérez y Morón, 2000). Todas las especies del género tienen un ciclo de vida y hábitos semejantes (Arce-Pérez y Morón, 2000).

En estado larvario se alimentan de raíces, humus (materia orgánica en descomposición). El estado adulto se alimenta principalmente de hojas, flores, polen, partes internas de plantas y frutos jóvenes de diferentes especies de rosáceas y hierbas. Presentan hábitos agresivos de alimentación sobre el follaje

hasta dejar libre la nervadura y tiene esta conducta con los frutos (Arce-Pérez y Morón, 2000).

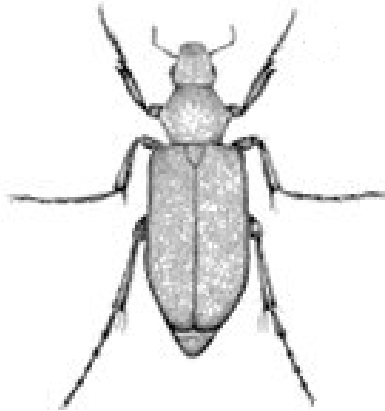


Figura 1. *Macroductylus* sp.

2.3. Características generales de *Macroductylus mexicanus* (Burmeister)

El adulto de esta especie, después de emerger de la muda pupal, tiene muy poca movilidad, la cual aumenta poco a poco hasta que el desarrollo se completa. Sus antenas son bien desarrolladas; la cabeza y el tórax tienen un color gris-verdoso y muestran pubescencia, una vez desarrollado por completo; el abdomen es de un matiz claro; los élitros ligeramente más oscuros que este último (Sifuentes, 1985). Sus patas presentan una coloración rojiza, distintiva de la especie (Arce y Morón, 2000). La hembra deposita sus huevos en el suelo, en grupos de cinco a treinta, a una profundidad de 15 a 30 cm; éstos son de forma esférica u oval y color blanco-opaco, con aspecto de pequeñas perlas (Sifuentes, 1985). La larva viven en el suelo, cuando recién emergidas es blancas y brillantes; la cabeza es grande, en proporción al tamaño del cuerpo, éste es delgado, casi cilíndrico y con infinidad de pubescencia alrededor. Los tres pares de patas torácicas bien desarrolladas y con pelos erectos (Sifuentes, 1985). Se observan tres estadios larvarios con diferente tiempo de maduración cada uno y durante este lapso la larva es semejantes en forma y coloración. El tamaño de la cabeza permanece igual durante cada estadio mientras que el cuerpo aumenta en grosor y longitud y se va endureciendo internamente, en especial la región posterior. Las patas se oscurecen

gradualmente. Antes de cambiar de estadio, la larva tienen el cuerpo semiaplanado y un poco más ancho que la cabeza y al pasar al siguiente, ésta crece el doble (Sifuentes, 1985). El ancho de la cápsula cefálica de las larvas es de 2.45 a 2.50 mm; tiene una longitud en la región dorsal del cuerpo de 23 a 25 mm. La superficie de la cápsula cefálica es casi lisa, amarillo claro. Las uñas tarsales son similares, alargadas con ápice agudo, cada cojinete con un seta elongado. La hendidura anal tiene forma de “Y” (Aragón-García *et al.*, 2010).

La larva del último estadio, aproximadamente un mes antes de transformarse en pupa, se decoloran hasta verde amarillenta o pálida y van disminuyendo su actividad (Sifuentes, 1985). La pupa formada recientemente es de un tinte blanco-amarillento y la muda del último estadio permanece pegada a la punta del abdomen. Algunas partes del insecto como la cabeza, el protórax y los élitros que están hacia la parte ventral se oscurecen gradualmente, en cambio el abdomen conserva el mismo color. Después la pilosidad de las patas se transparenta (Sifuentes, 1985).

2.4. Características generales de *Macroductylus nigripes* (Bates)

El adulto de *M. nigripes* presenta un cuerpo de 9 a 12 mm de longitud total por 3 a 4 mm de anchura humeral, cuerpo intensamente oscuro o negro, cubierto por densa vestidura gris o amarillo pálido, (algunas ocasiones los fémures y tibias son amarillento rojizas, pero siempre oscuras), los élitros, con ligeras estrías cubiertas por la vestidura; el pedúnculo antenal siempre amarillo-rojizo (Arce-Pérez y Morón, 2000).

Las características de la larva de *M. nigripes* son similares a las de *M. mexicanus*; sólo se diferencian por el número de setas frontales y el tamaño de los espiráculos abdominales, además de la presencia de seis a siete heli en la epifaringe y seis a ocho pali en cada palidia (Aragón-García *et al.*, 2010).

Los adultos están activos durante mayo, junio, julio agosto, septiembre y noviembre. En ambientes templados a fríos, húmedos o subhúmedos, situados entre los 1.000 y 2,500 m de altitud. Los hospederos conocidos para esta especie (especies vegetales que pueden servirle como alimento, refugio o como sitio de oviposición), son *Baccharis conferta* (“hierba del carbonero”), *Senecio salignus* (“jarilla”), *Zea*

mays (maíz) *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Phaseolus coccineus* (ayocote), *Vicia fava* (haba), *Medicago sativa* (alfalfa), *Malus pumila* (manzano), *Pyrus communis* (pera), *Prunus pérsica* (durazno), *Rubus idaeus* (frambuesa), *Rubus adenotrichus* (zarzamora) y *Brassica oleraceae* (brócoli) (Arce-Pérez y Morón, 2000).

2.5. Dimorfismo sexual en melolóntidos

Las antenas de los insectos tienen gran relevancia en la comunicación química, búsqueda de hospederos y en la recepción de atrayentes y feromonas sexuales (Schneider, 1964). Son el principal canal de entrada sensorial, incluyendo receptores de feromonas, volátiles varios, vapor de agua y dióxido de carbono, así como de otros estímulos de tipo acústico y mecánico (Schneider, 1964). Generalmente, los receptores antenales son considerados como el principal sistema de comunicación en los insectos. De acuerdo a su función, estos receptores pueden ser clasificados como en quimiorreceptores, mecanorreceptores y termohigroreceptores (Zacharuk, 1980; 1985). En diferentes insectos, el dimorfismo sexual puede observarse en sus antenas, lo cual es asociado en la mayoría de las ocasiones con la presencia de sus diferentes órganos sensoriales. En particular, las antenas de los machos presentan una estructura más compleja. Para ciertos grupos de insectos, el área de superficie de la antena bipectinada de los machos es mucho mayor que el área de superficie de la filamentosa de las hembras; este dimorfismo ha sido considerado como una ventaja del macho de contar relativamente con más órganos sensoriales, sensilas o receptores antenales para localizar a su pareja (Schneider, 1964).

En el caso de los machos de la mayoría de las especies de melolóntidos, éstos presentan estructuras específicas diferenciadas para la búsqueda de pareja y para el comportamiento sexual. Estas diferencias se presentan en las “almohadillas” tarsales, espolones tibiales, hileras de pelos tarsales, en la placa pigidial y en antenas (Morón, 1986; Leal, 1998; Romero-López y Morón, 2013). El dimorfismo sexual de estos coleópteros puede ser sumamente evidente en las antenas, como sucede con los melolóntidos *Polyphylla petiti* (Guerín) (Morón, 2010) y *Phyllophaga macrocera* (Bates) (Romero-López y Benítez-Herrera, 2014). Los machos de ambas

especies presentan antenas formadas por siete antenómeros aplanados de gran tamaño, cinco veces más grandes que los tres antenómeros basales; en cambio, las hembras cuentan con antenas formadas por cinco antenómeros tan grandes como los antenómeros basales restantes. Por estas características se sugiere que la superficie olfativa del macho es más amplia que la de la hembra y por ende, con mayores elementos morfológicos para la recepción de los compuestos químicos (Romero-López y Morón, 2013). De acuerdo a lo reportado por Romero-López *et al.* (2010a), las especializaciones antenales involucradas en la detección de feromonas son generalmente visibles y distinguibles. El dimorfismo sexual es marcado y esto se ve reflejado en el tamaño y forma de las antenas de varias especies de melolóntidos donde la liberación de feromonas sexuales es importante. Esto es evidente en las antenas de varias especies de melolóntidos, en la que los machos tienen antenas más largas que las hembras (Romero-López *et al.*, 2010b; Romero-López y Benítez-Herrera, 2014). Las diferencias sexuales en la longitud de las antenas son en su mayoría evidentes en la maza lamelar, que es la zona sensorial más importante para la captación de sustancias químicas para los individuos pertenecientes a la familia Melolonthidae (Romero-López *et al.*, 2010b). Aunado al dimorfismo sexual a este nivel, se sabe que en lo referente al tamaño de las lamelas, la morfología externa, número y la distribución de los receptores antenales, existen diferencias evidentes entre hembras y machos de estos insectos. En *Phyllophaga obsoleta* (Blanchard) se encontró dimorfismo sexual en todos los aspectos mencionados, específicamente en el número y distribución de las sensilas de tipo placoideo (Romero-López *et al.*, 2004), mientras que en *Phyllophaga ravidata* (Blanchard) y *Phyllophaga opaca* (Moser) hubo diferencias estadísticas significativas en el tamaño de las lamelas y en los tipos de sensilas (Romero-López y Morón, 2013).

2.6. Generalidades del sistema olfativo, antenas y receptores antenales: relevancia en la comunicación química de los melolóntidos

La Ecología química es un área de estudio que estudia las relaciones ecológicas entre dos o más organismos y las sustancias químicas involucradas en las

interacciones intra e interespecíficas (Ruther *et al.*, 2002). Las sustancias que provocan reacciones fisiológicas o de comportamiento en los individuos interactuantes son conocidas como infoquímicos, los cuales son producidos y liberados al ambiente por un individuo y causan una reacción específica en otros miembros de la misma especie (Dicke y Sabelis, 1988). La comunicación química sexual de los melolóntidos se fundamenta en la liberación y recepción de infoquímicos conocidos como atrayentes o feromonas sexuales (Romero-López *et al.*, 2005; 2010). Los machos de estos coleópteros presentan una alta sensibilidad a estas sustancias químicas incluso en bajas concentraciones gracias a sistemas sensoriales muy sensibles y específicos, que se encuentran en sus antenas (Maïbéche-Coisne *et al.*, 2004). Las sustancias liberadas por las hembras de melolóntidos son captados en las sensilas localizadas en ambos lados de la lamela antenal del macho (Romero-López y Morón, 2013). La única información de este tipo para los integrantes de *Macroductylus* se restringe a lo reportado recientemente por Romero-López *et al.* (2014); en este trabajo, se describen los tipos de receptores antenales identificados en diferentes especies de la tribu Macroductilyni. Sin embargo, para especies de *Macroductylus* distribuidas en México no existen antecedentes sobre sus receptores antenales; lo más relacionado es el estudio de Martínez-Bonilla *et al.* (2014) sobre la anatomía del sistema olfativo de *M. nigripes*. En los melolóntidos, la mayoría de estos receptores antenales pueden ser observados como modificaciones cuticulares de tres tipos: láminas con poros huecos, láminas con poros sobre cavidades y estructuras en forma de “pelos” (Meinecke, 1975). No obstante, en estudios recientes se ha ido afinando la identificación con base en la morfología cuticular externa de estas sensilas. Ochieng *et al.* (2002) y Romero-López *et al.* (2004, 2010; 2013a) han propuesto una clasificación en la que pueden identificarse hasta seis tipos de sensilas en diferentes especies de *Phyllophaga* y de la subfamilia Hopliinae: tricoideas, quéticas, basicónicas, celocónicas, auricílicas y placoideas, siendo las cuatro últimas las principales involucradas en la recepción de infoquímicos. De ahí el nombre de quimiorreceptores. Esta información ha resultado fundamental para una mayor comprensión del esquema de comunicación química sexual de dichas especies.

Larsson *et al.* (1999) informaron que el inicio del procesamiento olfativo para la recepción de feromonas sexuales es muy probable que se presente en los quimiorreceptores placoides (PLAS). Estos receptores son los más abundantes y con una distribución más homogénea en la superficie interna de las lamelas de melolóntidos, como el caso de las lamelas de los machos de *P. obsoleta* (Romero-López *et al.*, 2004).

2.7. La electrofisiología como técnica para la confirmación de respuestas olfativas

La electrofisiología se define como el estudio de las señales eléctricas que se encuentran en los sistemas biológicos. Esta ciencia se divide en dos tipos: intracelular, cuando el registro se realiza en el interior de la célula y extracelular, cuando éste se lleva a cabo fuera de la célula, es decir, el electrodo de registro no llega a penetrar en esta última, con lo que la señal obtenida es más pequeña (Acín-Viu, 2007). Las técnicas electrofisiológicas permiten estudiar la relevancia que tiene para los insectos la detección olfativa de compuestos volátiles. La mayor parte de las referencias sobre la aplicación de estas técnicas están relacionadas con lepidópteros, ya que han sido aplicadas principalmente al estudio de feromonas sexuales (Wadhams, 1992; Sánchez- Osorio *et al.* (2007). En los coleópteros, los estudios se refieren principalmente a feromonas de agregación y cairomonas (Sánchez- Osorio *et al.*, 2007). Todas éstas, se enfocan en las respuestas electrofisiológicas de las antenas.

La electroantenografía (EAG) es una técnica que permite medir las respuestas de las células receptoras de las antenas de un insecto (hembra o macho) a compuestos biológicamente activos (Roelofs, 1984). El método EAG permite separar las sustancias químicas irrelevantes de los volátiles que son potencialmente activos para determinada especie de insecto, cuando se acopla a un cromatógrafo de gases. Este método proporciona una estimación del proceso de transducción que ocurre a través de la antena del insecto cuando una feromona o compuestos activos son aplicados (Fescemyer y Hanson, 1990). Por ello, es considerada como una

herramienta fundamental para el análisis de diversos infoquímicos, principalmente de las feromonas sexuales (Visser,; Leal, 1998). De acuerdo a lo propuesto por Roelofs (1984); Visser (1979); Leal y Mochizuki (1993), esta técnica se fundamenta en la exposición de una antena recién escindida de un insecto (en contacto con solución fisiológica) a un flujo de aire continuo. Por medio de electrodos de cloruro de mercurio /mercurio o de tungsteno, se capta y transmite el estímulo químico incorporado al flujo de aire hacia un equipo de registro (amplificador y osciloscopio), en donde se reciben las respuestas de la antena y se representan gráficamente. El método EAG ha sido utilizado principalmente en lepidópteros, aunque se han ampliado los registros para otros grupos de insectos. Así, se respaldan los estudios en los que se encuentran involucrados respuestas antenales a volátiles que modifican el comportamiento de oviposición, atracción a un hospedero y cópula (Roelofs, 1984).

Para melolóntidos se cuenta con algunos reportes, de entre los cuales destacan los correspondientes a *Popillia japonica* (Newman) (Adler y Jacobson, 1971), *Paranomala cuprea* (Hope) (Leal et al., 1992), *Paranomala orientalis* (Waterhouse) (Zhang et al., 1994), *Paranomala albopilosa sakishimana* (Nomura) (Leal et al., 1994a), *Paranomala octiescostata* (Burmeister) (Leal et al., 1994b; Leal, 1999), *Phyllopherta diversa* (Waterhouse) (Hansson et al., 1999), *Holotrichia parallela* (Motschulsky) (Leal et al., 1993) y *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Zhang et al., 1997; Ochieng et al., 2002). Para especies distribuidas en México, sólo se cuenta con datos de EAG para extractos de la cámara genital de *P. obsoleta* (Romero-López y Arzuffi, datos no publicados). A la fecha, no se tiene registro de EAG para integrantes del género *Macroductylus*.

Por todo lo anterior, en el presente trabajo de tesis se plantea el obtener información básica sobre el sistema olfativo de los melolóntidos, desde el punto de vista anatómico como electrofisiológico, considerando como modelo de estudio a una especie mexicana del género *Macroductylus*. Lo anterior se complementará con un estudio sobre la morfología de los receptores antenales de *M. nigripes* y *M. mexicanus* y así determinar la existencia de dimorfismo sexual a este nivel, específicamente en el tamaño, número y distribución de los quimiorreceptores. Se

pretende que esto sume a lo que se sabe acerca de la comunicación química sexual de *Macrodactylus* de México y del grupo Melolonthidae, en general.

3. Justificación

En fechas recientes se ha puesto mayor énfasis en la determinación de los patrones de comportamiento de los insectos y de las sustancias asociadas a éstos (Renou y Guerrero, 2000; Romero-López, 2012). Tomando en cuenta que los melolóntidos son considerados como agentes nocivos para la agricultura en diversas regiones de México, se han implementado diversas técnicas para el manejo de poblaciones de estos insectos. Sin embargo, a la fecha no se ha encontrado una solución consistente y definitiva. El uso de infoquímicos puede ser una alternativa en este sentido, ya que la identificación y síntesis de los compuestos que constituyen a los atrayentes y feromonas sexuales de algunas especies de otras regiones del mundo han permitido el diseño de trampas para la detección y monitoreo de poblaciones de melolóntidos, obteniendo resultados alentadores (Romero-López, 2012).

El interés del presente estudio se centra en obtener información del sistema olfativo de estos insectos, a partir de la comparación de la distribución y número de los quimiorreceptores involucrados en la recepción de los infoquímicos en *M. nigripes* y *M. mexicanus*. Esto porque se sabe que los receptores antenales son exclusivos de cada especie y selectivos para la recepción de estas sustancias, es decir, un tipo es específico para captar atrayentes y feromonas y otro tipo para responder a volátiles de plantas (Leal, 1998; Hansson *et al.*, 1999; Romero-López *et al.*, 2013). Esta información puede ser utilizada para la planeación de una estrategia sustentable de manejo de melolóntidos “plaga” basada en el uso de infoquímicos, ya que se contribuiría a la sustentabilidad en los ecosistemas naturales, estrategias que se han visto en programas de manejo integrado de plagas (MIP) donde se utilizan trampas a base de la síntesis del atrayente, con el fin de mantener un equilibrio en la población de insectos plaga. Del mismo modo, la información que se obtenga del estudio puede sentar las bases para complementar aquellos aspectos taxonómicos y filogenéticos del grupo que requieren aún atención.

4. Hipótesis

1. El sistema olfativo de *M. nigripes* presenta el mismo arreglo que el de otros melolonthidos, el cual se fundamenta en la presencia de estructuras ubicadas en la región central del protocerebro, conocidas como “cuerpos de seta”.
2. Existe dimorfismo sexual en el tamaño del cuerpo, las antenas y lamelas en *M. nigripes* y *M. mexicanus*, siendo éstos mayores en machos.
3. Existen diferencias en la morfología y tipo de quimiorreceptores en machos y hembras de ambas especies, siendo más evidente este dimorfismo en los machos de ambas especies.
4. Existe dimorfismo sexual a nivel de quimiorreceptores: los de tipo placoideo son más abundantes y con una distribución más homogénea en las lamelas de los machos de ambas especies, en comparación con las de las hembras.
5. Los machos de *M. nigripes* presentan respuestas electrofisiológicas hacia estímulos químicos provenientes de extractos de la cámara genital de hembras.

5. Objetivos

5.1. General

Obtener información básica sobre la comunicación química sexual y el dimorfismo sexual del grupo Melolonthidae, con el estudio morfológico y electrofisiológico del sistema olfativo de un representante del género *Macroductylus*, además del comparativo de los quimiorreceptores antenales de *M. nigripes* y *M. mexicanus*.

5.2. Particulares

5.2.1. Localizar morfológicamente en adultos de *M. nigripes* el sitio en el cual podría iniciar la respuesta olfativa de los melolóntidos.

5.2.2. Comparar el tamaño del cuerpo, antenas y lamelas de hembras y machos de *M. nigripes* y *M. mexicanus*.

5.2.3. Identificar morfológicamente los distintos tipos de quimiorreceptores antenales de ambos sexos de *M. nigripes* y *M. mexicanus*.

5.2.4. Comparar el número y distribución lamelar de los quimiorreceptores antenales de hembras y machos de ambas especies.

5.2.5. Comparar el número y distribución de los quimiorreceptores del tipo placoideo de las lamelas, en ambos sexos de las especies de estudio.

5.2.6. Evaluar la respuesta de *M. nigripes* en pruebas de electrofisiología utilizando como estímulos químicos: cámara genital de hembras y hexano.

6. Metodología

6.1 Obtención del material biológico

Los adultos de *M. mexicanus* y *M. nigripes* fueron colectados manualmente en cultivos de maíz y terrenos baldíos de la comunidad de San Pablo del Monte, Tlaxcala. El material que se logró obtener, se separó por sexos y se identificó taxonómicamente de acuerdo a los criterios establecidos por Arce-Pérez y Morón (2000).

6.2. Estudio anatómico del sistema olfativo de *Macroductylus nigripes*

Se emplearon siete machos de esta especie, por cuestiones prácticas, considerando que éstos son los receptores de los atrayentes sexuales que liberan las hembras (Romero-López *et al.*, datos no publicados). Con ayuda de un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ 660), se realizó una abertura con pinzas de cirugía óptica en la parte terminal del protórax de cada adulto, dejando de lado el abdomen; después se fijó con dos alfileres delgados el protórax en la cámara de

disección. Con las pinzas rectas de cirugía óptica, se hizo un corte vertical y transversal de la cutícula de la cápsula cefálica; lo anterior con la finalidad de apreciar con detalle los tejidos internos. Inmediatamente después se colocaron 3 ml de solución fisiológica para insectos (Zorovic y Hedwig, 2011) en la cámara de disección, de manera que cubriera todo el tejido interno del escarabajo. Esto para que no se dañara el tejido del ejemplar y pudiera apreciarse con detalle bajo el microscopio. Con ayuda de disectores de policarbonato (<1 mm; Sutter Instruments BF150-110-10), se removió el tejido adiposo que sobresalía de la cápsula cefálica, de tal forma que pudiera ser visible el tejido nervioso. Posteriormente, se extrajo gran parte de los órganos y estructuras sistema olfativo de cada individuo.

6.3. Medición del cuerpo, antenas y lamelas de los adultos de ambas especies

Se obtuvo la longitud total de los adultos (desde el clípeo hasta el pigidio), de la maza lamelar y de la antena completa, con la ayuda de un vernier (Truper/7245) de 12 adultos por sexo. Las tres lamelas denominadas como proximal (LP), media (LM) y distal (LD) (Romero-López *et al.*, 2004), fueron separadas, etiquetadas y agrupadas según el sexo y la superficie lamelar (interna o externa) para su posterior comparación con el apoyo del programa Image Tool 3.0. El área de las lamelas fue calculada con la fórmula de la elipse ($\pi \cdot r_1 \cdot r_2$).

6.4. Preparación de las lamelas para la microscopía electrónica de barrido

Se utilizaron doce hembras y doce machos de *M. mexicanus* y *M. nigripes* para diseccionar sus lamelas, las cuales se almacenaron en alcohol al 70%. Todo el procedimiento que engloba la preparación de las lamelas (fijación, deshidratación, secado, montaje y cubierta metálica) se realizó de acuerdo a lo citado por Valdez (1991). Una vez extraídas las lamelas, se preservaron en alcohol etílico al 70%. Después se añadieron 2% de formalina (formaldehído en solución). Las lamelas permanecieron en esa mezcla durante 24 hrs. Después se colocaron en alcohol al 70% para iniciar la deshidratación (Valdez, 1991). Las muestras debieron deshidratarse en alcohol al 80% después de haber lavado la muestra con alcohol al

70%. Las muestras se mantuvieron en la mezcla durante 60 min. Para quitar completamente el alcohol en el que estaba inmerso el material, se colocaron las lamelas en la secadora de punto crítico. Para fines prácticos, en esta etapa del proceso sólo se empleó una lamela de cada tipo, por sexo y por especie (seis lamelas en total). Después del tratamiento por punto crítico, las seis lamelas se montaron individualmente sobre un portaobjetos especial, cubriendo cada una de las preparaciones con una cubierta metálica. Se procedió a examinar las lamelas a 25kV en un microscopio electrónico de barrido JEOL Mod. JSM-5600LV. Con las imágenes obtenidas, se identificaron los tipos de quimiorreceptores básicos, tomando como base las propuestas de Ochieng *et al.* (2002) y Romero-López *et al.* (2004, 2010b).

6.5. Conteo de los receptores antenales, morfometría de cada tipo de receptores y elaboración de mapas de distribución

Para obtener la distribución lamelar de los quimiorreceptores de *M. nigripes* y *M. mexicanus*, se utilizaron las imágenes en mosaico obtenidas de las lamelas procesadas por microscopía de barrido, para cada sexo y especie. Se elaboraron mapas para cada tipo de quimiorreceptores con el apoyo del software “Autostich”, al generar una imagen panorámica de la lamela desde la parte basal hasta la apical. La identificación de los tipos de quimiorreceptores se efectuó por medio del programa “GIMP 2.8.4 Portable”. Se determinó el número aproximado de receptores antenales de cada tipo, con el programa “Image Tool 3”.

Se utilizó la prueba de chi cuadrada para observar las diferencias en el número de quimiorreceptores a nivel inter e intra específico.

6.6. Obtención de registros electrofisiológicos en *Macroductylus nigripes*

Las señales eléctricas provocadas en adultos de *M. nigripes*, por parte de los estímulos químicos fueron detectadas mediante un amplificador diferencial de corriente alterna (DP-311, Warner Instruments). Se emplearon electrodos de aguja de cloruro de plata los cuales fueron colocados en el pronoto (+/-) equidistantes al

eje corporal del organismo, con una separación aproximada entre ellos de un milímetro (micromanipulador MM 33, Warner Instruments). El electrodo de referencia fue colocado en el tórax. Las señales fueron amplificadas con una ganancia de 10 k y filtradas entre 0.1 Hz y 1 KHz. Las señales fueron digitalizadas a 5 KHz con una tarjeta de adquisición digital (NI USB-6251, LabView 2012, National Instruments) para su posterior análisis fuera de línea (ClampFit 9.2). Como estímulos químicos en volúmenes de 0.01 ml agua destilada (control), se emplearon alcohol etílico (“vehículo”), extracto crudo de la cámara genital de hembras de *M. nigripes* y hexano (SIGMA-ALDRICH), en una serie de experimentos por separado. Los organismos fueron colocados en una cámara de registro electrofisiológico, la cual estaba dentro de una mesa anti-vibratoria (63-531 TMC, Harvard Apparatus) equipada con una jaula de Faraday. Con ayuda de un microscopio estereoscópico (SMZ 800, Nikon) se colocaron los electrodos de registro y a una distancia aproximada de 2 mm de la maza lamelar se colocó una masa de papel absorbente ($\approx 1 \text{ mm}^2$), sobre la cual se depositaron las sustancias empleadas como estímulos; se empleó un papel absorbente nuevo para cada aplicación del estímulo. Se utilizaron seis machos de *M. nigripes* para la toma de los registros.

6.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las mediciones del cuerpo, antenas, lamelas y quimiorreceptores de machos y hembras de *M. nigripes* y *M. mexicanus*, se analizaron por medio de la prueba estadística de t-Student, con el programa SigmaPlot 12.0. Se realizó una prueba de Chi cuadrada para la comparación entre el número de quimiorreceptores de las lamelas en ambos sexos de las especies de estudio.

7. Resultados

7.1. Estudio anatómico del sistema olfativo de *Macroductylus nigripes*

Los “cuerpos de seta” (CS) de *M. nigripes* consisten de un par de estructuras lobuladas de tamaño pequeño, de aproximadamente 0.12 mm, que flanquean al

protocerebro del insecto y al lóbulo olfativo (LO) (Figura 3). Los CS están formados por los *cálix* o cálices, que son un par de masas de neuropilo a ambos lados del protocerebro y a su vez, están constituidos por una capa de células que se sitúan a su alrededor, conocida como células de Kenyon. Por debajo de cada *cálix* se extiende un pedúnculo (Figura 4).

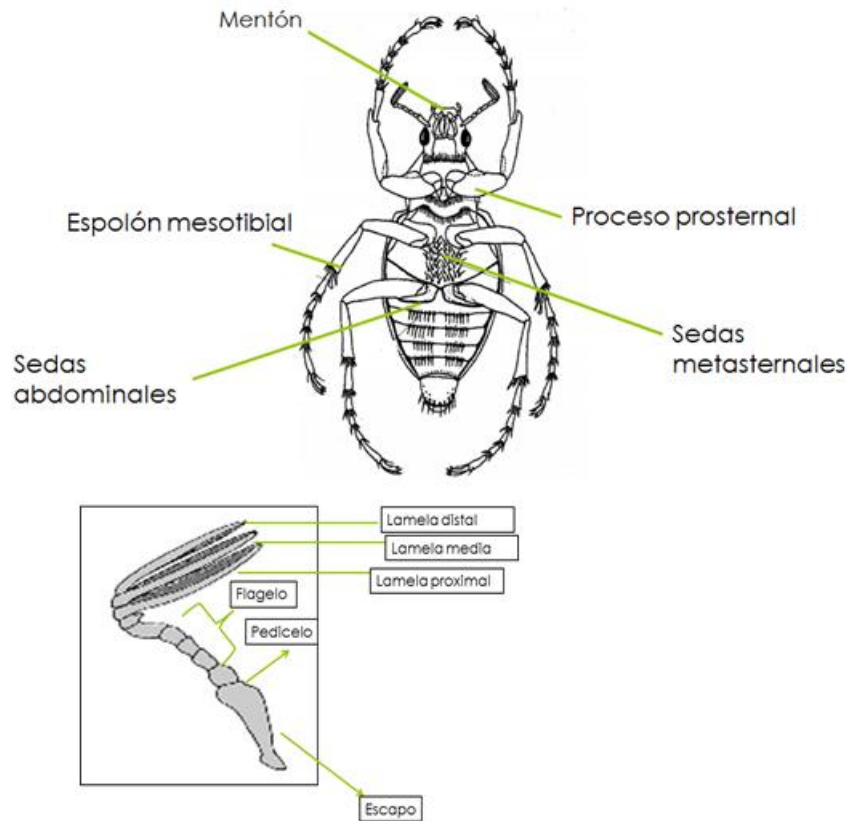


Figura 2. Esquema de un adulto de *Macroductylus*, señalando las principales estructuras que conforman su cuerpo y antenas.

Los nervios óptico y antenal se encuentran por arriba del CS y se proyectan hasta el lóbulo óptico y el LO. Se observaron también los nervios antenal y óptico en la zona central de la cápsula cefálica. El LO puede observarse en la parte inferior al ganglio subesofágico, que es de donde se inerva directamente a la antena. En la porción anterior de la cápsula cefálica, puede observarse el ganglio subesofágico

como un ensanchamiento que se extiende 0.1 mm aproximadamente hacia la parte posterior (Figura 3).

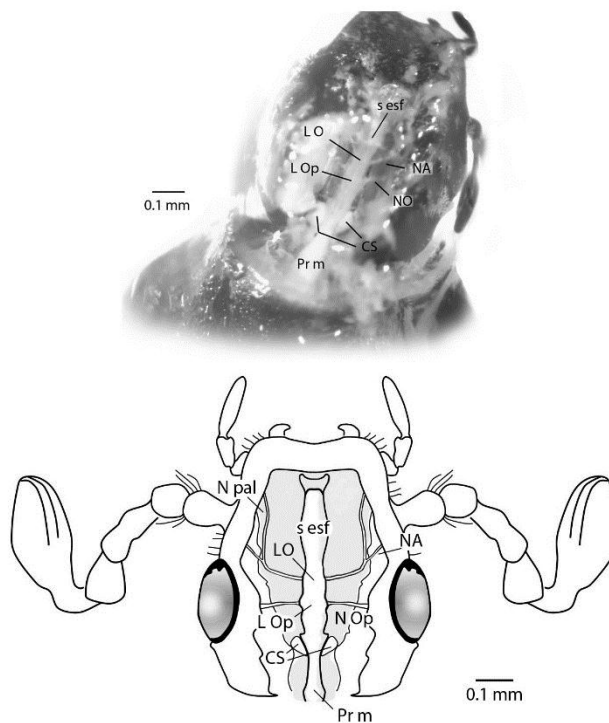


Figura 3. Ilustración de una disección de la cápsula cefálica de *Macrodictylus nigripes*, en las cuales se muestra el sistema olfativo. Pr m= protocerebro medio; s esf= ganglio subesofágico; N pal= nervio del palpo; NA= nervio antenal; N Op= nervio óptico; CS=cuerpo de seta.; LO= lóbulo olfativo; L Op= lóbulo óptico.



Figura 4. Estructura del cuerpo seta de *Macroductylus nigripes* formado por las células globulares provenientes de las células de Kenyon (CK), los cáliz (C) y los pedúnculos (P).

7.2. Medidas del cuerpo y de los apéndices antenales de hembras y machos de *M. mexicanus* y *M. nigripes*

Se observaron diferencias significativas en las dimensiones del cuerpo, escapo, pedicelo, flagelo y maza antenal en ambos sexos de *M. nigripes* y *M. mexicanus*. La longitud del cuerpo del macho en ambas especies es mayor que la de la hembra (*M. nigripes*: $t= 2.862$, $p<0.05$; *M. mexicanus*: $t= 3.484$, $p<0.05$). Otras diferencias fueron para la longitud del pedicelo (*M. nigripes*: $t= -2.795$, $p<0.05$; *M. mexicanus*: $t= -3.340$, $p<0.05$), del flagelo (*M. nigripes*: $t= -5.047$, $p<0.05$; *M. mexicanus*: $t= -2.420$, $p<0.05$) y de la maza antenal (*M. nigripes*: $t= 13.527$, $p<0.05$; *M. mexicanus*: $t= -7.053$; $p<0.001$). Se observó una mayor la longitud de los machos en todas estas estructuras, a excepción de la maza lamelar de *M. nigripes* (Cuadro 1).

7.2.1. Comparación entre hembras de ambas especies

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas para la longitud del pedicelo entre hembras de *M. mexicanus* y *M. nigripes* ($t= 3.183$, $p<0.01$). En el caso de la longitud del cuerpo, longitud de escapo, flagelo y maza lamelar, se observó una tendencia a que en general son mayores en *M. nigripes* que en *M. mexicanus*, aunque sin diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 2).

7.2.2. Comparación entre machos de ambas especies

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud del pedicelo ($t= 4.231$, $p<0.001$) y la maza lamelar ($t= -2.304$, $p<0.05$) y aunque no fueron significativas, se observaron algunas diferencias en la longitud del cuerpo, escapo y flagelo, con una tendencia a ser mayores en algunos rubros en machos de *M. nigripes* (Cuadro 3).

Cuadro 1. Comparación del cuerpo de los adultos y estructuras antenales de machos y hembras de *Macroductylus mexicanus* y *Macroductylus nigripes*.

Medidas (mm)	<i>Macroductylus mexicanus</i>			<i>Macroductylus nigripes</i>		
	Hembras	Machos	P	Hembras	Machos	p
Cuerpo	9.333 ±0.310	10.667 ±0.225	<0.01	9.917 ±0.229	11.000 ±0.302	<0.01
Escapo	0.244 ±0.012	0.263 ±0.012	NS	0.225 ±0.014	0.236 ±0.013	NS
Pedicelo	0.124 ±0.001	0.134 ±0.002	<0.01	0.137 ±0.003	0.152 ±0.003	<0.05
Flagelo	0.613 ±0.010	0.659 ±0.015	<0.05	0.599 ±0.010	0.700 ±0.017	<0.001
Maza lamelar	0.494 ±0.007	0.578 ±0.009	<0.001	0.502 ±0.011	0.542 ±0.012	<0.05

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

Cuadro 2. Comparación de las dimensiones del cuerpo y las estructuras antenales entre hembras de *Macroductylus mexicanus* y *Macroductylus nigripes*.

Medidas (mm)	Hembras		p
	<i>Macroductylus nigripes</i>	<i>Macroductylus mexicanus</i>	
Cuerpo	9.917 ±0.229	9.333 ±0.310	NS
Escapo	0.225 ±0.014	0.244 ±0.012	NS
Pedicelo	0.137 ±0.003	0.124 ±0.001	<0.01
Flagelo	0.599 ±0.010	0.613 ±0.010	NS
Maza lamelar	0.502 ±0.011	0.494 ±0.007	NS

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

7.3. Longitud de las lamelas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para *M. mexicanus*, con una longitud mayor de las lamelas de los machos con relación a las de las hembras: LD (t= 4.132, p<0.001), LM (t= 5.772, p<0.001) y LP (t= 7.509 p<0.001). En *M. nigripes*, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de las LM (t= 3.968, p<0.001) y LP (t= 5.436, p<0.001) de los machos en comparación con las de las hembras (Cuadro 4).

Cuadro 3. Comparación de las medidas tomadas del cuerpo y estructuras antenales en machos de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

Medidas (mm)	<i>M. nigripes</i>	<i>M. mexicanus</i>	<i>p</i>
Cuerpo	11.000 ±0.302	10.667 ±0.225	NS
Escapo	0.236 ±0.0132	0.263 ±0.012	NS
Pedicelo	0.152 ±0.00345	0.134 ±0.002	<0.001
Flagelo	0.700 ±0.0173	0.659 ±0.015	NS
Maza lamelar	0.542 ±0.0120	0.578 ±0.009	<0.05

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

Cuadro 4. Comparación de la longitud de las lamelas de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

	<i>Macroductylus nigripes</i>			<i>Macroductylus mexicanus</i>		
	Hembras	Machos	<i>p</i>	Hembras	Machos	<i>p</i>
	(longitud de la lamela)	(longitud de la lamela)		(longitud de la lamela)	(longitud de la lamela)	
Lamela distal	0.495 ±0.008	0.504 ±0.0073	NS	0.459 ±0.008	0.514 ±0.010	<0.001
Lamela media	0.549 ±0.007	0.588 ±0.0068	<0.001	0.517 ±0.008	0.592 ±0.010	<0.001
Lamela proximal	0.564 ±0.010	0.628 ±0.006	<0.001	0.556 ±0.006	0.636 ±0.008	<0.001

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

7.3.1. Comparación entre hembras de ambas especies

Se observaron resultados estadísticamente significativos en las LD ($t = 2.941$, $p < 0.05$) y LM ($t = 2.975$, $p < 0.05$) de las hembras de *M. nigripes* en comparación con las de *M. mexicanus*, siendo de mayor longitud las lamelas de *M. nigripes* (Cuadro 5).

7.3.2. Comparación entre machos de ambas especies

Se observaron tendencias a una mayor longitud de lamelas de los machos de *M. nigripes* con respecto a los de *M. mexicanus*, aunque no fueron diferencias estadísticamente significativas.

7.4. Ancho de las lamelas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para *M. nigripes*, con una anchura mayor de las lamelas de los machos con relación a las de las hembras: LD (t= -3.978, p<0.001), LM (t= -3.067, p<0.05) y LP (t= -4.872, p<0.001). Se observaron diferencias estadísticamente significativas para *M. mexicanus*, siendo mayor la anchura de las LM (t= 23.041, p<0.001) y LP (t= 18.830, p<0.001) de los machos con respecto a las de las hembras (Cuadro 6).

7.4.1. Comparación entre hembras de ambas especies

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para el ancho de las lamelas de hembras de *M. nigripes* y *M. mexicanus*.

7.4.2. Comparación entre machos de ambas especies

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la LD de los machos de *M. nigripes* y *M. mexicanus* (t= -2.945, p <0.05), presentando estos últimos la mayor longitud en dicha lamela (Cuadro 7).

Cuadro 5. Comparación de la longitud de las lamelas de hembras de *Macrodictylus nigripes* y *Macrodictylus. Mexicanus*

	Hembras		p
	<i>Macrodictylus nigripes</i>	<i>Macrodictylus mexicanus</i>	
	(longitud de la lamela)	(longitud de la lamela)	
Lamela distal	0.495 ±0.008	0.459 ±0.007	<0.05
Lamela media	0.549 ±0.007	0.517 ±0.008	<0.05
Lamela proximal	0.564 ±0.010	0.556 ±0.006	NS

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student

Cuadro 6. Comparación del ancho de las lamelas de *Macrodictylus nigripes* y *Macrodictylus mexicanus*.

	<i>Macrodictylus nigripes</i>			<i>Macrodictylus mexicanus</i>		
	Hembras (mm)	Machos (mm)	<i>p</i>	Hembras (mm)	Machos (mm)	<i>p</i>
Lamela distal	0.163±0.002	0.184 ±0.005	<0.001	0.182 ±0.004	0.188 ±0.004	NS
Lamela media	0.194 ±0.004	0.212 ±0.005	<0.05	0.085 ±0.002	0.201 ±0.005	<0.001
Lamela proximal	0.176 ±0.003	0.210±0.00	<0.001	0.085 ±0.002	0.189 ±0.005	<0.001

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student

Cuadro 7. Comparación del ancho de la lamela de los machos de *Macrodictylus nigripes* y *Macrodictylus mexicanus*

	<i>Macrodictylus nigripes</i>	<i>Macrodictylus mexicanus</i>	<i>p</i>
	(ancho de la lamela)	(ancho de la lamela)	
Lamela distal	0.163 ±0.004	0.182 ±0.004	<0.05
Lamela media	0.194 ±0.004	0.201 ±0.004	NS
Lamela proximal	0.176 ±0.006	0.189 ±0.005	NS

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student

7.5. Área de las lamelas

Se observaron también diferencias significativas en el área de las LD de *M. nigripes*, siendo mayor en los machos con respecto a las de las hembras ($t= 2.641$, $p<0.05$). El área de las LP de los machos de esta especie también es mayor que la de las hembras ($t= -11.019$, $p<0.001$). En *M. mexicanus*, el área de las LM es mayor en machos con respecto a la de las hembras ($t= -2.134$, $p<0.05$). Por último, el área de las LP de los machos es mayor en comparación con la de las hembras ($t= -2.311$, $p<0.05$) (Cuadro 8).

7.5.1. Comparación entre hembras de ambas especies

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas para las dimensiones de la LP. Se observó que el área de la LM y LP de *M. nigripes* es mayor, siendo la LP la que presenta la mayor área receptora ($t= 2.70$, $p<0.05$) (Cuadro 9).

Cuadro 8. Comparación del área de las lamelas de macho y hembra de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

	<i>Macroductylus nigripes</i>			<i>Macroductylus mexicanus</i>		
	Hembras (mm ²)	Machos (mm ²)	<i>p</i>	Hembras (mm ²)	Machos (mm ²)	<i>p</i>
Lamela distal	0.064 ±0.008	0.071 ±0.004	<0.05	0.067±0.005	0.073 ±0.009	NS
Lamela media	0.089 ±0.009	0.091 ±0.008	NS	0.085 ±0.005	0.093 ±0.011	<0.05
Lamela proximal	0.093 ±0.006	0.174 ±0.0245	<0.001	0.085 ±0.006	0.094 ±0.011	<0.05

NS= No significativo; Valores de la media ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student

7.5.2. Comparación entre machos de ambas especies

Existen diferencias estadísticamente significativas en la LP ($t= 10.124$, $p<0.001$). Se observa que los machos de *M. nigripes* presentan una mayor área en esta lamela con respecto a la misma lamela de los machos de *M. mexicanus* (Cuadro 10).

Cuadro 9. Comparación del área de las lamelas de las hembras de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

	Hembras		
	<i>Macroductylus nigripes</i> (mm ²)	<i>Macroductylus mexicanus</i> (mm ²)	P
Lamela distal	0.064 ±0.008	0.067±0.005	NS
Lamela media	0.089 ±0.009	0.085 ±0.005	NS
Lamela proximal	0.093 ±0.006	0.085 ±0.006	<0.05

NS= No significativo; Valores de la media del área de cobertura de las lamelas ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

Cuadro 10. Comparación del área de las lamelas de los machos de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

	Machos		
	<i>Macroductylus nigripes</i> (mm ²)	<i>Macroductylus mexicanus</i> (mm ²)	p
Lamela distal	0.071 ±0.004	0.073 ±0.009	NS
Lamela media	0.091 ±0.008	0.093 ±0.011	NS
Lamela proximal	0.174 ±0.0245	0.094 ±0.011	<0.05

NS= No significativo; Valores de la media del área de cobertura de las lamelas ± error estándar de la media; n= 12; Prueba de t-Student.

7.6. Tipos de quimiorreceptores en *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*

Se distinguieron los seis tipos básicos de sensilas o receptores antenales: tricoideos (TRS), quéticos (QTS), basicónicos (BAS), auricílicos (AUS), placoideos (PLAS) y celocónicos (COS). Todos éstos se localizan en la periferia, centro, superficie interna y externa de cada una de las lamelas (Figura 5). Los TRS son estructuras alargadas y están ubicados en la región periférica de cada lamela (Figuras 5B, 5F), mientras que los QTS son estructuras elongadas y de forma de bastón, localizados también en la periferia de las lamelas (Figuras 5F, 5H). Ambos tipos son considerados como mecanorreceptores.

Los PLAS, AUS, BAS y COS son considerados como quimiorreceptores. Los PLAS presentan forma ovalada, alargada y en general con un borde que enmarca a una superficie deprimida o cavidad poco profunda; se ubican en todas las regiones y superficies de las tres lamelas de hembras y machos (Figuras 5B-H). Los AUS son estructuras en forma de “oreja de conejo” o “lengua”, presentes en ambas

superficies de las lamelas (interna y externa) de ambos sexos en ambas especies (Figuras 5 A, C, E, G). Los BAS tienen forma de “bastón”, presentes en ambos sexos y se encuentran en las regiones laterales y centrales de ambas superficies de las lamelas (Figuras 5 A, B, C, D, E, G). Los COS son un conjunto de sensilas encavadas dentro de una misma cavidad y se ubican en la superficie interna de las LD, LM y LP, en hembras y machos de *M. nigripes*. Estos quimiorreceptores sólo se encontraron esporádicamente y resultaron exclusivos de esta especie (Figura 6).

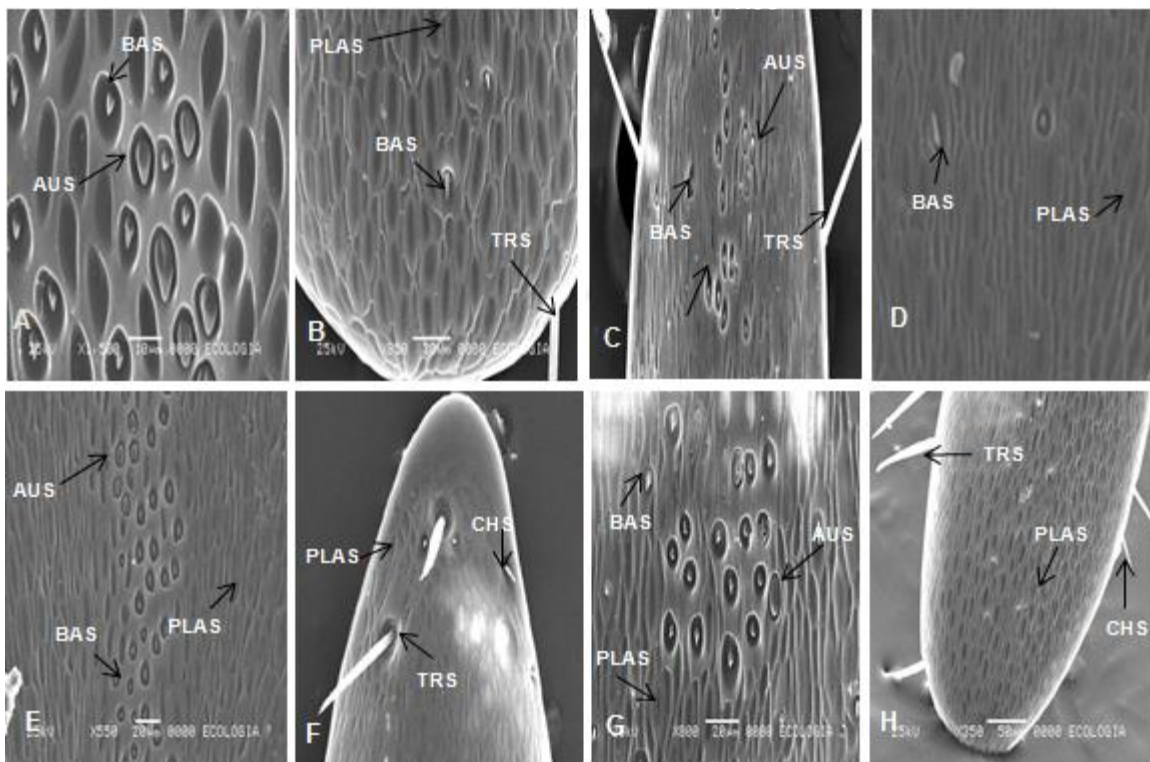


Figura 5. Quimiorreceptores encontrados en las superficies interna y externa de las lamelas de hembras y machos de *Macroductylus mexicanus* y *Macroductylus nigripes*. A) Quimiorreceptores de la superficie interna de la lamela distal (LD) de la hembra de *Macroductylus mexicanus*; se aprecian las sensilas auriculares (AUS) y basicónicas (BAS). B) Superficie externa de la lamela media (LM) de la hembra de *M. mexicanus*, donde se encuentran las sensilas placoides (PLAS), tricoideas (TRS) y BAS. C) Superficie de la cara interna de la lamela proximal (LP) del macho *M. mexicanus*; donde se distinguen las BAS, auriculares (AUS) y TRS. D) Superficie de la cara externa de la LD) del macho *M. mexicanus*. E) Superficie de la cara interna de la LM de la hembra de *M. nigripes*. F) Superficie de la cara externa de la LP de la hembra *M. nigripes*; en ella se pueden apreciar sensilas quéticas (QTS), PLAS y TRS. G) Superficie de la cara interna de la LP del macho *M. nigripes*. H) Superficie externa de la LM del macho *M. nigripes*, donde se aprecian las PLAS, QTS y TRS.

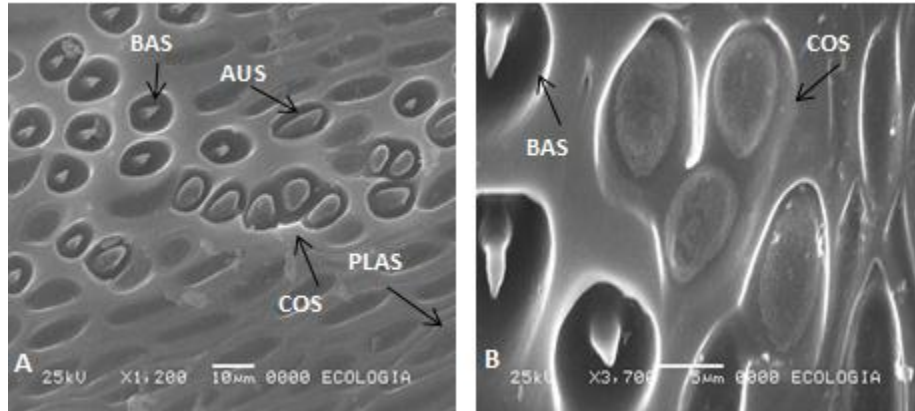


Figura 6. Quimiorreceptores encontrados exclusivamente en las superficies internas de las lamelas de *Macrodactylus nigripes*. A) Superficie interna de la LD de la hembra. B) Superficie interna de la LM del macho. PLAS= sensilas placoideas; AUS= sensilas auricilicas; BAS= sensilas basiconicas; COS= sensilas celoconicas.

7.7. Distribución de quimiorreceptores en lamelas de ambas especies

7.7.1. Cara interna de lamelas de *Macrodactylus nigripes*

En el macho, se aprecia que los AUS se encuentran en la región central de las lamelas, mientras que los BAS también se ubican en la región central siguiendo un patrón lineal desde la base hasta la región apical de las LD, LM y LP. Los PLAS se sitúan alrededor de las lamelas, ausentándose en la parte media de las mismas. En la hembra, se localizó un solo AUS en toda la LD, mientras que los BAS se localizan con mayor abundancia en la región central de la misma. En el caso de la LM se encontraron AUS en la región central de la lamela, así como también BAS, mientras que los PLAS se encuentran en la región periférica de esta lamela. En la LP, sólo se encontraron dos tipos de sensilas: BAS y PLAS. Los primeros se encuentran distribuidos de forma transversal, mientras que los segundos están alrededor de la lamela, disminuyendo en número en la región apical de la misma. Se muestra una mayor distribución y uniformidad de los PLAS, los cuales abundan en la periferia de la LD, LM y LP.

Los COS se encontraron en la LM del macho y en la LD de la hembra, los cuales, son muy escasos en número. Su distribución se restringe a la zona central en el macho y en la periferia apical de la LD de la hembra (Figura 7).





















<i>Macrodactylus nigripes</i> Cara interna								
Lamelas	♂				♀			
	AUS	BAS	COS	PLAS	AUS	BAS	COS	PLAS
LD								
LM								
LP								

Figura 7. Distribución de los quimiorreceptores lamelares auricílicos (AUS), basicónicos (BAS) y placoideos (PLAS) en la cara interna de la lamela distal (LD), lamela media (LM) y lamela proximal (LP) en machos y hembras de *Macrodactylus nigripes*. Los celocónicos (COS) se encuentran únicamente en la LM del macho y en la LD de la hembra.

7.7.2. Quimiorreceptores de la cara externa de las lamelas de hembras y machos de *Macrodactylus nigripes*.

En la LD, los BAS se encuentran distribuidos desde la base hasta el ápice de la lamela, pasando por la parte media, distanciados uno de otro. Los PLAS se encuentran distribuidos de manera uniforme en gran parte de la región media y periférica de las LD, LM y LP, muy cercanos unos de otros. Se sigue la misma tendencia de distribución de los quimiorreceptores en las demás lamelas (Figura 8).













<i>Macrodactylus nigripes</i> Cara externa				
Lamelas	♂		♀	
	BAS	PLAS	BAS	PLAS
LD				
LM				
LP				

Figura 8 Quimiorreceptores basicónicos (BAS) y placoideos (PLAS) encontrados en la cara externa de las lamelas distal (LD), media (LM) y proximal (LP) de hembras y machos de *Macrodactylus nigripes*.

7.7.3. Quimiorreceptores de la cara interna de las lamelas de hembras y machos de *Macrodactylus mexicanus*

Hembra

Los AUS se distribuyen en la sección media de la LD, LM y LP, de forma agregada.

Los BAS se encuentran disgregados en las LD y LM, mientras que en la LP se encuentran más aglutinados y en mayor cantidad. Los PLAS están en la periferia de las lamelas, pero esto se ve claramente en las LM y LP, ya que en la LD no hay un gran número de éstos (Figura 9).

Macho

Los PLAS son los más abundantes y se encuentran en la región periférica de las lamelas; sin embargo, en la LD están distribuidos incluso en la región central (Figura 9).

<i>Macroductylus mexicanus</i> Cara interna						
Lamelas	♂			♀		
	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
LD						
LM						
LP						

Figura 9. Distribución de los quimiorreceptores auricólicos (AUS), basicónicos (BAS) y placoideos (PLAS) de la cara interna de las lamelas distal (LD), media (LM) y proximal (LP) de hembras y machos de *Macroductylus mexicanus*.

7.7.4. Quimiorreceptores de la cara externa de las lamelas de un macho y una hembra de *Macroductylus mexicanus*

Hembra

Se muestra que los BAS se encuentran separados y en poca cantidad en la superficie de la LD, LM y LP. Los PLAS están mayormente distribuidos en la región

central de las lamelas, cubriendo desde la parte basal hasta la apical de la misma. Este tipo de quimiorreceptor es el más abundante en esta cara (Figura 10).

Macho

Se registró un solo quimiorreceptor de tipo AUS en la LD. Hay pocos BAS y se distribuyen en la región apical de la LP, en la región central en la LM y LD. Los PLAS se encuentran en gran cantidad y distribuidos en toda la cara externa de las tres lamelas. En la LD, los PLAS abundan en la parte lateral derecha, en la LM en la región periférica y en la LP en la apical (Figura 10).













<i>Macroductylus mexicanus</i> Cara externa				
Lamelas	♂		♀	
	BAS	PLAS	BAS	PLAS
LD				
LM				
LP				

Figura 10. Mapas donde se muestra la distribución de los quimiorreceptores auriculares (AUS), basicónicos (BAS) y placoideos (PLAS) en la cara externa de las lamela distal (LD), media (LM) y proximal (LP) de un macho y de una hembra de *Macroductylus mexicanus*.

7.8. Comparación del número de los quimiorreceptores de la cara interna y externa en macho y hembra de ambas especies

En la cara interna de las lamelas de *M. mexicanus*, el número de PLAS fue mayor en el macho, sobre todo en la LM. Hay un mayor número de AUS en la hembra, concentrándose en la LM. En cuanto a los BAS, existe un mayor número en el macho, mayormente en la LD (Cuadro 12). En la cara externa de todas las lamelas para ambos sexos de esta especie, sigue siendo mayor el número de PLAS el macho, mayormente en la LD. En la hembra no se encontró ningún AUS, mientras que se encontraron dos quimiorreceptores de este tipo en la LD del macho. Hay un mayor número de BAS en la hembra, siendo la LD la que contiene el mayor número de éstos (Cuadro 12).

Posteriormente, la prueba de chi cuadrada mostró que hay diferencias significativas para el número de AUS solamente en la cara interna de las LD y LP de *M. mexicanus* (Cuadro 13). Para el caso de los BAS, sólo se muestran diferencias significativas en la cara interna de la LP de *M. nigripes* y en las LD y LP de la cara externa de esta especie, mientras que para *M. mexicanus*, existen diferencias en las LD y LP de la cara externa así como en la LP de la cara externa (Cuadro 13). Se obtuvieron diferencias altamente significativas en el número de PLAS entre machos y hembras en ambas caras o superficies de las lamelas (interna y externa) (Cuadro 13).

Cuadro 12. Comparación del número de quimiorreceptores de la cara interna y externa de las lamelas de una hembra y un macho de *Macroductylus mexicanus*.

<i>Macroductylus mexicanus</i>												
	Cara interna						Cara externa					
	♂			♀			♂			♀		
Lamelas	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
Distal	11	45	147	26	23	83	2	2	250		12	168
Media	7	41	166	11	26	40		8	157		9	114
Proximal	16	43	132	52	16	75		2	159		5	101

Cuadro 13. Diferencias entre el número de quimiorreceptores en ambas superficies de cada lamela entre ambos sexos. Valor de p, chi cuadrada

<i>Macroductylus nigripes</i>							<i>Macroductylus mexicanus</i>					
Lamelas	Cara interna			Cara externa			Cara interna			Cara externa		
	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
Distal	-	-	**	-	*	**	*	*	**		*	**
Media	-	-	**		-	*	-	-	**		-	*
Proximal	-	**	**		*	**	**	**	**		-	**

*= Significativo; **= Muy significativo; - No significativo

7.8.2. Quimiorreceptores encontrados en las caras interna y externa de las lamelas, comparadas entre mismos sexos de ambas especies

En machos, los PLAS son más abundantes en *M. nigripes*, habiendo un mayor número en la LM, mientras que en la LP y en la LD de *M. mexicanus*, los AUS y PLAS son los que se encuentran en mayor número (Cuadro 14). En la cara externa de las tres lamelas se puede apreciar que los PLAS son más numerosos en *M. nigripes*, sobre todo en la LP de los machos. El número de BAS es mayor en *M. nigripes*, sobre todo en la LP (Cuadro 14).

En el caso de la cara interna de las lamelas de las hembras, *M. nigripes* tiene una mayor cantidad de PLAS; esto es más notorio en la LP, mientras que los BAS existen en mayor abundancia en *M. mexicanus*, concentrándose principalmente en la LM. En el caso de los AUS, la cantidad es variable para ambas especies en cada

una de las lamelas (Cuadro 15). En cuanto al número de quimiorreceptores de la parte externa de las lamelas de hembras, *M. nigripes* tiene un mayor número de PLAS, siendo más evidente en la LP y en la LM, mientras que *M. mexicanus* tiene un mayor número de PLAS en la LD. El número de BAS es mayor en *M. mexicanus*, principalmente en la LD. En ninguna especie se encontraron AUS (Cuadro 15).

En la prueba de chi cuadrada se obtuvieron que para machos hay diferencias significativas para el número de AUS de la cara interna de la LP de machos al igual que en el número de BAS en la LP de la cara externa. En cuanto al número de PLAS, hay diferencias significativas en las tres lamelas en la superficie interna de cada una de ellas, mientras que para la externa mostraron diferencias las LM y LP (Cuadro 16).

En hembras, hay diferencias para el número de AUS de las LD y LP de la cara interna. El número de BAS es significativo para las LD y LP de la cara interna de éstas. Existen diferencias en el número de PLAS para la cara interna de las tres lamelas, mientras que para la externa las hay en la LM y LP (Cuadro 16).

Cuadro 14. Comparación de los quimiorreceptores de la cara interna y externa de las diferentes lamelas en machos de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

Machos												
Lamelas	Cara interna						Cara externa					
	<i>Macroductylus mexicanus</i>			<i>Macroductylus nigripes</i>			<i>Macroductylus mexicanus</i>			<i>Macroductylus nigripes</i>		
	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
Distal	11	45	147	4	31	190	2	2	250		1	245
Media	7	41	166	6	32	247		8	114		7	214
Proximal	16	43	132	6	51	199		2	159		11	312

Cuadro 15. Comparación de los quimiorreceptores de la cara interna y externa de las diferentes lamelas en hembras de *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*.

Hembras												
	Cara interna						Cara externa					
	<i>Macroductylus mexicanus</i>			<i>Macroductylus nigripes</i>			<i>Macroductylus mexicanus</i>			<i>Macroductylus nigripes</i>		
Lamelas	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
Distal	26	23	83	1	45	113		12	168		7	142
Media	11	26	40	12	27	121		9	157		6	162
Proximal	52	16	75	10	40	123		5	101		2	232

Cuadro 16. Diferencias entre el número de quimiorreceptores en la cara interna de cada lamela entre mismos sexos. Valor de p, chi cuadrada

Hembras							Machos					
Lamelas	Cara interna			Cara externa			Cara interna			Cara externa		
	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS	AUS	BAS	PLAS
Distal	**	*	*		-	-	-	-	*	-	-	-
Media	-	-	**		-	*	-	-	**		-	*
Proximal	**	*	**		-	**	*	-	**		*	**

*= Significativo; **= Muy significativo; - = No significativo

8. Registros electrofisiológicos de *M. nigripes* hacia estímulos químicos

Se obtuvieron registros de tipo o exploratorio de las respuestas electrofisiológicas de diez machos de esta especie hacia diferentes estímulos químicos, entre ellos, hexano (grado cromatográfico SIGMA-ALDRICH) y extractos crudos de la cámara genital de hembras. En la Figura 11 se muestra la respuesta a la estimulación con el extracto de la cámara genital, observándose “picos”, ondas o componentes al inicio en cada uno de los registros. Puede detectarse un componente originado por el ruido mecánico, producido por colocar una gota de agua en papel absorbente cerca de la maza lamelar del macho de *M. nigripes*. En un segundo registro se observa una componente de mayor amplitud a la del primer registro, la cual fue generada por la estimulación con etanol al 70%. El tercer registro, también se observó una componente, siendo esta respuesta la de mayor amplitud, causada por

la estimulación con el extracto de la cámara genital de la hembra, utilizando como vehículo el etanol. Se efectuaron tres repeticiones.

Las siguientes pruebas se realizaron con el fin de evaluar la posible adaptación a los estímulos olfativos, debido a la saturación de los receptores. Se realizaron dos pruebas de adaptación, las cuales se basan en la estimulación con hexano. La prueba 1 se realizó para probar la respuesta a un odorante como el hexano, fue un lavado control, consistente en la aplicación de agua destilada en papel absorbente cerca del insecto, donde se observó “un componente” al inicio del registro originada por el ruido mecánico; sin embargo, no se produjo respuesta al agua destilada. Para el segundo registro en esta prueba se coloca hexano sobre papel absorbente y se coloca cerca del insecto, observándose el típico comportamiento debido al ruido mecánico, seguido de una componente de baja frecuencia y de gran amplitud. El tercer registro consiste en colocar agua destilada sobre papel absorbente, teniendo el mismo patrón de comportamiento que la primera aplicación de agua destilada (Figura 12). En la prueba 2 se estimuló al insecto con tres dosis diferentes de hexano con un tiempo de separación por cada estímulo de 3 min. En cada uno de los registros se obtuvo una componente originada por el ruido mecánico y eléctrico al colocar los estímulos olfativos. El primer registro mostró un componente de mayor amplitud con respecto a los otros dos registros, mostrando un comportamiento decreciente en cada una de las respuestas (Figura 13). Se empleó 0.01 ml de hexano y etanol para cada una de las pruebas, por separado. Se realizaron 2 repeticiones.

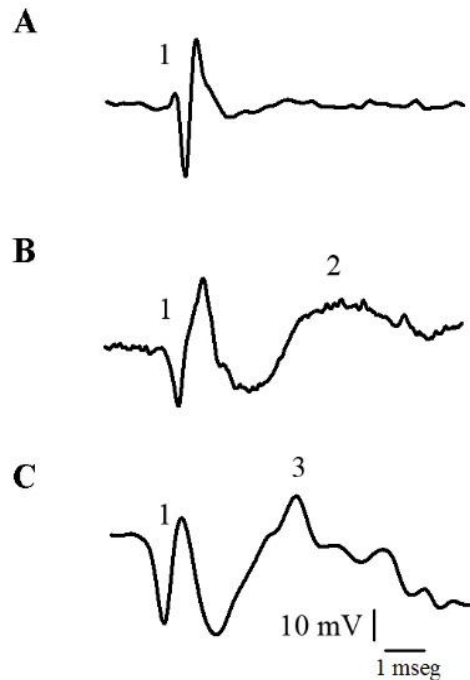


Figura 11. Respuesta electrofisiológica inducida en un macho de *Macroductylus nigripes* por la exposición a un extracto crudo de la cámara genital de una hembra conespecífica. Los registros fueron realizados mediante un amplificador diferencial (AC), cuyos electrodos fueron colocados en la parte dorsal anterior del pronoto de cada macho. En el trazo **A** se muestra un registro control correspondiente a la señal detectada después de la colocación de una gota de agua en un papel absorbente cercano al organismo. Obsérvese el “componente 1” también presente en los trazos señalados en los registros **B** y **C**, a los cuales se suman el “componente 2” y el “componente 3”. En **B** se muestra el registro de la respuesta a la estimulación con etanol y en **C**, la respuesta tras la estimulación con un extracto crudo de la cámara genital de una hembra, empleando como “vehículo” el etanol. La componente 1 correspondería a ruido inespecífico mecánico y eléctrico, mientras que la componente 3 de mayor amplitud que la componente 2 correspondería a la respuesta específica de las sustancias químicas contenidas en la cámara genital de la hembra.

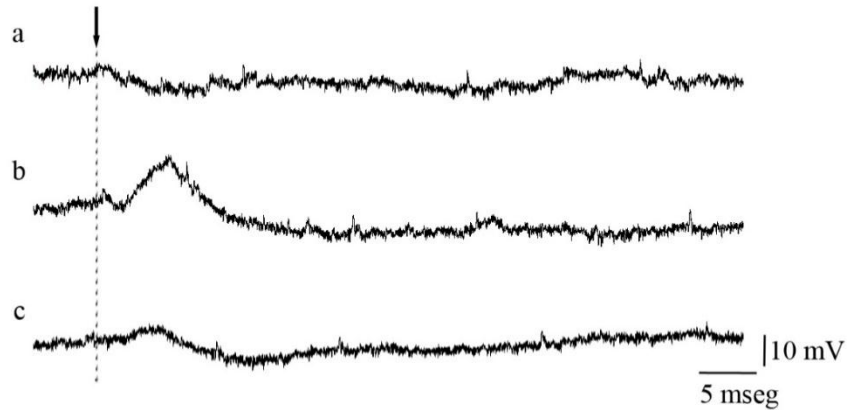


Figura 12. Respuesta a la estimulación con hexano. Los registros fueron realizados mediante un amplificador diferencial (AC) cuyos electrodos fueron colocados en la parte dorsal anterior del pronoto. En el trazo **A** se muestra un registro control consistente en colocar agua destilada (0.01 ml) en un papel absorbente cercano al organismo (≈ 2 mm). En **B** se muestra la respuesta a la estimulación con hexano (0.01 ml). El trazo **C** corresponde a una segunda aplicación de agua destilada. Obsérvese en el trazo **B** la presencia de una componente de baja frecuencia y gran amplitud de morfología y amplitud distintas a lo mostrado en los trazos **A** y **C**.

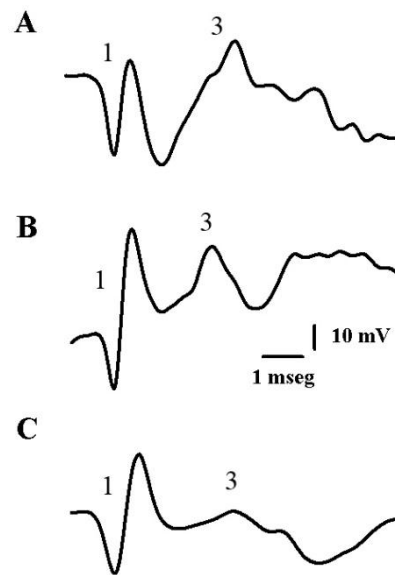


Figura 13. Tiempo de adaptación al hexano. Los registros fueron realizados mediante un amplificador diferencial (AC) cuyos electrodos fueron colocados en la parte dorsal anterior del pronoto. En el trazo **A** se muestra la componente correspondiente al ruido mecánico y eléctrico (1) y la respuesta específica al hexano (3). Las respuestas a una segunda y tercera aplicación del estímulo olfativo con una separación temporal de 3 minutos son mostradas en **B** y **C**. Nótese la disminución en la amplitud del componente en respuesta al hexano y el mantenimiento de la amplitud y la morfología del componente 1.

9. Discusión

Estudio anatómico del sistema olfativo de *Macroductylus nigripes*

La organización general del sistema olfativo de *M. nigripes* es parecida a la que se ha indicado para otros insectos (López-Riquelme, 2008; Wessnitzer y Webb, 2006), en particular a la de los melolóntidos *Cetonia aurata* (L.) y *Oxythyrea funesta* (Poda) (Panov, 2009). En el caso de los CS en *M. nigripes*, éstos flanquean al cerebro y a su lado se ubica el *cálix*, el cual se encuentra rodeado por las células de Kenyon, como lo descrito por Wessnitzer y Webb (2006) y Panov (2009).

También se reconoce en *M. nigripes* el pedúnculo, el cual se localiza en la parte basal del CS, como lo reporta Panov (2009) para *C. aurata* (L.) y *O. funesta* (Poda). La disposición de los CS y el ganglio subesofágico tienen el mismo arreglo que en *Machilis germanica* (Janetschek) (Archaeognatha: Machilidae), *Calopteryx splendens* (Harris) (Odonata: Calopterygidae) y *Libellula depressa* (Linnaeus) (Odonata: Libellulidae) (Strausfeld *et al.*, 2009), ya que se sitúan en la parte central de la cápsula cefálica y se encuentran dos pares de *cálix*, equipados con células de Kenyon en una región más alta. Los *cálix* mediales de los CS en *M. nigripes* se asemejan morfológica y anatómicamente a los de *Pachnoda marginata* (Puppe), *Cetonia aurata* (Linnaeus), *Oxythyrea funesta* (Poda) y *Epicometis hirta* (Poda) (Panov, 2009). Los pedúnculos están localizados en la base de los CS y se presentan como un engrosamiento cercano a la bifurcación de los lóbulos vertical y medial, como se ha reportado en algunos de los integrantes de la subfamilia Cetoniinae ya mencionados (Panov, 2009).

En *M. nigripes*, el LO se encuentra localizado en la parte superior derecha del ganglio subesofágico, innervando directamente a la antena. Hacia cada lado del LO se desprende una rama que posteriormente se bifurca para innervar a las antenas y los palpos. Se observa también el lóbulo óptico, del cual se desprenden los nervios que inervan a los ojos en todos los insectos, de acuerdo con Torralba y Pérez-Ortega (1997). En dirección rostro-caudal se observaron varias ramificaciones pequeñas, aunque no se pudo identificar su sitio de innervación. En el presente estudio, el LO presentó una capa de células a su alrededor y un área central fibrosa,

tal como se observa en otros grupos de insectos, como en las hormigas (López-Riquelme, 2008). Con respecto a las conexiones entre los lóbulos y los cálices de abejas, que reportó Mobbs (1982), se observaron pocas y no fueron tan distinguibles. Esto probablemente por el efecto de la solución fisiológica utilizada para la conservación de los tejidos durante la disección. Lo que fue evidente fue la masa protocerebral que provee de neuronas a los cálices; esto es consistente con lo señalado por Mobbs (1982). El tamaño de los CS está asociado con el comportamiento social del insecto, de acuerdo a lo registrado en hormigas por Jaffe y Pérez (1989). Con referencia a los reportes de Panov (2009) y lo observado en *M. nigripes*, el comportamiento de los melolóntidos, tiende a enfocarse a la sobrevivencia individual fundamentada en optimizar el gasto de energía para actividades prioritarias como el apareamiento, podría estar relacionado con un tamaño más reducido de los CS en comparación con el de los insectos sociales. Sin embargo, son necesarios más estudios que permitan ampliar la información en este sentido, en particular los referentes a la quimiorrecepción de este grupo de coleópteros. Con base en lo anterior, se sugiere que es viable hacer estudios a nivel del sistema nervioso central en *M. nigripes* para diversos tópicos, dentro de los cuales se encuentran la neurobiología y biología del comportamiento. Asimismo, un mejor conocimiento sobre los CS y el LO de esta especie permitirá complementar la información básica sobre la comunicación química y el comportamiento de *M. nigripes*.

Dimensiones del cuerpo y estructuras antenales

La morfología del cuerpo y estructuras antenales de *M. nigripes* y *M. mexicanus* son semejantes, con base en la literatura especializada, aunque también existen pequeñas variaciones en la talla de éstos, dependiendo de la localidad (Arce-Pérez y Morón, 2000). La longitud del cuerpo de los adultos obtenida en las mediciones realizadas en el presente estudio, en ambas especies se aproxima a lo indicado por Morón (1995) y Morón *et al.* (1997), siendo los machos quienes tienen un tamaño superior en contraste con las hembras. En los machos de *M. nigripes* se obtuvieron medidas semejantes a las de *M. mexicanus*, al igual que para las hembras, siendo

ligeramente mayor la longitud del cuerpo de los adultos de *M. nigripes*, siguiendo la tendencia de medidas indicada por Arce-Pérez y Morón (2000), para especies del género *Macroductylus*, se conocen sólo algunas generalidades. En lo que refiere específicamente a las dimensiones del escapo, pedicelo, flagelo y maza lamelar, fueron muy semejantes al compararlos entre los mismos sexos de las especies de estudio. Sin embargo, las hembras de *M. mexicanus* tuvieron una mayor longitud en el escapo y flagelo, mientras que las dimensiones de *M. nigripes* son mayores en el pedicelo y maza lamelar. Con respecto a los machos de *M. nigripes* presentaron una mayor longitud en el pedicelo y flagelo, mientras que en machos de *M. mexicanus* fueron para el escapo y maza lamelar. Con referencia a la comparación entre sexos, los machos de ambas especies presentaron estructuras antenales de mayor longitud, sobretodo en el flagelo y maza lamelar. Esto debido a que la longitud de las antenas en machos puede estar relacionada con la mejor captación de los atractivos sexuales femeninos, así como la búsqueda de alimento, ya que las estructuras involucradas en el sistema olfatorio de este género, necesitan de un grado de especialización para tener una mejor captación y procesamiento de dichas sustancias (Zacharuk, 1985). Así como en otros géneros de melolóntidos, en específico de *Phyllophaga*, para *M. nigripes* y *M. mexicanus* se observaron dimorfismos sexuales a nivel de la maza lamelar. Esto debido a que esta estructura es la región sensorial más importante para detectar los estímulos químicos (Morón, 1986). Además queda claro que los machos de la superfamilia Scarabaeoidea tienen ese marcado dimorfismo sexual, refiriéndose a estas estructuras como lo reportado por Romero-López *et al.* (2004; 2013).

Área de las lamelas en las especies estudiadas

El área de las lamelas en machos fue mayor para *M. mexicanus* y *M. nigripes*, ya que éstos necesitan una mayor superficie de recepción para las sustancias atractivas y para la búsqueda de pareja, lo cual indica que hay dimorfismo sexual a este nivel, lo que coincide con lo indicado por Romero-López *et al.* (2004) para *P. obsoleta*, donde los machos presentan una mayor área en cada una de las lamelas. En anteriores informes utilizando como modelo de estudio a *M. nigripes* y *M.*

mexicanus, sólo se han enfocado a la descripción morfológica, biogeográfica, entre otros aspectos; sin embargo, no se había hecho un estudio comparativo entre sexos intra- ni inter-específicamente. En el presente estudio, se encontró que *M. nigripes* presentó una mayor área de las lamelas en ambos sexos, en contraste con *M. mexicanus*, indicando que hay diferencias en esta estructura entre mismos sexos de ambas especies. En *M. nigripes*, el área de las lamelas de machos es muy similar al de hembras, así mismo, se obtuvo que existe una mayor longitud en el área de las lamelas de los machos de *M. mexicanus*, siguiendo la tendencia del dimorfismo sexual presentado en *P. obsoleta*, *P. ravida* y *P. opaca*, donde los machos de dichas especies tuvieron una mayor área lamelar de acuerdo a Romero-López y Morón (2013).

Se ha reportado que el tamaño de las lamelas y estructuras sensoriales son consistentes con otras especies previamente estudiadas donde los PLAS y AUS son las estructuras con mayor superficie para recibir la feromona sexual de la hembra (Romero-López, 2010b).

Tipos de quimiorreceptores en *Macroductylus nigripes* y *Macroductylus mexicanus*

Los tipos de quimiorreceptores básicos encontrados en este estudio fueron los descritos por Romero-López *et al.* (2004) y Romero-López y Morón (2013) en especies del género *Phyllophaga*, donde los quimiorreceptores encontrados fueron PLAS; AUS, BAS y COS. El primer reporte enfocado al estudio de órganos sensoriales para una especie de *Phyllophaga* fue el de Ochieng *et al.* (2002), en el cual se propone para *P. anxia* la existencia de cuatro tipos de sénsulos con una aparente función quimiorreceptora: PLAS, AUS, BAS y COS tipo I y II. En el caso de *P. obsoleta*, el primer estudio de este tipo para una especie “mexicana”, se encontró sólo un tipo de COS, además de los BAS, AUS y PLAS. En otros estudios con melolóntidos mexicanos, se han observado los AUS tipo I, II, III y IV; BAS tipo I, II, III, IV y V; COS tipo I, II, III y IV y PLAS tipo I (Romero-López, 2010b). Con el registro de sensilas de manera individual, se ha demostrado que los receptores neuronales sensibles a feromonas sexuales están localizados en los PLAS, los

cuales cubren una gran área de la parte posterior de las lamelas (Leal y Mochizuki, 1993; Larsson *et al.*, 1999). En *A. cuprea*, por ejemplo, se ha observado que los PLAS son específicos para R-buibuilactona, la cual ha sido identificada como su feromona sexual (Leal, 1991; Leal y Mochizuki, 1993).

En el caso de *M. nigripes* y *M. mexicanus*, es probable que los quimiorreceptores descritos, en particular los PLAS, desempeñen la función principal de captar las feromonas de tipo sexual, debido a que su morfología corresponde a la reportada para *A. cuprea*, *P. obsoleta* y demás especies ya mencionadas

Comparación del número de los quimiorreceptores de la cara interna y externa en macho y hembra de *M. nigripes* y *M. mexicanus*

Se encontró dimorfismo sexual en *M. nigripes* y *M. mexicanus*, especialmente con PLAS, como lo reportado para *P. obsoleta* (Romero-López *et al.*, 2004), *P. ravidia* (Romero-López *et al.*, 2010b) y *P. opaca* (Romero-López y Morón, 2013). El número de PLAS en las caras interna y externa fue mayor para los machos de ambas especies, ya que a mayor número de éstos, es posible que sea mayor la captación de los infoquímicos, pues los melolóntidos dependen en particular de la eficacia en la recepción de atrayentes o feromonas (Crowson, 1981) y esto se da gracias al número de receptores PLAS y AUS (Romero-López *et al.* (2004). Aunque contrario a lo esperado y reportado para otras especies de melolóntidos (Romero-López *et al.*, 2004, 2013), el número de AUS fue mayor en la cara interna de las lamelas de hembras de *M. nigripes* y *M. mexicanus*. En contraste, el número de PLAS tanto en la cara interna como externa de machos de estas especies fue mayor con respecto a las hembras, como se ha descrito previamente para machos de *P. obsoleta* y *P. ravidia* (Romero-López *et al.*, 2004; 2010b). Esto permite sugerir que sí existe dimorfismo sexual para ambas especies de *Macroductylus*, por lo que la recepción de atrayentes sexuales podría estar directamente relacionado con la cantidad de estos receptores.

No hay como tal reportes que indiquen la diferencia estadística en el número de quimiosensilas para el género *Macroductylus*, ya que el presente estudio es el

primero en su tipo. Sin embargo, esto confirma el dimorfismo sexual a nivel de quimiorreceptores, además, el número de PLAS es mayor en machos que en hembras en las especies estudiadas.

Registros electrofisiológicos de *M. nigripes* hacia estímulos químicos

Los experimentos con electrofisiología en otros grupos de insectos han permitido corroborar que éstos tienen la capacidad para detectar determinadas sustancias volátiles como el hexano (E)-2-hexenal y el etanol, presentando respuestas comparables a las registradas en otros coleópteros, como sucedió en *Cerambyx welensii* Kuster y *Prinobius germari* Dejean al comparar las respuestas con *Phoracantha semipunctata* Fabricius (Sánchez-Osorio et al., 2007). Se encontró que la concentración y cantidad del estímulo aplicado en machos de *M. nigripes* influyen en la respuesta olfativa registrada, lo cual va de acuerdo a lo obtenido por Sánchez-Osorio et al. (2007) en *C. welensii* y *P. germari*. Se registró una adaptación al hexano después de un número seriado de pruebas. Esto puede ser que esté orientado hacia la saturación de los receptores, tal como sugiere Sánchez-Osorio et al. (2007), donde se plantea que para corroborar dicho efecto en los receptores, se debe utilizar de manera conjunta la información del efecto de la concentración y la cantidad del estímulo. Algunas sustancias similares a las probadas en este trabajo ya habían sido utilizadas con otras especies de melolonthidos, como el hexano y el etanol (Romero-López et al., 2005); sin embargo, el extracto de la cámara genital de la hembra es un estímulo que sólo se ha empleado en machos de *P. obsoleta*, los cuales, respondieron a las pruebas de EAG, obteniéndose mayores diferencias de este estímulo con respecto al hexano (Romero-López et al., 2005). Este resultado fue similar a lo observado con machos de *M. nigripes*, con los mismos estímulos, aunque con diferente técnica electrofisiológica.

Diversos estudios realizados han brindado una propuesta acerca de la filogenia del grupo Melolonthidae, tomando como caracteres taxonómicos los tipos de quimiorreceptores, ya que la morfología, número, distribución y tamaño pueden proporcionar información acerca de la ecología, comportamiento precopulatorio, comunicación química y adaptación del grupo. Con este trabajo, se pretende ampliar

el campo de estudio de la ecología química, enfocándose en continuar con la exploración de los quimiorreceptores antenales de estas especies, en específico en aquellos que están involucrados en la recepción química, abriendo las posibilidades de utilizar esta información para posteriores pruebas como las de electroantenografía (EAG) y la posible adaptación de estas pruebas para establecer un manejo de especies plaga, con mayor información biológica sobre ellas.

Los datos obtenidos deben enriquecerse con pruebas electrofisiológicas para dilucidar la función específica de los PLAS y AUS, así como los criterios de clasificación en la familia Melolonthidae para los sénsulos o quimiorreceptores pueden ser unificados con el fin de aclarar la comunicación química sexual y filogenia de este grupo.

10. Conclusiones

- El sistema olfativo del macho de *M. nigripes* es parecido anatómicamente al de otros melolóntidos. Se observan los CS, los cuales son estructuras lobuladas y pequeñas y que se encuentran cerca del protocerebro y del LO del insecto.
- Se reconocieron las células de Kenyon y el *cáliz*, así como los nervios óptico y antenal.
- El tamaño del cuerpo de los machos de ambas especies fue mayor en comparación con las hembras.
- La longitud del pedicelo, flagelo y maza antenal presentaron diferencias significativas.
- Las dimensiones del escapo, pedicelo, flagelo y maza lamelar, fueron muy semejantes al compararlos entre los mismos sexos de las especies de estudio.
- Las hembras de *M. mexicanus* tuvieron una mayor longitud en el escapo y flagelo, mientras que las dimensiones de *M. nigripes* fueron mayores en el pedicelo y maza lamelar.

- Los machos de *M. nigripes* presentaron una mayor longitud en el pedicelo y flagelo, mientras que en machos de *M. mexicanus* fueron para el escapo y maza lamelar.
- Los machos de ambas especies presentaron estructuras antenales de mayor longitud, en lo referente a la longitud del flagelo y maza lamelar.
- Existe un dimorfismo sexual en el área de las LD y LP de *M. nigripes* y en las LM y LP de *M. mexicanus*, siendo los machos los que mostraron las áreas mayores.
- *M. nigripes* presentó una mayor área de las lamelas en ambos sexos, en contraste con *M. mexicanus*, indicando que hay diferencias en esta estructura entre mismos sexos de ambas especies.
- En *M. nigripes*, el área de las lamelas de machos es muy similar al de hembras, así mismo, se obtuvo que existe una mayor longitud en el área de las lamelas de los machos de *M. mexicanus*
- Fueron identificados seis tipos de sensilas antenales en las caras internas y externas de las lamelas de ambas especies, de ambos sexos: placoideas (PLAS), basicónicas (BAS), aurículas (AUS), celocónicas (COS), quéticas (CHS) y tricoideas (TRS).
- Los conteos realizados para los tipos básicos de quimiorreceptores en las caras interna y externa mostraron que existe dimorfismo sexual a este nivel en ambas especies.
- Los PLAS, fueron más numerosos y con una distribución homogénea más detallada en las lamelas de los machos de las dos especies estudiadas.
- En la comparación entre los mismos sexos, *M. nigripes* mostró tener en ambas caras de las lamelas, tanto en hembras como machos, un mayor número de PLAS.
- La comparación del número de quimiorreceptores entre machos y hembras de *M. nigripes* y *M. mexicanus* con la prueba de chi cuadrada, mostró que existe dimorfismo sexual en ambas especies.
- Los PLAS fueron los quimiorreceptores que más diferencia estadística mostraron a nivel interespecífico e intraespecífico.

- Las pruebas de electrofisiología en *M. nigripes* mostraron respuestas positivas como las a lo estudiado en otros grupos de coleópteros, dando pie a futuras investigaciones con EAG.

11. Literatura citada

- Acín-Viu, P. 2007. Identificación de feromonas y proteínas implicadas en la percepción feromonal de lepidópteros plaga. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Tesis doctoral, 43 p.
- Adler, V.E., Jacobson, M. 1971. Electroantennogram responses of adult male and female Japanese beetles to their extracts. *Journal Economic Entomology*, 64, 1561-1562.
- Aragón-García, A., M.A. Morón, S.Y. Rodríguez-Velázquez, A.N. Cortés-Meza, M. Zarazúa-Carvajal and M.A. Damián-Huato. 2010. Description of the larvae of three species of *Macrodactylus* Dejean (Coleoptera:Scarabaeidae: Melolonthinae) from Mexico, with notes on the reproductive behavior of *Macrodactylus ocreatus* Bates. *The Coleopterist Bulletin*, 3: 193-200.
- Arce-Pérez, R. y Morón, M.A. 2000. Taxonomía y distribución de las especies de *Macrodactylus latreille* (Coleoptera: Melolonthidae) en México y Estados Unidos de América. *Acta Zoológica Mexicana*, 79:129-239.
- Benítez-Herrera, L.N., Martínez-Martínez, I. y Romero-López, A.A. 2015. Anatomía del aparato reproductor de *Macrodactylus mexicanus* (Coleoptera:Scarabeoidea:Melolonthidae) su posible participación en su comunicación química sexual. *Southwestern Entomologist*, 40:189-198.
- Crowson, A. R. 1981. *The biology of the Coleoptera*. Academic, London, United Kingdom. Academic Press, 802 p.
- Deloya, C. y Morón, M.A. 1994. Coleópteros lamelicornios del Distrito de Jojutla, Morelos, México (Melolonthidae, Scarabeidae, Trogidae y Passalidae). *Listados faunísticos de México*, UNAM, México, 47 p.
- Dicke, M. and Sabelis, M.W. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather origin of compounds. *Functional Ecology*, 2: 131-139.

- Fescemyer, S., Hanson, F.E. 1990. Male european corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner), antennal responses to analogs of its sex pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 773-790.
- Jaffe, K. y Perez, E. 1989. Comparative study of brain morphology in ants. *Brain Behavior and Evolution*, 33: 25-33
- Hansson, B., Larsson, M. C., y Leal, W. S. 1999. Green leaf volatile-detecting olfactory receptor neurones display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiological Entomology*, 24(2), 121-126.
- Larsson. M.C., Leal, W.S., y Hansson, B.S. 1999. Olfactory receptor neurons specific to chiral sex pheromone components in male and female.
- Larsson, M.C., Domingos, A.I., Jones, W.D., Chiappe, M.E., Amrein, H. y Vosshall, L.B. 2004. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 43: 703-714.
- Leal, W.S. 1991. (R-Z)-5-(-)-(Oct-1-enyl) oxacyclopentan-2-one, the sex pheromone of the scarab beetle *Anomala cuprea*. *Naturwissenschaften*, 78: 521-523.
- Leal, W.S., Matsuyama, S. Kuwahara, Y., Wakamura, S., Hasegawa, M. 1992. An amino acid derivative as the sex pheromone of a scarab beetle. *Naturwissenschaften*, 74: 184-185.
- Leal, W.S y Mochizuki, F. 1993. Sex pheromone reception in the scarab beetle *Anomala cuprea*: Enantiometric discrimination by sensilla placodea. *Naturwissenschaften*, 80: 278-281.
- Leal, W.S., Kawamura, F., Ono, M. 1994a. The scarab beetle *Anomala albopilosa sakishimana* utilizes the same sex pheromone blend as closely related and geographically isolated species *Anomala cuprea*. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 1667-1676.
- Leal, W.S., Hasegawa, M. Sawada, M., Ueda, Y. 1994b. Identification and field evaluation of *Anomala octiescostata* (Coleoptera: Scarabaeidae) sex pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 1643-1655.
- Leal, W.S. 1998. Chemical ecology of phytogous scarab beetles. *Annual Reviews of Entomology*, 43:39-61.

- Leal, W. S. 1999. Scarab beetles, pp. 51-68. *In* J. Hardie and A. K. Minks (eds.), *heromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*. CAB International, Oxfordshire, United Kingdom
- López-Riquelme, G.O. 2008. Hormigas como sistemas modelo para el comportamiento complejo: Bases neurobiológicas de la comunicación química y la división del trabajo en las hormigas. Tesis de doctorado. UNAM, México, 195 p.
- Maïbéche-Coisne, M. Nikonov, A.A., Ishida, Y., Jacquín-Joly, E. y Leal, W.S. 2004. Pheromone anosmia in a scarab beetle induced by in vivo inhibition of a pheromone degrading enzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 11459-11464.
- Martínez-Bonilla, K., Romero-López, A.A., Galicia- Isasmendi, S. 2014. "Cuerpos de seta" en el sistema olfativo de *Macrodactylus nigripes* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). (pp. 536-540). *In*: Entomología mexicana, Vol. 13, Tomo 1. Estrada-Venegas, E.G., M.P. Chaires, J.A. Acuña-Soto, A. Equihua, A. Pescador y M.V. Rodríguez-Iglesias (Eds.). Publicación especial de la SME, México.
- Meinecke, C.C. 1975. Riechsensillen un systematik der *Lamellicornia* (Insecta: Coleoptera). *Zoomorphologic*, 82:1-42.
- Mobbs, P.G. 1982. The brain of the honeybee *Apis mellifera*. 1. The connections and spatial organizations of the mushroom bodies. *Philos Trans R Soc Lond*, 298:309-345
- Morón, M.A. 1986. El género *Phyllophaga* en México (Insecta: Coleoptera). Morfología, distribución y sistemática supraespecífica. Publicación 20. Instituto de Ecología, México, 342 p.
- Morón, M.A. 1995. Clave para la identificación de los principales géneros de larvas edafícolas de Coleoptera Melolonthidae (Scarabaeidae- Pleurosticti) en Colombia. Adultos. En *II curso Nacional sobre plagas Rizófagas*. Corpoica-Colciencias- Socolen, P 7-14.
- Morón, M.A., Ratcliffe, B., Deloya, C. 1997. Atlas de los Escarabajos de México. Coleóptera: Lamellicornia. Vol. II. Familia Melolonthinae. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. México p 1, 206-256.
- Morón, M.A. 2010. Las especies americanas de *Polyphylla* Harris (Coleoptera: Melolonthidae, Melolonthinae): biología e importancia agrícola. *In*: Rodríguez

del Bosque, L.A., Morón, M.A, (eds.). Ecología y control de plagas edafícolas. Instituto de Ecología, A.C., México, pp. 117.

Morón, M.A., Nogueira, G. Rojas-Gómez, C.V. y Arce-Pérez, R. 2014. Biodiversidad de Melolonthidae (Coleoptera) en México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 85: 298- 302.

Ochieng, S.A., Robbins, P.S., Roelofs, W.L. 2002. Sex pheromone reception in the scarab beetle *Phyllophaga anxia* (Coleoptera: Scarabaeidae). Annals of the Entomological Society of America, 95:97-102.

Panov, A.2009. Some Cetoniinae (Coleoptera, Scarabaeidae) Have Structurally Different Medialand Lateral Calyces of Mushroom Bodies. Russian Academy of Sciences, 88: 320-325.

Renou, M., Guerrero, A. 2000. Insect parapheromone in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. Annual Review of Entomology, 45: 605- 630.

Restrepo y López- Ávila, A. 2000. Especies de chizas (Coleoptera: Melolonthidae) de importancia agrícola para Colombia. CORPOICA. Bogota, 62 pp.

Roelofs, W.L. 1984. Electroantennogram assays: rapid and convenient screening procedures for pheromones. Techniques in pheromone research, Springer-Verlag, New York, Pp 131-159.

Romero-López, A.A., Arzuffi, R., Valdez, J. y Morón, M.A. 2004. Sensory Organs in the Antennae of *Phyllophaga obsoleta* (Coleoptera: Melolonthidae). Annals of the Entomological Society of America, 97(6): 1306-1312.

Romero-López, A.A., Arzuffi, R., Robledo, N. 2005. Compuestos bioactivos dentro de la cámara genital eversible de *Phyllophaga obsoleta*. Revista Latinoamericana de Química, 33: 31-39.

Romero-López A.A., Arzuffi, R., Morón M.A. 2010. Comunicación química sexual. In: Rodríguez del Bosque LA, Morón MA (eds.). Plagas del suelo. Editorial Mundi-Prensa México, Pp. 83-96.

Romero-López, A.A., Morón, M.A. y Valdez, J. 2010. Sexual Dimorphism in Antennal Receptors of *Phyllophaga ravid* Blanchard (Coleoptera: Scarabaeidae). Neotropical Entomology, 39(6):957-966

Romero-López, A.A. 2012. Uso de feromonas sexuales para el conocimiento y manejo de los “ensambles gallina ciega” en México. Interciencia, 37: 559-564.

- Romero-Lopez, A.A. y Morón, M.A. 2013. Sexual dimorphism in antennae of Mexican species of Phyllophaga (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). En: Moriyama, H. (ED.). Sexual Dimorphism. IN TECH Publisher, Croatia, 17-34 pp.
- Romero-López, A.A., Carrillo-Ruíz, H. y Morón, M.A. 2013. Morphological Diversity of Antennal Sensilla in Hopliinae (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). Academic Journal of Entomology, 6:20-26.
- Romero-López, A.A., Benítez-Herrera, L.N. 2014. Dimorfismo sexual en “melolóntidos” (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) con mazas antenales mayores en machos que en hembras. En: Entomología mexicana, Vol. 13, Tomo 2. Estrada-Venegas, E.G., M.P. Chaires, J.A. Acuña-Soto, A. Equihua, A. Pescador y M.V. Rodríguez-Iglesias (Eds.). Publicación especial de la SME, México, 380-386 pp.
- Romero-López, A.A., Carrillo-Ruíz, H., Morón, M.A. 2014. Morfología externa de sensilas antenales de integrantes de Macroductylini (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). En: Diversidad e Importancia Agrícola de Coleópteros Edafícolas, Aragón G.A. y J.F. Pérez-Domínguez (Eds.). BUAP y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, México, 135-145 pp.
- Ruther J, Meiners T, Steidle JLM. 2002. Rich in phenomena lacking in terms. A classification of kairomones. Chemoecology, 12: 161-167.
- Sánchez-Osorio, I., Tapias, R., Domínguez, I. y López, G. 2007. Caracterización de la respuesta electroantenográfica de *Cerambyx welensii* Küster y *Prinobius germari* Dejean (Coleoptera: Cerambycidae). Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales, 16: 95-106.
- Shcneider, D. 1964. Insect antennae. Annu. Rev. Entomol, 9:103-122.
- Sifuentes, A. 1985. Plagas del maíz en México. Secretaría de agricultura y recursos hidráulicos, 49 pp.
- Strausfeld, N.J., Sinakevitch, I., Brown, S.M. y Farris, S.M. 2009. Ground Plan of the Insect Mushroom Body: Functional and Evolutionary Implications. The Journal of Comparative Neurology, 513:265–291.
- Torralba, A. y Pérez-Ortega, S. 1997. La visión de los insectos desde un punto de vista óptico. Bol SEA, 18:27-34.
- Valdez, J. 1991. Preparación de insectos y ácaros para microscopía electrónica de barrido. Soc. Mex. Entomol, 8:9-18.

- Visser, J.H. 1979. Electroantennogram responses of the colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, to plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 25, 86-97.
- Wadhams, L.J. 1992. The perception of semiochemicals. En: *Insect Molecular Science. Proceedings, 16th Symposium of the Royal Entomological Society London. Imperial College London, september 1991. Academic Press, London, 152-162 p.*
- Wessnitzer, J. & Webb, B. 2006. Multimodal sensory in insects –towards insect brain control architectures. *Institute of Perception, action and Behaviour*, 22 p.
- Zacharuk, R.Y. 1980. Ultrastructure and function of insect chemosensilla. *Annual, Reviews of Entomology*, 25: 27-47.
- Zacharuk R. 1985. Antennae and sensilla. *Comparative Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Pergamon.*
- Zhang, A., Facundo, H.I., Robbins, P.S., Linn, C.E., P.S. Handa, J.L., Villani, M.G., Roelofs, W.L. 1994. Identification and synthesis of female sex pheromone of oriental beetles *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*, 20: 2415-2427.
- Zhang, A., Robbins, P.S., Leal, W.S., Linn Jr., C.E., Villaniand, M.G., Roelofs, W.L. 1997. Essential amino acid methyl esters: major sex pheromone components of the cranberry white grub, *Phyllophaga anxia* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*, 23: 231-245. Hanson
- Zorovic, M. & Hedwig, B. 2011. Processing of species-specific auditory patterns in the cricket brain by ascending, local, and descending neurons during standing and walking. *Journal of Neurophysiology*, 105:2181-2194.