



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Biológicas

COMPORTAMIENTO DE LARVAS DE *Phyllophaga vetula*
(COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE) EN RESPUESTA A
VOLÁTILES DE SUSTRATOS ALIMENTARIOS Y POLVOS
VEGETALES

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADO (A) EN BIOLOGIA

PRESENTA:
ZAIRA RUIZ FLORES

DIRECTOR (A): DR. ANGEL ALONSO ROMERO LÓPEZ

SEPTIEMBRE 2020



Dedicatoria

A Mónica y Maricela, mis amigas a las que extraño y donde quiera que estén siempre las llevaré en mi corazón, sé que desde el cielo me cuidan.

A mi familia, mis padres Saúl y Hortencia, mis hermanos Omar y Mariana, quienes siempre me han mostrado su apoyo.

A mis amigos y gente que se ha convertido en parte importante en mi vida.

Agradecimientos

A mi director de tesis, el Dr. Angel Romero por haberme aceptado en su laboratorio y por tenerme mucha paciencia. Profe, le agradezco mucho sus consejos y sus “regaños” durante este tiempo que estuve haciendo la tesis.

Al Dr. Arturo Reyes Lazalde y la Dra Ma. Eugenia Bonilla por su asesoría y por acceder a ayudarme a construir el prototipo de simulador para las larvas.

Al Dr. Miguel Bernardo Nájera Rincón por proporcionarme las primeras larvas de tercer estadio con las que inicié este trabajo. Así como al Dr. Ricardo Reyes Chilpa por la facilitación de los polvos vegetales de incomptina.

A mis amigos del laboratorio por su apoyo y compañerismo, por todos los gratos momentos que pasamos y por ayudarme a resolver algunas dudas respecto a mi trabajo: Gaby, Paco, a Alice quien además participó conmigo en el cálculo de los índices de alimentación, a Fernanda, Yamil, Pamela, Xóchitl, y aunque no convivimos mucho tiempo, también quiero mencionar a Abraham, Kareem y Belén. Muchas gracias por su amistad.

A los amigos que conocí a lo largo de la carrera y que espero volver a ver en el futuro: Gaby Honorato, Ilse, Gaby Ibarra, Cecy, Anahí, Jared, Humberto, Evelyn, Brenda, Mayra, entre muchos otros.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Coleópteros Melolonthidae	3
2.1.1 Sistemática del grupo	3
2.1.2 Ciclo de vida	3
2.1.3 Morfología externa de adultos y larvas	5
2.1.4 Distribución y hábitos.....	6
2.2 Ecología química de coleópteros Melolonthidae	6
2.2.1 Conceptos básicos.....	6
2.2.2 Esquemas de comunicación química.....	8
2.3 Comportamiento de integrantes de Melolonthidae ante estímulos químicos	10
2.3.1 Adultos.....	10
2.3.2 Larvas	10
2.3.3 Etogramas	10
2.3.4 Bioensayos de confirmación	11
2.3.5 Simulación virtual de eventos biológicos	12
2.4 Uso de extractos vegetales para el control de Melolonthidae	12
2.4.1 Generalidades sobre extractos vegetales.....	12
2.4.2 Casos de éxito para el control de insectos	13
2.4.3 Casos de éxito para el control de coleópteros Melolonthidae.....	14
2.5 Información sobre el modelo biológico del presente estudio	15
2.5.1 El género <i>Phyllophaga</i>	15
2.5.2 <i>Phyllophaga vetula</i> Horn.....	15
2.5.3 Especie vegetal a emplear como estímulo	17
3. JUSTIFICACIÓN	18

4. HIPÓTESIS	20
5. OBJETIVOS.....	20
5.1. General.....	20
5.2. Particulares.....	20
6. MATERIAL Y MÉTODOS	21
6.1 Obtención de gallinas ciegas de <i>P. vetula</i> y de polvos vegetales	21
6.3 Registros de comportamiento en “arenas de observación”	22
6.4 Evaluación de la inhibición de alimentación de larvas de <i>P. vetula</i> .	23
6.5 Actividades complementarias de referencia	¡Error! Marcador no definido.
6.5.1. Registros de comportamiento con larvas de primer estadio	¡Error! Marcador no definido.
6.5.2. Registros de comportamiento con adultos.....	¡Error! Marcador no definido.
6.6 Índice de consumo relativo en larvas de <i>P. vetula</i>	24
6.7 Análisis de datos.....	25
7. RESULTADOS.....	27
7.1. Registros de comportamiento	27
7.2 Registros de referencia	¡Error! Marcador no definido.
7.2 Bioensayos de confirmación biológica.....	32
7.3. Evaluación de la alimentación	35
7.4 Índice de consumo relativo	36
8. DISCUSIÓN	39
8.1 Registros de comportamiento	39
8.3 Evaluación de la alimentación	42
8.4 Perspectivas y sugerencias	43
9. CONCLUSIONES	45
10. LITERATURA CITADA.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de la familia Melolonthidae.....	5
Figura 2. Ejemplar de <i>Decachaeta incompta</i> en el Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la UNAM.....	17
Figura 3. Estructura química de <i>Decachaeta incompta</i>	18
Figura 4. Imagen que muestra el raster y palidia de las larvas de tercer estadio de <i>P. vetula</i> utilizadas en la fase experimental del estudio	20
Figura 5. Arena de observación utilizada para los registros de observación, que contiene a la larva de tercer estadio de <i>Phyllophaga vetula</i> y los estímulos correspondientes.....	22
Figura 6. Disposición de las larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> en los recipientes empleados para efectuar las pruebas correspondientes	22
Figura 7. Sitio de recolecta de larvas de <i>Phyllophaga vetula</i>	23
Figura 8. Larva de <i>Phyllophaga vetula</i> de tercer estadio junto con un fragmento de sustrato alimentario en la balanza analítica, con la cual se llevó a cabo la prueba de alimentación.....	24
Figura 9. Etograma de larvas de tercer estadio de <i>Phyllophaga vetula</i> como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario control.....	28
Figura 10. Etograma de larvas de tercer estadio de <i>Phyllophaga vetula</i> como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario impregnado con polvo vegetal de incomptina A.....	29
Figura 11. Etograma de larvas de tercer estadio de <i>Phyllophaga vetula</i> como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario impregnado con polvo vegetal de incomptina B.....	30
Figura 12. Respuesta de larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> entre el control y polvos vegetales de incomptina B	32
Figura 13. Respuesta de larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> entre el control y polvos vegetales de incomptina A	33

Figura 14. Prototipo de simulador biológico.....	36
Figura 15. Simulación de datos hipotéticos tomados de Farrar <i>et al</i> , (1989)...	36
Figura 16. Gráfica generada con datos hipotéticos. Tomada de Farrar <i>et al</i> , (1989).....	37
Figura 17. Simulación de datos obtenidos.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de la familia Melolonthidae propuesta por Cherman y Morón (2014).....	3
Cuadro 2. Repertorio de patrones de comportamiento mostrados por larvas de <i>Phyllophaga vetula</i>	26
Cuadro 3. Repertorio de transiciones entre patrones de comportamiento registradas en las larvas de tercer estadio de <i>Phyllophaga vetula</i> , en las sesiones de observación.....	27
Cuadro 4. Porcentaje de respuestas de larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> hacia fragmentos de sustrato alimentario	31
Cuadro 5. Porcentaje de sobrevivencia, pérdida de peso y consumo en las larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> ante el contacto directo con los sustratos alimentarios y el polvo de incomptina B	34
Cuadro 6. Porcentaje de sobrevivencia, pérdida de peso y consumo en las larvas de <i>Phyllophaga vetula</i> ante el contacto directo con los sustratos alimentarios y el polvo de incomptina A	34

RESUMEN

Los estudios sobre el comportamiento de los coleópteros Melolonthidae distribuidos en México se concentran en la actividad de los adultos, quedando pendiente la información para larvas. La identificación de los patrones que conforman un evento de atracción en esta etapa del ciclo de vida de dichos insectos resulta clave para comprender los procesos de ecología química involucrados en ello. En el presente trabajo se evaluó la respuesta de larvas de *Phyllophaga vetula* Horn “gallinas ciegas” hacia fragmentos de papa y zanahoria como sustrato alimentario (control), así como fragmentos impregnados con 2 mg de los compuestos “incomptina A” e “incomptina B”, de origen vegetal en forma sólida (polvo). Estas lactonas sesquiterpénicas fueron aisladas de *Decachaeta incompta* (DC.) R.M. King y H. Rob (Asteraceae). Los bioensayos de confirmación de actividad biológica se basaron en el uso de arenas de observación, en las cuales se registraron los movimientos, actos y posturas de sesenta larvas de *P. vetula* de tercer estadio al exponerlas a los estímulos previamente mencionados. Con el sustrato alimentario al cual las larvas respondieron con mayor frecuencia, se obtuvieron índices de consumo relativo utilizando otras diez larvas de *P. vetula* de tercer estadio para construir un antecedente de simulador biológico de estos organismos. De acuerdo con los registros de observación efectuados, se detectaron siete patrones de comportamiento de las larvas, siendo los predominantes el movimiento de patas, movimiento de cápsula cefálica, movimiento de cabeza y movimiento de mandíbulas. Con respecto a los bioensayos de confirmación, las larvas presentaron mayor respuesta positiva hacia el sustrato alimentario control (χ^2 , $p < 0.05$). Se encontró además que los polvos de incomptina no tuvieron un efecto negativo en las larvas al estar en contacto directo; sin embargo, el consumo de las larvas fue mínimo y se reportó una cierta pérdida de peso, aunque no significativo. Los resultados obtenidos muestran que los patrones de comportamiento por las larvas son una respuesta ante los compuestos químicos liberados por los sustratos alimentarios y los compuestos vegetales, por lo que se recomienda continuar con más estudios respecto a la ecología química de estos insectos.

1. INTRODUCCIÓN

Las larvas de los coleópteros de la familia Melolonthidae, también conocidas comúnmente como “gallinas ciegas”, incluyen especies que se comportan como plagas que ocasionan pérdidas en la producción de cultivos como la caña de azúcar, maíz, tomate, amaranto, frutales y pastizales en México (Chávez-Ibañez *et al.*, 2014; Cuate-Mozo *et al.*, 2016; del Val *et al.*, 2013). Estos efectos negativos dependen de la biología, el manejo y las condiciones climatológicas, por lo que resulta importante estudiar los hábitos generales de las especies de gallina ciega (Chávez-Ibañez *et al.*, 2014; Cuate-Mozo *et al.*, 2016; del Val *et al.*, 2013). Para el control de estos insectos suelen utilizarse insecticidas sintéticos; sin embargo, estos plaguicidas de uso frecuente pueden tener severas consecuencias en el ambiente y existe un alto riesgo de que contaminen el suelo, sistemas lagunares y mantos acuíferos debido a su alta toxicidad, persistencia y movilidad (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012). Por esta razón, se han buscado alternativas en el control biológico de especies plaga; los extractos vegetales pueden contener sustancias con propiedades antibacterianas y antiprotozoarias, como es el caso de las plantas herbáceas del género *Decachaeta incompta* DC King y Robinson (Asteraceae) (Bautista *et al.*, 2012; Calzada *et al.*, 2009). A la fecha no existe información si estas sustancias también tienen propiedades insecticidas. Tampoco se ha estudiado si los insectos, en nuestro caso gallinas ciegas, perciben estas sustancias o cómo responden hacia ellas. No existen datos en este sentido para miembros de Melolonthidae a pesar de que se han recopilado casos alentadores con el uso de bioinsecticidas para algunas especies del género *Phyllophaga*.

Por ello, en el presente trabajo se pretende generar información sobre el efecto de las incomptinas A y B, compuestos presentes en *Decachaeta incompta* R.M. King y H. Rob en larvas de *Phyllophaga vetula* Horn, una de las especies de Melolonthidae reportadas con importancia agrícola las cuales se alimentan de las raíces de diversos cultivos, afectando sobre todo el maíz (Zitlalpopoca-Hernández *et al.*, 2017). Se plantea el registrar el comportamiento de estos insectos desde el enfoque de la ecología química y su respuesta a la incomptina A y B, principalmente en términos de alimentación.

2. ANTECEDENTES

2.1 Coleópteros Melolonthidae

2.1.1 Sistemática del grupo

La familia Melolonthidae Leach, 1819, fue definida por Endrödi en 1966 como un grupo con una amplia distribución compuesto por las subfamilias Melolonthinae, Dynastinae, Rutelinae y Cetoniinae, las cuales a su vez se forman de taxones con hábitos fitófagos o fitosaprófagos; esto las diferencia de los demás grupos. De acuerdo con Cherman y Morón (2014), esta clasificación es cuestionada por autores de estudios morfológicos y filogenéticos que apoyan la clasificación utilizada en América del Norte, la cual agrupa esas subfamilias junto con los Scarabaeinae y Aphodiinae coprófagos dentro de la familia Scarabaeidae Latreille, 1802, por lo que argumentaron la validez de la familia Melolonthidae con modificaciones, en el cual proponen aceptar como válido el nombre del agrupamiento Melolonthidae constituido por el clado Dynastinae-Rutelinae-Melolonthinae y retirar a los Cetoniinae de aquel grupo y elevarlos a la categoría de familia (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de la familia Melolonthidae propuesta por Cherman y Morón (2014).

FAMILIAS	SUBFAMILIAS
MELOLONTHIDAE LEACH, 1819	Melolonthinae Leach, 1819 Sericinae Kirby, 1837 Hopliinae Latreille, 1829 Euchirinae Hope, 1840 Rutelinae MacLeay, 1819 Dynastinae MacLeay, 1819
CETONIIDAE LEACH, 1815	Cetoniinae Leach, 1815 Trichiinae Fleming, 1821 Valginae Mulsant, 1842 Osmodermatinae Schenkling, 1922

2.1.2 Ciclo de vida

En su etapa adulta, estos coleópteros son popularmente conocidos como “mayates”, “escarabajos de mayo”, “escarabajos sanjuaneros” o “escarabajos de junio”, mientras que las larvas son conocidas como “gallinas ciegas”, “nixticuiles”,

“gusanos blancos”, “chisas” y “yupos” (Morón *et al.*, 1997; Zamora-Vuelvas *et al.*, 2014). De acuerdo a la especie y al patrón climático de la región, existen principalmente ciclos vitales anuales y bianuales en los Melolonthidae distribuidos en México. El ciclo de vida general de un integrante de esta familia consiste en cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto (Figura 1). Los huevos son esféricos, de color blanco aperlado, con un tamaño que va de 1.5 a 3 mm de diámetro, y son depositados en suelos húmedos, donde permanecen enterrados hasta su eclosión (Girón- Pablo, 2008). Las larvas pasan por tres estadios; el primero emerge cuando se rompe la cubierta del huevo (corion); consta de una cápsula cefálica con partes bucales masticatorias. La transición del primer estadio al segundo y del segundo al tercero se caracteriza principalmente por un cambio significativo en las dimensiones de la cápsula cefálica (Morón *et al.*, 1997). Durante la primavera, las larvas de tercer estadio construyen una celda o cámara ovoide, compactándola con sus excrementos a una profundidad de 15 a 20 cm, expulsando todo el contenido de su aparato digestivo, inmovilizándose como prepupa durante una o dos semanas hasta que se convierte en pupa exarada. La pupa se parece morfológicamente al adulto, aunque las alas, patas, y la antena se mantienen plegadas y próximas al cuerpo. Son de color blanco cremoso, amarillo o marrón. Cuando la pupa se ha convertido en adulto, se rompe la exuvia pupal. En la etapa de adulto, el adulto teneral presenta una cutícula blanda, permanecen en la celda pupal hasta que madura su aparato reproductor y se incrementa la humedad y temperatura para realizar sus primeras actividades en el exterior (Girón-Pablo, 2008).

Aragón *et al.* (2005) describieron el ciclo de vida de especies del género *Phyllophaga* como *Phyllophaga ravidia* Blanchard, *Phyllophaga macrocera* Bates, *Phyllophaga vetula* Horn, *Phyllophaga ilhuicaminai* Morón y *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, describiendo que *P. ravidia* tuvo un periodo desde huevo hasta imago de 200.19 días en promedio. En general, se cita la duración del ciclo de cada una de estas. Para *P. macrocera*, se indica que se registró un tiempo de desarrollo de 218.6 días; a su vez, el desarrollo de *P. vetula* desde huevo hasta imago ocurrió en un promedio de 272.19 días, *P. ilhuicaminai* registró un tiempo de desarrollo de 207.15 días, mientras que el desarrollo de *P. obsoleta* de huevo a imago se llevó a cabo en un promedio de 227.14 días.

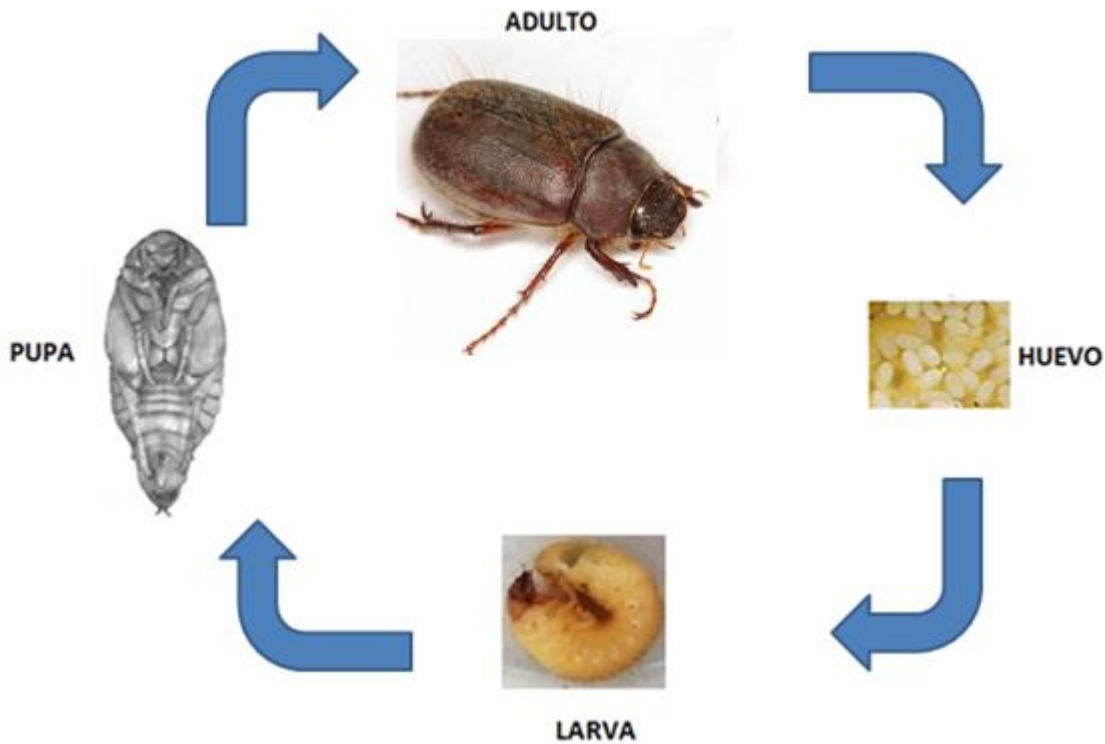


Figura 1. Ciclo de vida general de los miembros de la familia Melolonthidae.

2.1.3 Morfología externa de adultos y larvas

Los adultos poseen mandíbulas esclerosadas y sus antenas están formadas por ocho o diez artejos, de los cuales, tres a siete corresponden a la maza antenal. Su tamaño suele variar entre especies, los adultos presentan una longitud que va de 3 a 130 mm, la anchura máxima de los élitros es de 1.8 a 51 mm y la expansión alar de entre 8 a 230 mm, mientras que la longitud dorsal puede medir de 12 a 225 mm, y la anchura del abdomen de 2 a 40 mm (Morón *et al.*, 2014). El dimorfismo sexual también es diverso; generalmente los machos de esta familia presentan una serie de pequeñas diferencias estructurales asociadas a la búsqueda de hembras y comportamiento copulatorio y la mayoría de estas modificaciones se localizan en las patas, como en las almohadillas tarsales, en las uñas tarsales especialmente curvadas, espolones tibiales, hileras de setas tarsales, etc. (Romero- López y Morón, 2013). Las larvas, por su parte, en el primer estadio son de color blanco cremoso y miden alrededor de 5 mm de largo; las de segundo estadio pueden medir alrededor de 26 mm y las de tercer estadio de 30 a 40 mm. Tienen un cuerpo robusto y curvado, con varios pliegues transversales, excepto en la región trasera, la

cual es lisa y brillante, donde se puede observar una coloración oscura debido al suelo ingerido (Girón, 2008). En muchas consideraciones y técnicas de identificación utilizadas en larvas de tercer estadio, se toma en cuenta principalmente la forma de su abertura anal, componentes del raster, características de la palidia y palidium, tamaño y color de la cabeza, mandíbula y último artejo anal (Díaz, 2002).

2.1.4 Distribución y hábitos

Estos coleópteros poseen una gran distribución mundial y en México esta distribución geográfica y ecológica es heterogénea, siendo derivada de la complejidad orográfica, climatológica y vegetacional del país (Morón, 2001). Generalmente, los adultos emergen del suelo entre los meses de abril y mayo al iniciar el periodo de lluvias; se ha descrito que sus vuelos son nocturnos, ocurriendo entre las 6:30 y 8 pm (tiempo de verano) para ir en busca de alimento o copular (Ramírez- Salinas, 2000). En el caso de las larvas, es posible que la presencia de diferentes microorganismos le permitan a la larva cambiar el tipo de sustrato que ingiere, en la condición llamada hábito facultativo y se ha observado también que las larvas del primer estadio de *Phyllophaga* se alimentan únicamente de la materia orgánica degradada y al pasar al segundo estadio comen raíces vivas, ocasionalmente mezcladas con humus; durante el tercer estadio se alimentan exclusivamente de raíces, incluyendo tejidos del tallo o tubérculos (Morón *et al*, 2010).

2.2 Ecología química de coleópteros Melolonthidae

2.2.1 Conceptos básicos

La Ecología química se encarga del estudio de las interacciones biológicas mediadas a nivel molecular, lo cual incluye la producción y caracterización química de las señales moleculares, así como sus mecanismos de emisión y transmisión, su detección en los organismos receptores, la transducción de las señales y las respuestas de comportamiento o desarrollo mediadas de forma neuroendocrina

(Meinwald y Eisner, 2008). Entre ellos se pueden identificar los siguientes estímulos químicos:

Infoquímicos

Se trata de compuestos que intervienen, acarreado información, en la interacción entre dos individuos, despertando en el receptor una respuesta fisiológica o conductual de carácter adaptativo para uno de los organismos interactuantes o para ambos. De esta forma, el organismo receptor comúnmente actúa como un espía que utiliza los químicos del emisor como fuente de información (Dicke y Sabelis, 1988; Anaya, 2003). Estos a su vez se dividen en feromonas, las cuales son infoquímicos que median la interacción entre organismos de la misma especie y aleloquímicos, que median la interacción entre organismos de diferente especie (Anaya *et al.*, 2001). Se reconocen tres clases de aleloquímicos: las alomonas, que pertenecen a la biología de un organismo (organismo 1) y que, cuando entra en contacto con un individuo de otra especie (organismo 2) provoca en el receptor una respuesta etológica o fisiológica que es adaptativamente favorable para el organismo 1 pero no para el organismo 2; las kairomonas, que de igual manera pertenecen a la biología de cierto organismo (organismo 1), pero que al entrar en contacto con un individuo de otra especie (organismo 2) desencadena una respuesta conductual o fisiológica que resulta favorable adaptativamente para el organismo 2, pero no para el organismo 1; también están las sinomonas, pertenecientes a cierto organismo (organismo 1) que cuando entra en contacto con el individuo de otra especie (organismo 2) provoca una respuesta favorable para ambos (Dicke y Sabelis, 1988; Badii *et al.*, 2010).

Semioquímicos

El término semioquímico proviene del griego *semion*, que significa marca o señal, asumiendo que el compuesto químico es emitido con un propósito definido hacia el receptor, dando lugar a una verdadera comunicación (Nordlund y Lewis, 1976; Mareggiani, 2001). Esta terminología se basa principalmente en el origen de los compuestos en interacciones específicas, solo esas interacciones se consideran cuando uno de los interactuantes es el productor o emisor del compuesto químico (Nordlund y Lewis, 1976). Los semioquímicos se subdividen también en feromonas y aleloquímicos, y estos a su vez en alomonas, kairomonas y sinomonas, incluyendo además las apneumonas, las cuales son sustancias químicas emitidas por factores

abióticos que provoca una respuesta fisiológica o conductual adaptativa para el organismo receptor pero perjudicial para un individuo de otra especie que tenga contacto con la materia no viva (Nordlund y Lewis, 1976).

Atrayentes

Estímulos químicos provenientes de diversas fuentes que causa respuestas no necesariamente específicas en individuos de ambos sexos, de una o diferentes especies y se le considera como atrayente sexual cuando provoca respuestas similares en individuos de un sólo sexo (Romero-López *et al*, 2005).

Repelentes

Sustancias que provocan reacciones de alejamiento en un organismo (Cubillo y Hilje, 1996) y puede ser también una mezcla de compuestos químicos, la cual en fase gaseosa provoca en el insecto movimientos que lo alejan de una fuente de alimento (Alzogaray *et al.*, 2000).

2.2.2 Esquemas de comunicación química

El estudio de la comunicación química en insectos ha permitido conocer la etapa de su comportamiento en donde se da el intercambio de información química. En el caso de los coleópteros Melolonthidae, se han estudiado dos esquemas de comunicación química, siendo uno de ellos la comunicación química sexual, en los cuales están involucrados un emisor (generalmente las hembras), la producción y liberación del mensaje químico (atrayerentes o feromonas sexuales) y la localización de éste por parte del receptor (generalmente los machos). El otro esquema es la comunicación química alimentaria, donde estos tres elementos son de igual forma el eje fundamental de la comunicación, modificándose únicamente los interactuantes propios de la relación planta-insecto (Romero- López, 2016).

Comunicación química sexual

El interés en el estudio de la comunicación química sexual de los insectos fitófagos se ha incrementado actualmente, teniendo un gran impacto en el área agrícola con el monitoreo, manejo y control de plagas, ya que permite conocer la etapa de su comportamiento en que puede observarse algún tipo de comunicación basada en el uso de sustancias químicas (infoquímicos), la cual se considera como comportamiento precopulatorio, ocurriendo entre el momento en el que el emisor (generalmente la hembra) del infoquímico es localizado por el receptor

(generalmente el macho), hasta que se da el contacto sexual, de esta forma, es importante tomar en cuenta algunos aspectos como la fase en la que pudiera estar involucrado algún atrayente, el momento en el que se da la atracción entre ambos individuos (cortejo) y su desenlace, es decir, el acercamiento y contacto sexual (Romero-López, 2003).

Comunicación química alimentaria

Las plantas suelen producir compuestos volátiles orgánicos, los cuales pueden ser liberados por las flores, frutos o también por tejidos vegetativos, y estas mezclas generalmente están conformadas por terpenos, derivados de ácidos grasos y compuestos aromáticos (Marín-Loaiza y Céspedes, 2007). Los volátiles presentan funciones ecológicas importantes para las plantas: atracción de polinizadores, apoyo en diseminación de semillas y resistencia al ataque de depredadores y patógenos. Además, median una serie de interacciones entre organismos de diferentes niveles tróficos, por lo que resultan ser señales importantes para muchos artrópodos en la búsqueda de alimento o pareja, y para evitar depredadores; es posible que estos compuestos sean producidos sólo cuando son esenciales en la historia de la vida de un organismo o cuando son un subproducto inevitable de algún otro proceso esencial (Hochberg *et al.*, 2003; Romero-López, 2011). La comunicación química alimentaria en los Melolonthidae se basa en las interacciones entre larvas o adultos con partes aéreas o raíces de sus plantas hospederas, en este caso, con fines de alimentación, en las cuales están involucrados infoquímicos (Romero-López, 2016). Se ha reportado que en la mayoría de los melolontidos, el flagelo de la antena consiste en tres placas de laminillas terminales, denominadas proximal, media y distal, y se han identificado seis tipos de sensilas en las superficies internas y externas de las laminillas de ambos sexos: placoideas (PLAS), basicónicas (BAS), celocónicas (COS), auricílicas (AUS), quéticas (CHS) y tricoideas (TRS), siendo las primeras cuatro consideradas como sensilas quimiorreceptoras, y las dos últimas como sensilas mecanorreceptoras, y se describió que en *P. obsoleta* hay un mayor número de sensilas basicónicas en la superficie externa de la laminilla proximal en las hembras respecto a los machos, sugiriendo que estas sensilas desempeñan un papel importante en la recepción de volátiles de las plantas (Romero-López *et al.*, 2004).

2.3 Comportamiento de integrantes de Melolonthidae ante estímulos químicos

2.3.1 Adultos

Se han reportado estudios sobre su comportamiento sexual, sobre todo en patrones previo a la cópula. Para el género *Phyllophaga*, se ha descrito el comportamiento precopulatorio de los adultos, el cual consiste en que mientras las hembras emergen, los machos vuelan buscando un punto elevado en donde posarse para rastrearlas. Para atraer a los machos distantes, las hembras realizan un “llamado sexual”, que se refiere a un comportamiento específico donde se expone la cámara genital. Esto define un mecanismo de atracción sexual basado en una secuencia de estímulos olfatorios, visuales y táctiles (Morón, 1986; Romero-López, 2016).

2.3.2 Larvas

La orientación de las larvas hacia diferentes fuentes de alimento es mediada principalmente por los compuestos químicos emitidos por las plantas hospederas y en algunos casos el factor odorífero resulta importante en especies como *Phyllophaga tumulosa* Bates; sin embargo, *P. ravidata* al parecer se guía por la recepción gustativa. Son importantes los estudios sobre la preferencia alimentaria de las larvas en la comprensión de las respuestas de los insectos hacia diferentes plantas, y así predecir los efectos de su combinación en campo (Méndez-Aguilar *et al*, 2008). Osborne y Boyd (1974), efectuaron pruebas de laboratorio con larvas de tercer estadio de *Costelytra zealandica* White, donde evaluaron las preferencias de las larvas hacia atrayentes químicos, reportando que fueron principalmente atraídas por el terpeno α -fechol, registrando respuestas rápidas. No obstante, en la literatura revisada al momento, no se ha encontrado información sobre los movimientos, actos o posturas mostradas por larvas de este grupo, hacia estímulos químicos liberados por sus plantas hospederas.

2.3.3 Etogramas

Dentro de la Etología existen herramientas que permiten estudiar el comportamiento de animales de forma gráfica y el más utilizado es el etograma. Un etograma es clásicamente considerado como un catálogo completo de los patrones de comportamiento de un animal; estos patrones se deben describir con suficiente

detalle para ser reconocidos fácilmente. Dentro de estas descripciones no se incluyen explicaciones sobre la causa del comportamiento, por lo que debe ser una descripción lo más objetiva posible. Los etogramas son especializados y son válidos para individuos en un determinado contexto, tomando en cuenta además una determinada etapa de la vida del individuo o sexo (Brockmann, 1994).

Existen escasos etogramas para Melolonthidae, Destacan los correspondientes al comportamiento precopulatorio de adultos *P. obsoleta* Blanchard (Romero-López y Arzuffi, 2010) y a la interacción con plantas hospederas de *Macrodactylus mexicanus* Burmeister (Morales-Blancas y Romero-López, 2019) y *M. nigripes* (Nieves-Silva y Romero-López, en prensa). Para larvas de esta familia no hay registros de este tipo. Sin embargo, Sandoval y Manzano (2012) construyeron un etograma para la larva de *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae), en el cual determinaron los eventos de comportamiento de perforación del fruto de lulo y su duración por parte de la larva.

2.3.4 Bioensayos de confirmación

Se le considera como bioensayo al experimento en el cual el detector de actividad es un ser vivo o parte de su sistema sensorial, permitiendo evaluar la actividad biológica de los estímulos químicos y visuales involucrados en la búsqueda de alimento, planta hospedera o pareja sexual de parte del organismo, basándose principalmente en respuestas fisiológicas o conductuales de organismos completos o respuestas electrofisiológicas de órganos o estructuras aisladas (Romero-López y Arzuffi, 2010). Las “arenas” son instrumentos para experimentación que suelen utilizarse para el análisis de la capacidad de atracción o repelencia de algunos componentes sobre insectos (Fontán, 1999). Existen también las “arenas de bioensayos de trébol”, las cuales son un método flexible para evaluar la fototaxia en los insectos, además de una gran variedad de patrones de comportamiento naturales como respuestas de escape y alimentación (Cohnstaedt *et al.*, 2018). En el caso de los olfatómetros, se trata de instrumentos que permiten evaluar respuestas olfativas, reportándose los de aire estático, que son utilizados para medir respuestas quimiotáctiles u olfativas a corta distancia o en situaciones en donde los estímulos químicos se difunden en el espacio sin ser transportadas por una corriente de viento (en su forma pasiva) y también los de flujo de viento que se

emplean en la detección y medición de respuestas de atracción de insectos a señales olfativas emitidas en distancias largas y medianas (en su forma activa) (Pacheco *et al.*, 2012; Nieves-Silva y Romero-López, 2016).

Para los coleópteros Melolonthidae, se han utilizado olfatómetros de dos vías para establecer bioensayos con atrayentes sexuales de adultos de *P. obsoleta* (Romero-López y Arzuffi, 2010), *M. mexicanus* y *M. nigripes* (Martínez-Bonilla, 2019), así como para extractos de estructuras reproductoras de *M. mexicanus* (García-Canales y Romero-López, 2017). Para extractos vegetales, se propuso el empleo de un olfatómetro portátil de cuatro vías para evaluar la preferencia de hembras y machos de *M. nigripes* Bates (Nieves-Silva y Romero-López, 2016).

2.3.5 Simulación virtual de eventos biológicos

Los simuladores biológicos son una herramienta que, mediante la configuración de software y hardware, nos permite estudiar el comportamiento de un proceso o sistema físico con ayuda de algoritmos de cálculo (Fuchs *et al.*, 2010). Una ventaja que aportan es que toman en cuenta las limitaciones reales de los laboratorios, tales como el aprovechamiento de tiempo, los costos de instrumentación, los gastos de operación, la falta de persona, entre otros factores, esto con la finalidad de que los resultados generados por el simulador sean semejantes a los encontrados en los experimentos reales. Hasta la fecha sólo se han trabajado en simuladores para el caso de un experimento de infiltración del agua en el suelo provocada por lombrices y por larvas de tercer estadio del género *Orizabus* (Pelcastre-Neri *et al.*, 2017), pero no existen estudios relacionados a la simulación del comportamiento alimentario en gallinas ciegas.

2.4 Uso de extractos vegetales para el control de Melolonthidae

2.4.1 Generalidades sobre extractos vegetales

Los extractos vegetales son obtenidos directamente de las plantas, siendo extraídos principalmente de las hojas mediante diferentes métodos: extracción con agua o disolventes orgánicos y agua, así como destilación por arrastre con vapor de

agua en el caso de compuestos volátiles (Delgado- Casale, 2012). Estos extractos de origen vegetal han sido utilizados desde la antigüedad por los hindúes, chinos, griegos y romanos con fines rodenticidas, insecticidas y conservación de víveres almacenados, combatiendo de esta forma las plagas. Sin embargo, a partir de la Segunda Guerra Mundial, la primera generación de insecticidas de origen vegetal, como las piretrinas, nicotina y rotenona, fueron sustituidos por pesticidas de síntesis química. Sin embargo, en las últimas dos décadas se ha reanudado el estudio de los productos de origen vegetal en su parte química. Los extractos vegetales se caracterizan por la presencia de ciertos metabolitos secundarios, que forman parte de las estrategias defensivas de las plantas, siendo agrupados en compuestos nitrogenados y no nitrogenados, los cuales conceden a los extractos propiedades anti alimentarias, antivirales, antimicrobianas, repelentes y además, las de inhibir la germinación de las semillas, permitiendo su uso para proteger los cultivos y mejorar su producción (Celis *et al.*, 2009).

2.4.2 Casos de éxito para el control de insectos

Estrella (2010) llevó a cabo un estudio sobre la ecología química de *Vismia mexicana* (Schltdl., Hypericaceae), en donde se reportó que las hojas de esta especie sintetizan alcanos de cadena larga, observando que en *Spodoptera frugiperda* Smith y en otros insectos, provoca una menor palatabilidad, ya que al incorporarlas a su dieta inhiben la alimentación de los insectos. Llanos *et al.* (2008) determinaron la actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (L., Annonaceae) sobre coleópteros de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (“gorgojos del maíz”), obteniendo como resultado que estos extractos hexánicos aplicados por ingestión, son efectivos para el control de estos insectos. Por su parte, Pizarro *et al.* (2013) evaluaron la actividad insecticida del polvo de *Peumus boldus* (Molina, Monimiaceae) aplicado a los adultos y estados inmaduros de la misma especie de gorgojo a diferentes concentraciones, las cuales mostraron efectos repelentes y una baja emergencia en los adultos, así como una mortalidad mayor al 90% y no se registró efecto negativo en la germinación del maíz; se concluyó que este extracto vegetal es viable para el control de esta especie. Este mismo efecto se estudió también en el aceite de neem y otros extractos vegetales sobre las larvas del lepidóptero *Heliothis zea* Boddie de acuerdo con Vallejo (2007), mostrando que estos extractos tuvieron un efecto de repelencia y en el desarrollo de las larvas más

que de mortalidad. Amariles-Barrera *et al.* (2013) determinaron estos efectos insecticidas con extractos metanólicos de *Gliricidia sepium* (Jacquin, Fabaceae), *Sapindus saponaria* (Michú, Sapindaceae) y *Annona muricata* (L., Annonaceae), aplicados a las larvas de *Aedes aegypti* L., concluyendo que su uso para el control de estadios inmaduros de estos dípteros es considerable. Por otro lado, Pérez y Lannacone (2006) evaluaron la repelencia y la mortalidad de diez plantas con potencial biocida: *Heliotropium indicum* (L., Boraginaceae), *Brugmansia* sp. (Pers., Solanoideae), *Tradescantia zebrina* (Heynh. ex Bosse, Commelinaceae), *Jathropa curcas* (L., Euphorbiaceae), *Paullinia clavifera* (Schltdl., Sapindaceae), *Euphorbia cotinifolia* (L., Euphorbiaceae), *Bixa orellana* (L., Bixaceae), *Cassia fistula* (L., Fabaceae), *Aristolochia pilosa* (Kunth, Aristolochiaceae) y *Chondrodendron tomentosum* (Ruiz y Pav., Menispermaceae), sobre las larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., obteniendo los mayores porcentajes de mortalidad y repelencia con *Aristolochia pilosa*, *Tradescantia zebrina* y *Chondrodendron tomentosum*.

2.4.3 Casos de éxito para el control de coleópteros Melolonthidae

Son escasos los estudios sobre el uso de extractos vegetales para el control de coleópteros Melolonthidae; sin embargo, Salamanca *et al.* (2001) determinaron la actividad biológica de extractos polares, medianamente polares y no polares de *Calendula officinalis* (L., Asteraceae), *Raphanus sativus* (L. Brassicaceae) y *Ruta graveolens* (L. Rutaceae) y también las semillas de *Annona squamosa* (L. Annonaceae), *Annona cherimolia* (Mille, Annonaceae) y *Annona muricata* (L., Annonaceae) sobre larvas de *P. obsoleta*, observándose los mayores porcentajes de mortalidad con extractos medianamente polares de *A. squamosa* y *A. muricata*, además de los apolares de *A. squamosa*, *R. graveolens*, *R. sativus* y *A. cherimolia*, por lo que se sugiere su uso como control biológico. Torres (2009), reportó el efecto de los extractos de las hojas de *Piper auritum* (Kunth., Piperaceae) y la raíz de *Barkleyanthus salicifolius* (Kunth., Asteraceae) en la alimentación de gallinas ciegas de *P. ravidus* y *P. obsoleta*, concluyendo que la actividad biológica de estos extractos es de tipo insectistático, efecto que se puede determinar mediante la inhibición de la alimentación, crecimiento, desarrollo y oviposición del insecto, de acuerdo con Marín-Cruz *et al.*, (2017), y no insecticida, obteniendo una mortalidad de sólo 1%; sin embargo, hubo modificación en el patrón de búsqueda de alimento en las larvas de ambas especies. Chávez *et al.*, (2014), por su parte, analizaron el efecto

insecticida *in vitro* de extractos crudos de *Beauveria bassiana* (Bals.) sobre larvas de *Phyllophaga* spp., donde hubo un efecto perjudicial para estas, siendo sugeridos los extractos como alternativa para el manejo de la plaga.

2.5 Información sobre los modelos biológicos del presente estudio

2.5.1 El género *Phyllophaga*

El género *Phyllophaga* está representado en México por 387 especies, algunas de ellas con una distribución que va hacia América Central y del Sur o al Sur de los Estados Unidos de América y sólo se han logrado describir las larvas de 22 especies, que se encuentran principalmente en terrenos cultivados, y forman parte de un complejo de especies popularmente conocido como “gallinas ciegas” (Morón *et al.*, 2016). De manera general, los adultos son de talla pequeña o mediana; pueden medir de 8-28 cm, de cuerpo alargado u ovalado, con el labro profundamente emarginado; las antenas están formadas por 8 a 10 artejos; su maza antenal consta de tres a seis lamelas de longitud y grosor variable; el dimorfismo sexual se acentúa en las antenas, vestidura, abdomen y uñas tarsales. La mayoría de las especies pueden identificarse mediante las estructuras genitales masculinas y en algunos casos con las placas genitales femeninas (Morón *et al.*, 1997).

Estas especies pueden ser consideradas como indicadores ecológicos y zoogeográficos, debido a que tiene una gran importancia ecológica como consumidores primarios, además de ser una buena fuente de alimento para especies mayores, lo que deriva en su gran abundancia y capacidad de adaptación (Morón, 1986).

2.5.2 *Phyllophaga vetula* Horn

Los adultos de *P. vetula* presentan una longitud de 26 a 28 mm, con una anchura elitral de 9 a 11 mm, coloración parda-rojiza, parda-amarillenta o parda-obscura, casi negra, con pruinosidad blanca de intensidad variable, más notable en los élitros y abdomen. Las antenas poseen diez artejos y su maza antenal es tan larga como el funículo; los espolones metatibiales articulados con el borde apical. El borde inferior de las uñas tarsales presenta un diente corto ligeramente aproximado a la dilatación basal; la placa anal masculina presenta un reborde basal estrecho y

dos procesos centrales redondeados, poco prominentes (Marín-Jarillo y Bujanos-Muñiz, 2008). Las larvas de tercer estadio se caracterizan por presentar una cápsula cefálica con una anchura de 5.6 mm a 5.8 mm; las áreas incisivas de ambas mandíbulas tienen una lámina cortante distal separada de un dientecillo incisivo proximal por una escotadura incisiva; el último artejo antenal presenta un área sensorial ovalada en la superficie dorsal y dos áreas sensoriales más pequeñas en la superficie ventral. La frente presenta 14-16 sedas en el borde anterior, la epifaringe tiene 12 heli dispuestos en tres hileras y carece de proplegmata; el raster muestra una séptula oval-elongada, los palidia regulares formados por 20-24 *pali* cortos, curvos y algo deprimidos; el labio anal dorsal presenta pocas sedas espiniformes esparcidas y algunas sedas largas, mientras que el labio anal ventral se encuentra estrecha y profundamente hendido; la abertura anal tiene una forma de "V" muy abierta; la longitud total aproximada por el dorso del cuerpo es de 52-56 mm (Aragón y Morón, 2004).

La actividad de vuelo en esta especie ocurre durante abril y mayo, teniendo su máxima actividad a finales de abril. Los machos emergen del suelo antes que las hembras, se agrupan al ras del suelo esperando a que salgan, compitiendo para encontrar pareja. La hembra, al estar dispuesta para la cópula expone parte de su saco genital, y al iniciar la cópula (que tiene una duración de 5 a 10 minutos) comienza a enterrarse para posteriormente ovipositar en el suelo, sin volver a emerger (Aragón *et al.*, 2005). *P. vetula* presenta un ciclo anual, con un periodo de incubación de entre 10 y 16 días, el primer estadio larval tiene una duración de 17 a 39 días, mientras que el segundo estadio se desarrolla en un periodo de 18 a 72 días; el tercero de 104 a 143 días. El estadio de pupa dura aproximadamente de 62 a 89 días, por lo que su desarrollo desde huevo hasta imago ocurre en un promedio de 272.19 días (Aragón *et al.*, 2005).

Phyllophaga vetula es una especie con una amplia distribución que va desde Arizona, Nuevo México y Texas en los Estados Unidos. En México, se localiza en los estados de Durango, Hidalgo, Jalisco, Distrito Federal, Estado de México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Sonora y Veracruz. Se encuentran en pinares, encinares, matorrales, pastizales naturales e inducidos, jardines, terrenos de cultivo y vegetación ruderal, establecidos entre los 800 y 2400 m de altitud. Los adultos se alimentan del follaje de diferentes árboles, arbustos y herbáceas, y las

larvas se desarrollan en el suelo alimentándose sobre todo de raíces de gramíneas (Marín-Jarillo y Bujanos-Muñiz, 2008). Debido a sus hábitos, es en su etapa larval cuando más daño causa a los cultivos y *P. vetula* es una de las especies que causan una gran pérdida económica en América Latina, afecta a más de 40 cultivos alimentarios, principalmente el maíz y su manejo convencional con pesticidas químicos provocan daños al ambiente (Girón-Pablo *et al.*, 2015; Zitlalpopoca-Hernández, 2017).

2.5.3 Especie vegetal a emplear como estímulo

Decachaeta incompta (DC King y Robinson, Asteraceae) (Figura 2) es una planta herbácea utilizada como medicina tradicional en el estado de Oaxaca para tratar la diarrea (Bautista *et al.*, 2012; Calzada *et al.*, 2009). Los estudios químicos han mostrado que contiene lactonas sesquiterpénicas de tipo heliangólido, como la Incoptina A y B (Figura 3); estos compuestos han mostrado propiedades antiprotozoarias y antibacterianas. La incoptina A el principal compuesto antiprotozoario contra *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, mientras que la incoptina B presenta propiedades antibacterianas contra bacterias gram-negativas resistentes al cloranfenicol, de tal manera que *D. incompta* puede ser una alternativa en el uso de polvos vegetales para el control de *P. vetula*.



Figura 2. Ejemplar de *Decachaeta incompta* en el Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la UNAM, recolectado por D.E. Breedlove y T.F. Daniel (1988).

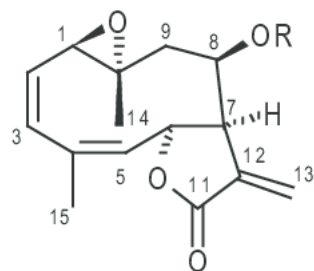


Figura 3. Estructura química de *Decachaeta incompta*. “Incomptina A”, R = OAc; “Incomptina B”, R = OH.

3. JUSTIFICACIÓN

Las gallinas ciegas, en su entorno natural, forman parte de la macrofauna edáfica, alimentándose principalmente de la materia orgánica del suelo. Con la reducción de esta en el suelo, algunas especies de estos insectos modifican sus hábitos para dirigirse hacia las raíces de cultivos agrícolas, lo que provoca efectos nocivos en ellos (Romero-López *et al.*, 2010). Esta dualidad ha llamado la atención de los especialistas, ya sea para la conservación de las especies “benéficas” o para atenuar la actividad de aquellas especies “plaga”. Para la toma de decisiones en uno u otro sentido, resulta indispensable obtener información sobre el ciclo de la vida, con énfasis en el comportamiento de los involucrados. Para evaluar si una especie de gallina ciega es saprógafa o rizófaga, tradicionalmente se han tomado en consideración los efectos que provocan en las raíces e indirectamente en las partes aéreas de las plantas, más no la respuesta del insecto en respuesta a los estímulos que pudieran estar liberando en la rizósfera. En este sentido, aunque existen algunos estudios que abordan el efecto que provocan los estímulos químicos liberados por las raíces y otros organismos del suelo en diversos estadios de los insectos (Méndez-Aguilar *et al.*, 2008; Sutherland y Hillier, 1974), se ha omitido la evaluación de la respuesta de las gallinas ciegas hacia compuestos químicos que pudieran estar liberando los sustratos potencialmente alimentarios, ya sean atractivos o repulsivos para ellas.

Por esta razón, en el presente trabajo se pretende estudiar el comportamiento y respuestas de larvas de *P. vetula* ante sustratos alimentarios y compuestos de *D. incompta*, una planta con propiedades medicinales y para la cual se desconoce su efecto en insectos. Asimismo, se propone la evaluación del índice de alimentación de estas gallinas ciegas antes los sustratos y polvos mencionados, proponiéndose un sistema de simulación virtual de este evento.

4. HIPÓTESIS

Las larvas de *P. vetula* presentan una secuencia de patrones de comportamiento que evidenciará respuestas de atracción hacia estímulos químicos liberados por los fragmentos de sustrato alimentario. Dichas respuestas serán modificadas por la adición de Incomptinas A y B añadidas al sustrato alimentario.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Evaluar el comportamiento y las respuestas de larvas de *P. vetula* de tercer estadio ante sustratos alimentarios y ante las sustancias vegetales incomptina A y B.

5.2. Particulares

1) Registrar los patrones de comportamiento de las larvas ante fragmentos de zanahoria y papa, así como a la incomptina A y B.

2) Determinar el tipo de respuestas de las larvas de *P. vetula* hacia los diferentes estímulos.

3) Registrar el Índice de alimentación de las gallinas ciegas bajo estudio, por contacto directo a los sustratos alimentarios.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de gallinas ciegas de *P. vetula* y compuestos de *D. incompta*.

Las larvas de tercer estadio de *P. vetula* se recolectaron en parcelas con cultivo de maíz del municipio de Erongarícuaro, Michoacán, con el apoyo del grupo de investigación del Dr. Miguel Bernardo Nájera Rincón del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), campus Morelia, concentrándolas y manteniéndolas en el Laboratorio de Infoquímicos y Otros Productos Bióticos de la BUAP. La determinación taxonómica de las gallinas ciegas empleadas en la fase experimental se basó en las claves propuestas por Morón (1986). Las larvas de esta especie se caracterizan principalmente por poseer un raster con un par de *palidia* longitudinales casi paralelos, ligeramente convergentes en el extremo caudal, cada *palidium* está formado por 24-25 *pali* cortos, además de la abertura anal caracterizada por presentar una forma de “V” muy abierta (Figura 4).

La “incomptina A” e “incomptina” B se extrajeron a partir de hojas de *D. incompta* y fueron facilitados por el Dr. Ricardo Reyes Chilpa y el Dr. Alfredo Ortega del Instituto de Química de la UNAM.



Figura 4. Imagen que muestra el raster y palidia de las larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* utilizadas en la fase experimental del estudio.

6.2 Registros de comportamiento y de respuestas de larvas en “arenas de observación”

Se seleccionaron sesenta gallinas ciegas de tercer estadio temprano de *P. vetula* con apariencia externa saludable (cuerpo y apéndices completos y sin heridas visibles, coloración del cuerpo blanquecina transparente que permitía observar suelo en el interior de cada insecto, movilidad constante y reacción inmediata a estímulos mecánicos). Estas larvas se alimentaron con fragmentos de zanahoria fresca (*Daucus carota* (L.)) de 1 cm³ adquirida en mercado público, durante 24 h. Después de este periodo, los insectos se mantuvieron sin alimento durante otras 24 h para posteriormente suministrarles fragmentos de papa fresca (*Solanum tuberosum* (L.)), de 1 cm³ adquirida en mercado público, durante otras 24 h. Por último, se les dejó en ayuno durante 24 h, previo a la fase experimental. Tanto los fragmentos de zanahoria como los de papa se emplearon como controles al momento de las observaciones, mientras que como tratamientos se utilizaron los polvos vegetales de incomptina A y B impregnando los fragmentos de zanahoria o papa, según fuera el caso. Las “arenas de observación” consistieron en cajas Petri de vidrio chicas con tres divisiones dispuestas con papel filtro (Figura 5). Se efectuaron sesiones de observación directa focal con luz infrarroja de 10 min, de acuerdo con lo sugerido por Altmann (1974), describiendo los actos, posturas y movimientos de cada larva, considerando como “respuestas positivas” a aquellas en las cuales el insecto se desplazara y tuviera contacto durante más de 10 s con sus patas, cabeza o mandíbulas con el papel filtro en el espacio en que estuviera ubicado cada fragmento. Se pusieron a prueba polvos vegetales con base en los tratamientos “zanahoria / zanahoria con compuesto vegetal”, “papa / papa con compuesto vegetal”, “zanahoria / “papa como control” y “papa / “zanahoria como control”, con fragmentos de 1cm³ obtenidos con un sacabocados. En cada dispositivo se colocó el fragmento del sustrato alimentario (papa o zanahoria, según fuera el caso) y otro fragmento con 0.002 g de incomptina B en polvo. La cantidad con la cual fue impregnado cada fragmento fue estimado con base en lo propuesto por Romero-López (2001). Se llevaron a cabo treinta registros de comportamiento (n= 30) para cada tratamiento (incomptina A e incomptina B). Con base en ello se identificaron los patrones de comportamiento que permitieron la construcción de etogramas y se evaluó la respuesta de las gallinas ciegas hacia los diferentes estímulos.



Figura 5. Arena de observación utilizada para los registros de observación, que contiene a la larva de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* y los estímulos correspondientes.

6.3 Evaluación de la inhibición de alimentación de larvas de *P. vetula*

Con base en lo propuesto por Romero-López (2001), se llevaron a cabo las pruebas durante 24 días con incomptina B y 13 días con incomptina A. Se colocaron larvas de tercer estadio temprano con apariencia externa sana en recipientes de plástico con dimensiones de 24.5 cm x 10.6 cm (Figura 6). A cada una se le colocó un fragmento del sustrato alimentario correspondiente de 1 cm³ con 0.002 g de cada incomptina, obteniendo el peso de las larvas y de cada fragmento del sustrato alimentario antes y después de cada prueba. Se registró el porcentaje de sobrevivencia y de pérdida de peso, así como el consumo de las larvas, para cada tratamiento.



Figura 6. Disposición de las larvas de *Phyllophaga vetula* en los recipientes empleados para efectuar las pruebas correspondientes. Modificado de Romero-López (2001).

6.4 Índice de consumo relativo en larvas de *P. vetula*

Por cuestiones prácticas, se llevó a cabo una nueva recolecta de gallinas ciegas de tercer estadio en la localidad de San Martín Tlamapa, en el Municipio de Santa Isabel Cholula, Puebla (Figura 8), ubicado entre los paralelos 18° 55' y 19° 01' de latitud norte, los meridianos 98° 20' y 98° 21' de longitud oeste y altitud entre 1 800 y 2 300 m. Santa Isabel Cholula colinda al norte con los municipios de San Jerónimo Tecuanipan, San Gregorio Atzompa y Ocuycuan, al este con el municipio de Ocuycuan; al sur con los municipios de Ocuycuan y Atlixco y al oeste con el municipio de Atlixco, Tianguismanalco y San Jerónimo Tecuanipan (INEGI, 2009). Las larvas fueron trasladadas en recipientes de plástico al Laboratorio de Infoquímicos y Otros Productos Bióticos de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), para su posterior determinación.

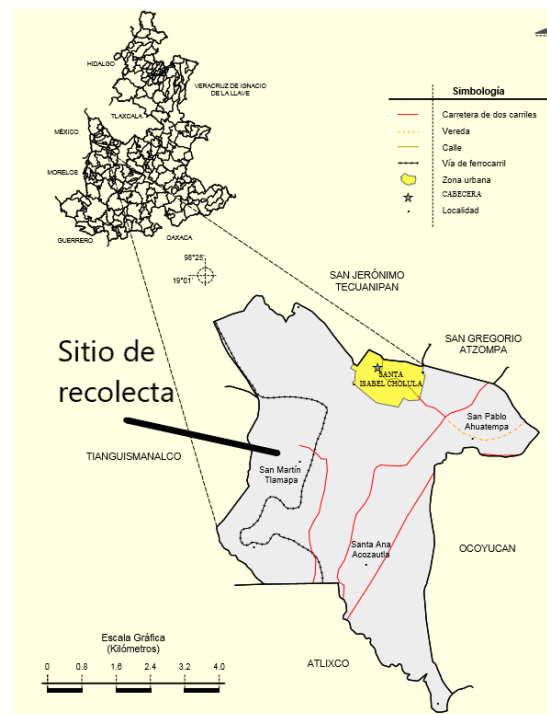


Figura 7. Sitio de recolecta de larvas de *Phyllophaga vetula* (INEGI, 2009)

Se seleccionaron diez larvas de apariencia sana, las cuales se pesaron en una balanza analítica Velab VE-204 (Figura 9) siguiendo la propuesta de Romero- López (2001) y cada una de ellas se pesó junto con un fragmento de sustrato alimentario

(papa o zanahoria) de 1 cm³, en un horario de 10:00 a 12:00 hrs, cada una durante 10 min. Este proceso se repitió durante tres días consecutivos.

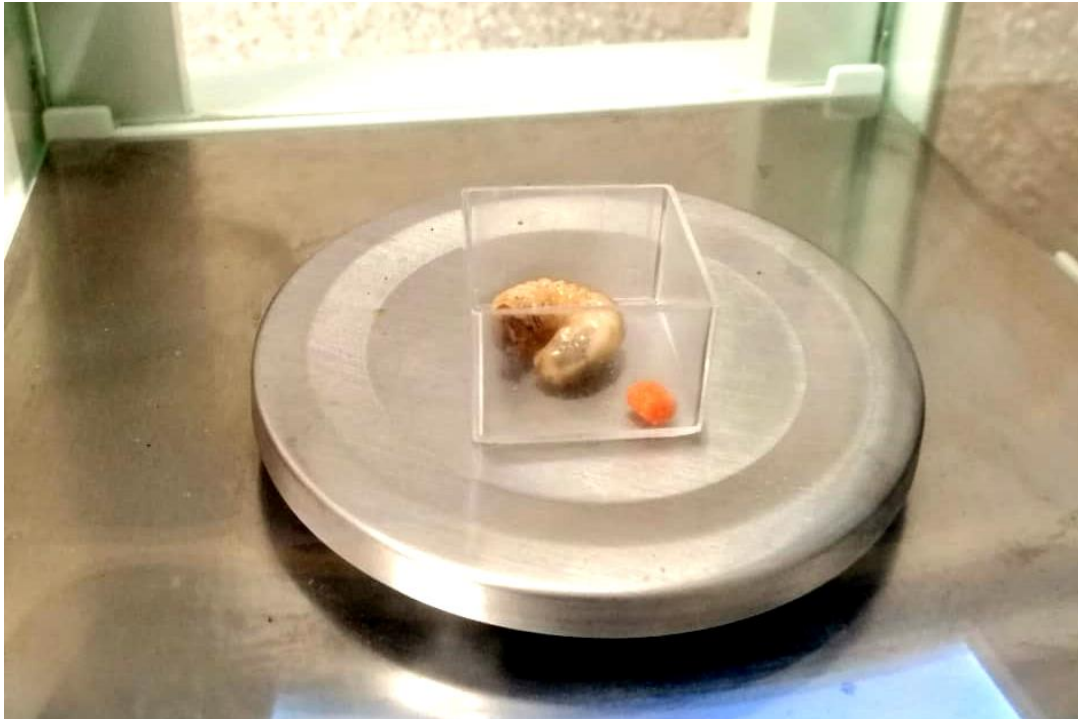


Figura 8. Larva de *Phyllophaga vetula* de tercer estadio junto con un fragmento de sustrato alimentario en la balanza analítica, con la cual se llevó a cabo la prueba de alimentación.

6.5 Análisis de datos

Para los registros de comportamiento y para la evaluación de las respuestas de las larvas hacia los estímulos, se aplicó la prueba estadística de Chi cuadrada, con base en el programa SigmaPlot versión 12.0. En el caso de los datos resultantes de las pruebas de alimentación, se consideró el análisis propuesto por Torres (2009). Para la construcción de un prototipo de simulador biológico relacionado con el comportamiento alimentario, se consideró el Índice de Consumo Relativo (RCR, por sus siglas en inglés) y la eficiencia de conversión de alimento ingerido (ECI, por sus siglas en inglés), siendo calculados a partir del peso de las larvas. De acuerdo a Farrar *et al.* (1989), se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\mathbf{RCR} = I/B$$

Donde:

I= Peso del alimento consumido

B= Peso del individuo

$$\mathbf{ECI} = \Delta B/I$$

Donde:

ΔB = Cambio en el peso

7. RESULTADOS

7.1. Registros de comportamiento

Se identificaron en total siete patrones de comportamiento asociados a la interacción entre las gallinas ciegas de tercer estadio de *P. vetula* con los sustratos alimentarios, los compuestos vegetales y el control (Cuadro 2), siendo el más frecuente el movimiento de patas en el control con un 16.49% en larvas de tercer estadio (Figura 10). Mientras que en la interacción con la incomptina A el movimiento de cabeza y el movimiento de patas tuvieron el mayor porcentaje con 18.45% y en la incomptina B los más frecuentes fueron el movimiento de cabeza y movimiento de patas, ambas con un 19.47%.

Con respecto a las transiciones (Cuadro 3), en el tratamiento control en larvas de tercer estadio se observaron con mayor frecuencia las de movimiento de cabeza- movimiento de patas, y movimiento de patas- movimiento de cabeza, con 8.67%. En el tratamiento con incomptina A, la transición más frecuente en larvas de tercer estadio fue la de movimiento de patas- movimiento de cabeza, con 7.12%. En la incomptina B, las transiciones más frecuentes para larvas de tercer estadio fueron: movimiento de cabeza- movimiento de patas, y movimiento de patas- movimiento de cabeza, con 9.19%.

Cuadro 2. Repertorio de patrones de comportamiento mostrados por las larvas de tercer estadio *Phyllophaga vetula*, en las sesiones de observación.

Patrón de comportamiento	Descripción
MP	Movimiento de patas
MC	Movimiento de cápsula cefálica
MA	Movimiento antenal
MM	Movimiento de mandíbulas
EC	Estiramiento del cuerpo
D	Desplazamiento
A	Acercamiento al estímulo

Cuadro 3. Repertorio de transiciones entre patrones de comportamiento registradas en las larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula*, en las sesiones de observación.

Transición	Descripción
MA- MC	Movimiento antenal- Movimiento de cápsula cefálica
MC- MA	Movimiento de cápsula cefálica- Movimiento antenal
MC- MP	Movimiento de cápsula cefálica- Movimiento de patas
MP- MC	Movimiento de patas- Movimiento de cápsula cefálica
MM- MP	Movimiento mandibular- Movimiento de patas
MP- MM	Movimiento de patas- Movimiento mandibular
MA- MP	Movimiento antenal- Movimiento de patas
MP- MA	Movimiento de patas- Movimiento antenal
MA- MM	Movimiento antenal- Movimiento mandibular
MM- MA	Movimiento mandibular- Movimiento antenal
MC- MM	Movimiento de cápsula cefálica- Movimiento mandibular
MM- MC	Movimiento mandibular- Movimiento de cápsula cefálica
MM- EC	Movimiento mandibular- Estiramiento de cuerpo
EC- MM	Estiramiento de cuerpo- Movimiento mandibular
MC- EC	Movimiento de cápsula cefálica- Estiramiento de cuerpo
EC- MC	Estiramiento de cuerpo- Movimiento de cápsula cefálica
MP- EC	Movimiento de patas- Estiramiento de cuerpo
EC- MP	Estiramiento de cuerpo- Movimiento de patas
MA- EC	Movimiento antenal- Estiramiento de cuerpo
EC- MA	Estiramiento de cuerpo- Movimiento antenal
EC- D	Estiramiento de cuerpo-Desplazamiento
MP- D	Movimiento de patas- Desplazamiento
D-A	Desplazamiento- Acercamiento al estímulo

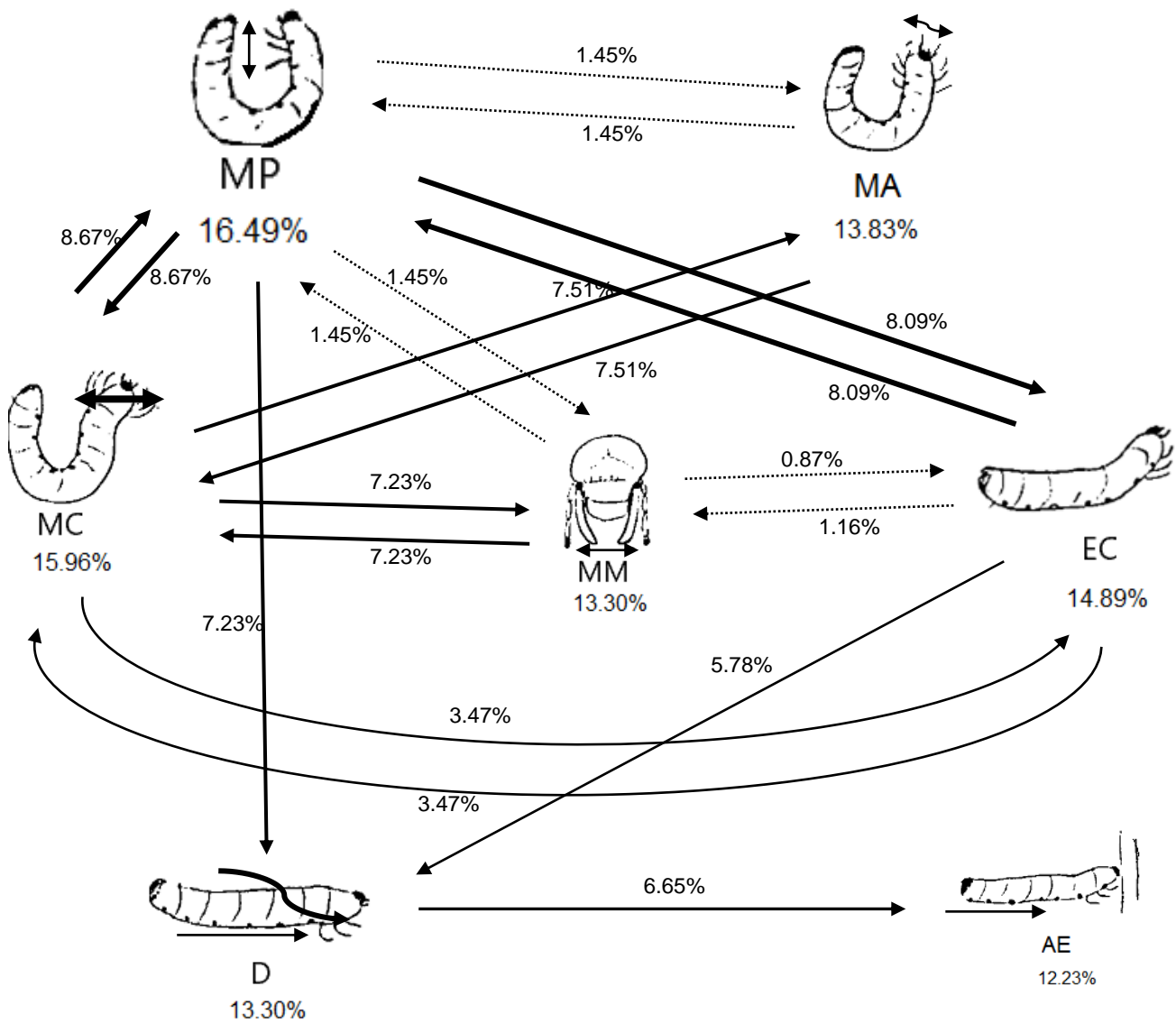


Figura 9. Etograma de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario control. Los dibujos representan los patrones de comportamiento y las flechas las transiciones; el tamaño de las figuras y el grosor de las flechas muestra la frecuencia con que se observó cada patrón y transición, respectivamente.

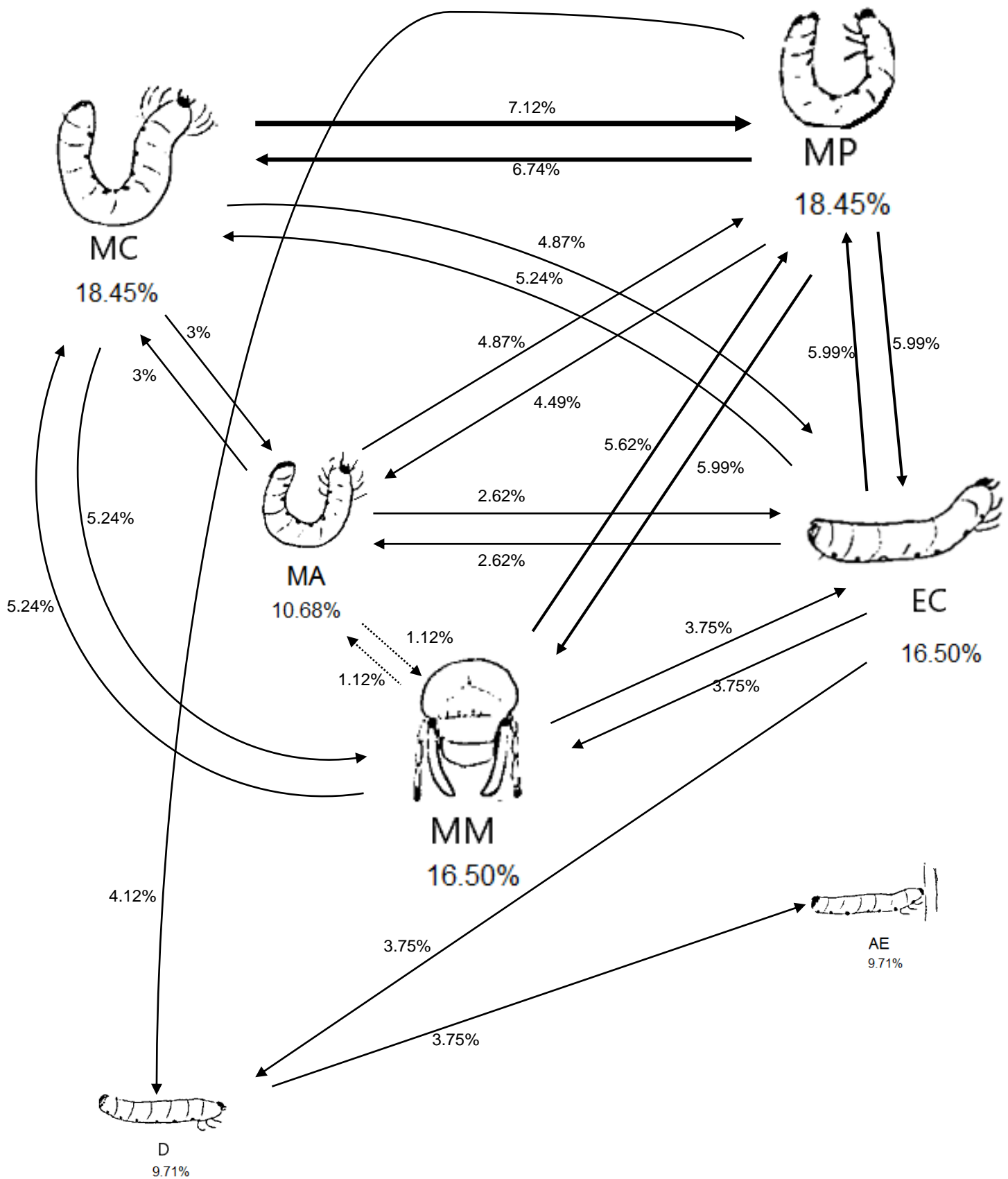


Figura 10. Etograma de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario impregnado con polvo vegetal de incomptina A. Los dibujos representan los patrones de comportamiento y las flechas las transiciones; el tamaño de las figuras y el grosor de las flechas muestra la frecuencia con que se observó cada patrón y transición, respectivamente.

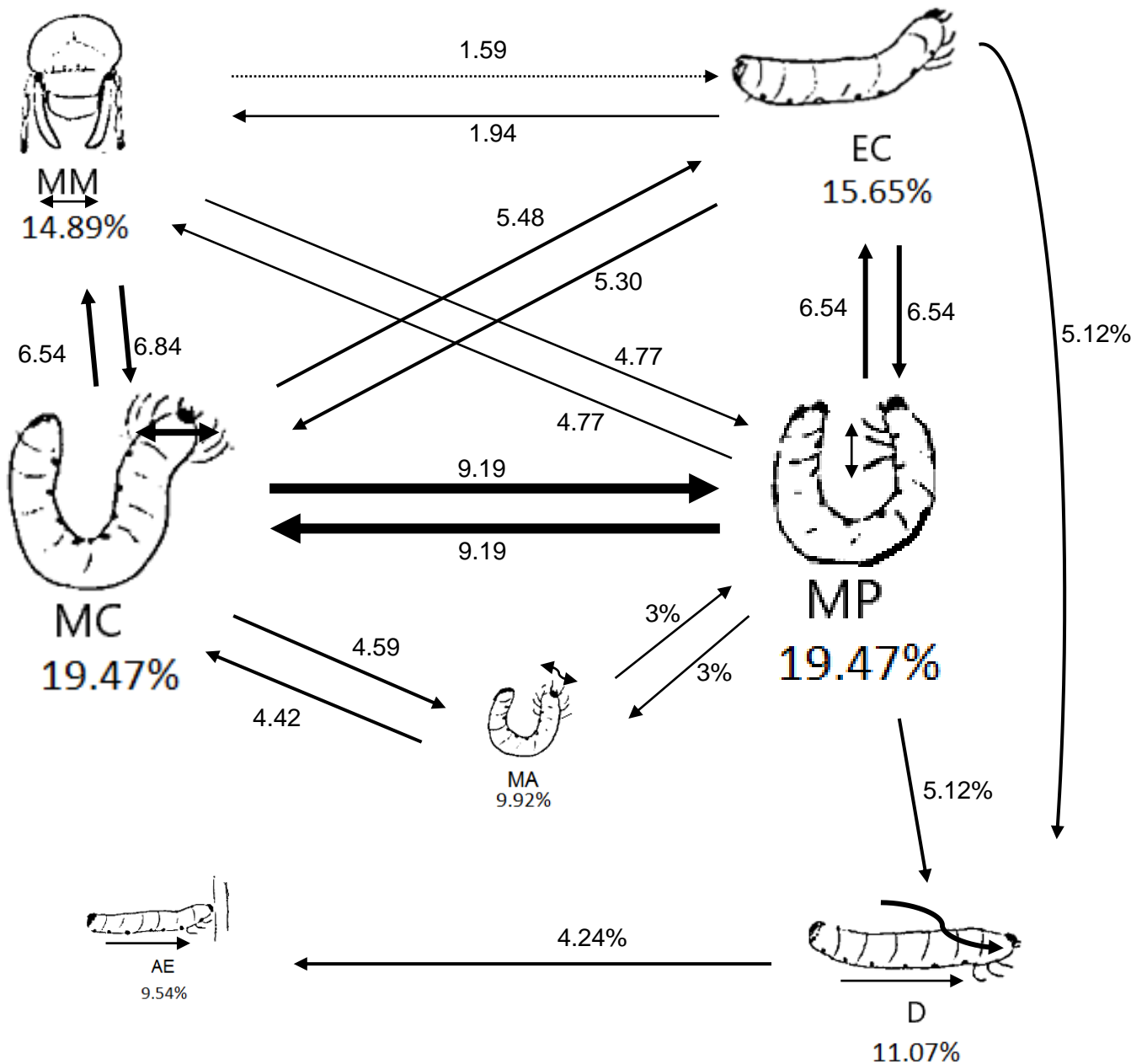


Figura 11. Etograma de larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* como resultado de las interacciones con el sustrato alimentario impregnado con polvo vegetal de incomptina B. Los dibujos representan los patrones de comportamiento y las flechas las transiciones; el tamaño de las figuras y el grosor de las flechas muestra la frecuencia con que se observó cada patrón y transición, respectivamente.

7.2 Evaluación de respuestas

Se obtuvo el porcentaje de respuestas positivas en cada tratamiento con base en los registros de comportamiento, donde se observa que el porcentaje de desplazamientos hacia el control es mayor que las respuestas positivas hacia los compuestos vegetales, ya que en el caso de la incoptina A se mostró el 10% de respuestas hacia los fragmentos con polvos vegetales, además de que en la mayoría no hubo respuestas, mientras que en la incoptina B las respuestas positivas fue de un 15% (Cuadro 6). Asimismo, se encontraron diferencias significativas en las respuestas positivas de las larvas hacia la papa control, con respecto a la incoptina B (Figura 18); en el tratamiento con incoptina A se presentó la misma respuesta hacia ambos sustratos alimentarios del control (Figura 19).

Cuadro 6. Porcentaje de respuestas de larvas de *Phyllophaga vetula* hacia fragmentos de sustrato alimentario en las arenas de observación. IA= incoptina A; IB= incoptina B.

Respuestas de las larvas	Estímulos (% de individuos que respondieron a cada estímulo)	
	IA	IB
Respuestas positivas	10	15
Desplazamientos dirigidos	30	20
Desplazamientos sin dirección	5	5
Desplazamientos hacia el control	25	20
Sin respuesta	30	40
Total	100	100

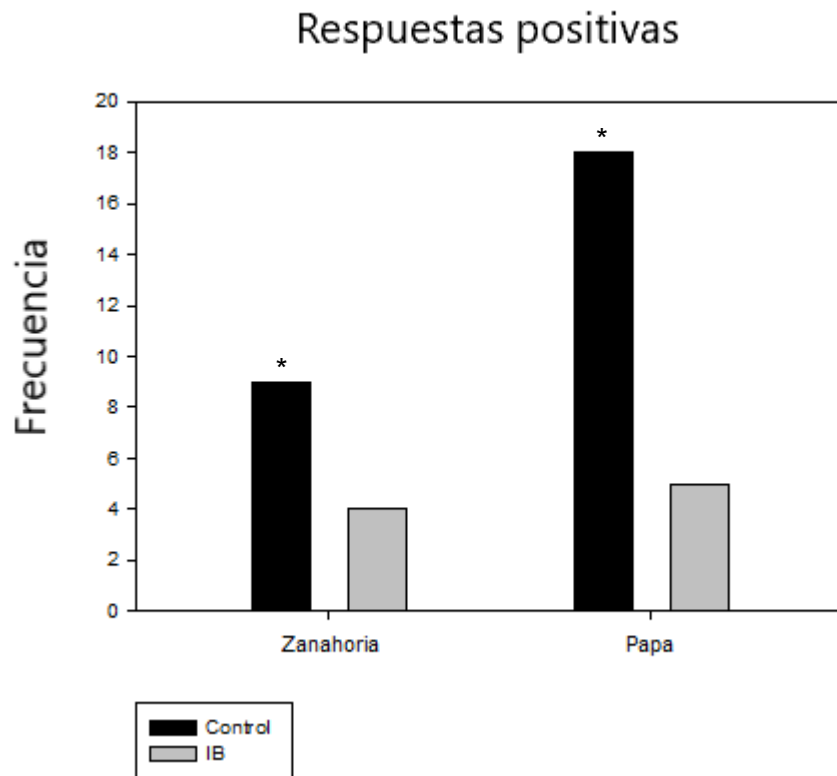


Figura 12. Respuesta de las larvas de *Phyllophaga vetula* de tercer estadio, observándose diferencias significativas entre el control e incomptina B ($p < 0.05$).

Respuestas positivas

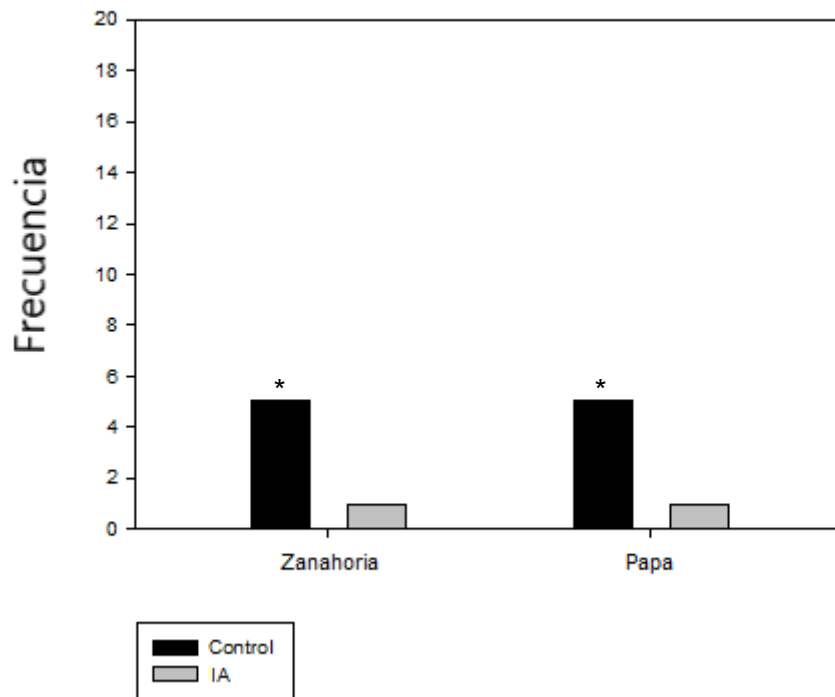


Figura 13. Preferencia de las larvas de *Phyllophaga vetula* de tercer estadio, se presentaron diferencias significativas entre el control e “incomptina A” ($p < 0.05$).

7.3. Evaluación de la alimentación

No se registró una tasa de mortalidad significativa en alguno de los tratamientos. Al evaluar la alimentación de las larvas, se observó que de manera general el consumo no fue significativo. En el caso de la incompitina B, se observó una tendencia hacia un mayor consumo en el control y en la pérdida de peso, de igual manera, fue mayor en el control (Cuadro 7). Con respecto a la incompitina A (Cuadro 8), el consumo fue ligeramente mayor en el control y en el tratamiento de la papa con los polvos vegetales; a su vez, en el tratamiento de la zanahoria con los polvos vegetales se presentó un mayor porcentaje de pérdida de peso.

Cuadro 7. Porcentaje de sobrevivencia, pérdida de peso y consumo en las larvas de *Phyllophaga vetula* ante el contacto directo con los sustratos alimentarios e incompitina B.

Incompitina B

Etapa de revisión (días)	Sobrevivencia (%)			Pérdida de peso (%)			Consumo (%)		
	Control	Zanahoria	Papa	Control	Zanahoria	Papa	Control	Zanahoria	Papa
1	90	100	90	3.96	5.77	6.77	2.53	1.06	1.94
11	90	100	90	9.11	2.28	5.80	2.39	1.65	1.84
24	90	100	90	15.47	7.74	12.76	3.07	3.15	3.34
Promedio	90	100	90	9.15	5.26	8.44	2.66	1.95	2.37

Cuadro 8. Porcentaje de sobrevivencia, pérdida de peso y consumo en las larvas de *Phyllophaga vetula* ante el contacto directo con los sustratos alimentarios e incompitina A.

Incompitina A

Etapa de revisión (días)	Sobrevivencia (%)			Pérdida de peso (%)			Consumo (%)		
	Control	Zanahoria	Papa	Control	Zanahoria	Papa	Control	Zanahoria	Papa
0-6	100	100	100	6.63	2.79	3.42	2.28	2.06	2.24
7-13	100	100	100	2.13	8.5	6.27	2.96	2.85	2.89
Promedio	100	100	100	4.38	5.64	4.84	2.62	2.45	2.56

7.4 Índice de consumo relativo

Con los índices obtenidos se trabajó en el desarrollo de un prototipo de simulador biológico (Figura 15), para determinar el comportamiento alimentario de las larvas de *P. vetula*. En el menú principal se muestra el botón para realizar el cálculo experimental. Al acceder, del lado izquierdo se encuentra la gráfica en blanco, mientras que del lado derecho hay una casilla donde se ingresa el número de experimentos que pueden ir de dos a diez, generando automáticamente las demás casillas para ingresar los datos. El panel de datos se divide en los siguientes módulos (de izquierda a derecha): La eficiencia de conversión (ECI), la entrada de datos, donde se ingresa el peso del alimento consumido (I), el peso inicial del insecto (B1) y el peso final del insecto. A continuación se encuentran las columnas del cálculo de datos, donde se muestran la media aritmética del peso del insecto (BA), la media geométrica del peso del insecto (BG) y los índices de consumo relativo calculados con el peso inicial del insecto (RCRI), la media aritmética (RCRA) y la media geométrica (RCRG). En la parte inferior de la gráfica se encuentran los botones con las opciones para el simulador “aritmético” y “geométrico” y al presionarlos se genera la gráfica, en la cual la ECI se encuentra en el eje de las X y los índices de consumo relativo RCRI (color negro), RCRA (color rojo) y RCRG (color azul) en el eje de las Y. Para obtener una mejor representatividad en los datos, estos fueron transformados a raíz cuadrada. Además de emplear los datos obtenidos, también se tomaron en cuenta los datos hipotéticos de Farrar *et al.* (1989) (Figura 16) donde, de acuerdo con los autores, se muestra que para valores dados de I (50 unidades) y de B1 (10 unidades), RCRI resulta ser independiente de ECI, por lo que se mantiene constante; sin embargo, RCRA y RCRG suelen disminuir conforme ECI aumenta. RCRI, RCRA y RCRG sólo son iguales cuando ECI tiene un valor de cero. Esto se ve reflejado también cuando los valores de I cambian a 20 unidades u 80 unidades, como se muestra en la gráfica obtenida por los autores (Figura 17). Sin embargo, en el caso de los datos obtenidos en los experimentos con *P. vetula*, es posible que RCRI se mantiene constante y en el caso de RCRG, va disminuyendo gradualmente, mientras que RCRA disminuye pero no se mantiene constante, ya que en cierto punto vuelve a aumentar, de tal manera que no es posible observar una curva descendente (Figura 18).

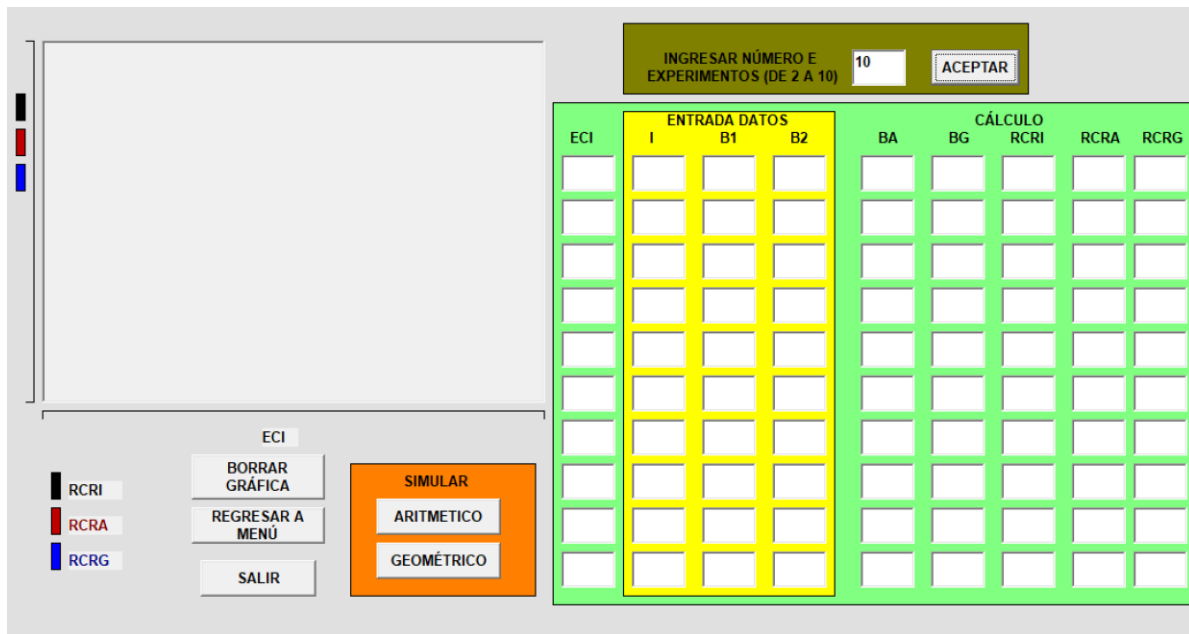


Figura 14. Prototipo de simulador biológico para representar el comportamiento alimentario de las larvas de tercer estadio *Phyllophaga vetula* bajo estudio. RCR= Índice de consumo relativo; ECI= eficiencia de conversión.

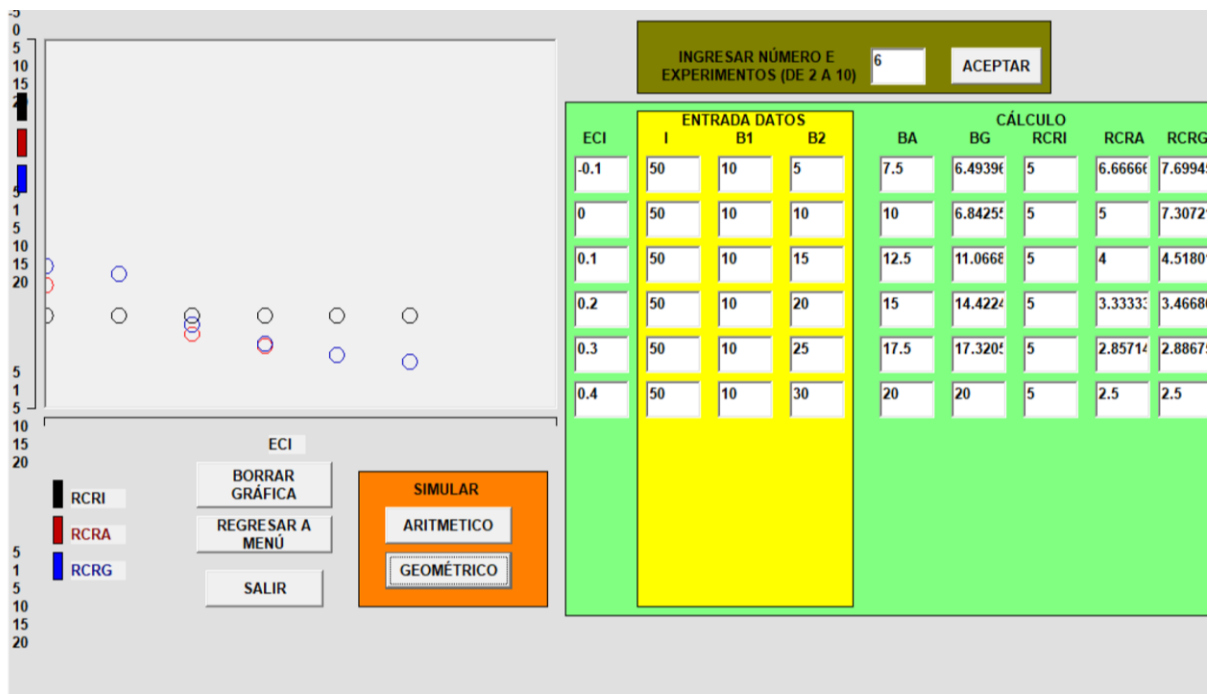


Figura 15. Simulación de datos hipotéticos tomados de Farrar *et al.* (1989), mostrando la influencia de ECI sobre RCRI, RCRA y RCRG, tomando como referencia el peso del alimento consumido por las larvas de *Phyllophaga vetula* en 50 unidades.

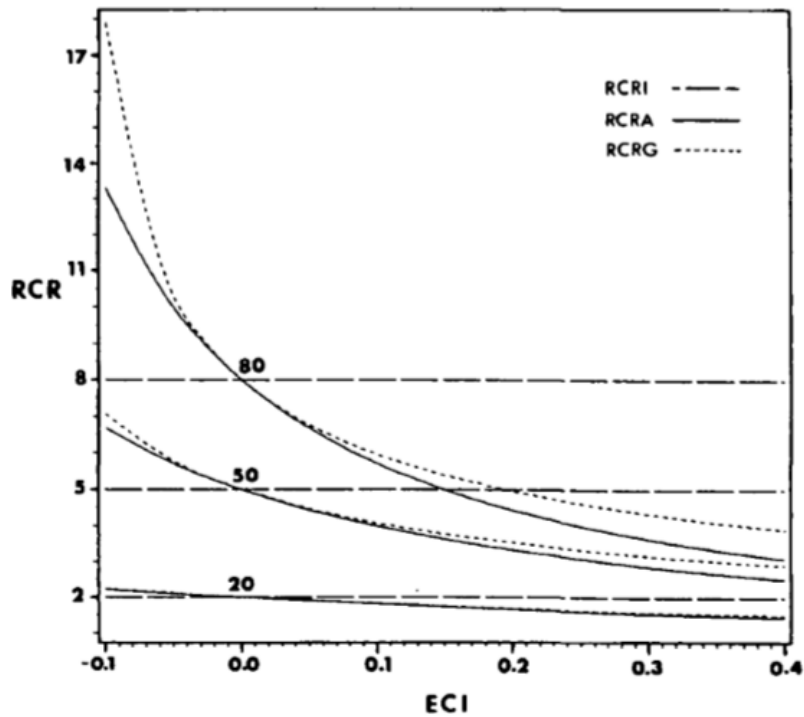


Figura 16. Gráfica generada con datos hipotéticos en la cual se representan los Índices de consumo relativo (RCR) y de eficiencia de conversión (ECI), considerando el peso inicial del insecto (B1) de 10 unidades, y el peso del alimento consumido (I) en 20, 50, y 80 unidades. Tomado de Farrar *et al.* (1989).

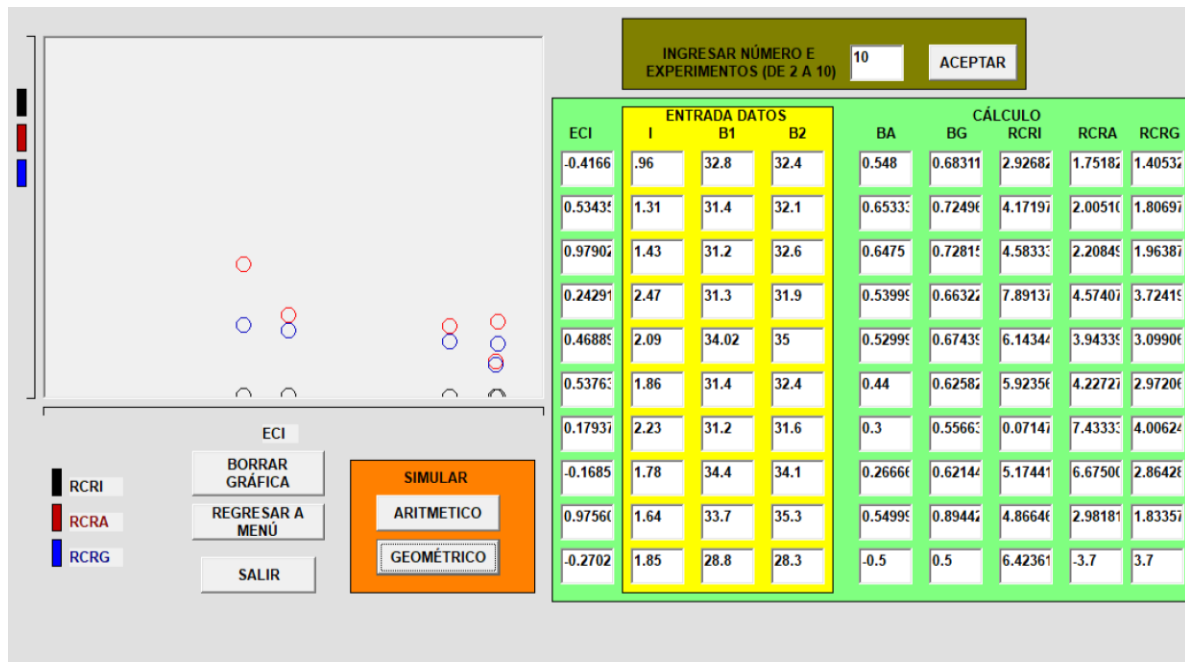


Figura 17. Simulación de los datos obtenidos, donde se refleja el consumo alimentario de las larvas de tercer estadio de *Phyllophaga vetula* en tres periodos de revisión; se observa la influencia de la eficiencia de conversión (ECI) sobre RCRI, RCRA, y RCRG.

8. DISCUSIÓN

8.1 Registros de comportamiento

El estudio del comportamiento de los insectos resulta fundamental para entender aspectos básicos de su ecología, reproducción y alimentación. La cuantificación en los etogramas es importante en muchos aspectos y estas herramientas pueden ser un punto de partida para lograr un diagnóstico adecuado ante una problemática de un insecto plaga (Romero-López y Arzuffi, 2010). En el caso de los coleópteros Melolonthidae, esta no es la excepción por la importancia biológica y agrícola que representan para la naturaleza. En este sentido, a la fecha los registros sobre el comportamiento se han concentrado principalmente en adultos de *Phyllophaga*, en los cuales se describen patrones de comportamiento relacionados con el “llamado sexual” (Morón, 1986; Romero-López *et al.*, 2007; Romero-López y Arzuffi, 2010). En lo referente al comportamiento de adultos antes y al momento del contacto con sus plantas hospederas, se han generado etogramas para *M. nigripes* (Nieves-Silva y Romero-López, 2019) y para *M. mexicanus* (Morales-Blancas y Romero-López, 2019).

Hasta ahora, el único estudio de este tipo realizado para larvas de este grupo fue hecho para *C. zealandica* (Osborne y Boyd, 1974), en el cual se evaluó la respuesta olfativa de las larvas ante estímulos químicos, además se esquematizaron los movimientos de cada individuo al identificarlos mediante los senderos que dejaron en las cámaras con arena que se utilizaron para cada tratamiento y se concluyó que las larvas mostraron mayor atracción hacia el α -fenchol. La relevancia de obtener información sobre el comportamiento de esta etapa del ciclo biológico en Melolonthidae radica en eventualmente llevar a diseñar mejores estrategias de control, además resulta importante conocer si las larvas localizan su alimento por medio de compuestos químicos provenientes de sustratos alimentarios (Méndez- Aguilar *et al*, 2008) para poder tomar decisiones con respecto al manejo de estas plagas.

De acuerdo a los etogramas construidos con larvas de *P. vetula*, el movimiento de cápsula cefálica, patas y antenas resultan ser los patrones de comportamiento más relacionados a su interacción con el alimento, los cuales también aparecen en el etograma de Sandoval y Manzano (2012) en larvas de

Neoleucinodes elegantalis Guenée. Sin embargo, los eventos fueron descritos de forma más general e interpretativa y no de forma detallada como en el presente trabajo. La obtención de un catálogo de patrones de comportamiento de las larvas de *P. vetula* destaca como un aporte invaluable para el estudio de los Melolonthidae, sobre todo porque en esta etapa del ciclo de vida son individuos con poca actividad por sus hábitos subterráneos (Morón, 1986).

8.2 Evaluación de respuestas

Para los bioensayos, los sustratos alimentarios fueron elegidos de acuerdo a la literatura, ya que tanto la zanahoria (Aragón *et al.*, 2005; Romero-López *et al.*, 2011) como la papa (Cueva-Tacuri, 2014) han sido empleadas como sustrato alimentario para gallinas ciegas, además de que la papa suele resultar atractiva para otros insectos (Bosa *et al.*, 2011; Cotes *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que las larvas de *P. vetula* que respondieron positivamente ante los estímulos químicos provenientes de estos sustratos alimentarios lo hicieron mediante sus antenas, lo cual nos permite entender el esquema de comunicación alimentaria con enfoque en el receptor, la larva en este caso, a través de su comportamiento (Romero- López, 2016), así como determinar si la larva es capaz de mostrar respuestas similares ante metabolitos secundarios de plantas.

De este modo, el presente estudio es el primero en determinar los efectos de compuestos de *D. incompta* en individuos de Melolonthidae. De acuerdo a la clasificación de Nordlund y Lewis (1976), la interacción mostrada entre las larvas y el sustrato alimentario está regulada por semioquímicos, en la cual no hay transmisión de información, debido a que las sustancias químicas no se envían intencionadamente al receptor. A su vez, las sustancias emitidas por los sustratos alimentarios podrían considerarse apneumonas al tratarse de una interacción interespecífica y al ser emitidos por material inerte.

Se observó una tendencia por parte de las larvas a mostrar respuestas positivas de atracción hacia la papa sin polvos vegetales; sin embargo, en el caso de la incomptina A, pese a que el número de larvas que mostraron respuestas positivas fue bajo, se mostró también una preferencia a los sustratos alimentarios

del tratamiento control. Se tiene reporte de que la papa suele ser atacada por coleópteros de la familia Curculionidae, así como lepidópteros de la familia Gelechiidae, principalmente por la polilla *Tecia solanivora* Povolny (Cotes *et al.*, 2012). Se ha citado también que el metilfenilacetato es uno de los compuestos emitidos tanto por la planta como por el tubérculo de la papa y que puede provocar atracción en individuos de esta especie (Bosa *et al.*, 2011).

Aunque relativamente menor a la respuesta hacia la papa, las larvas presentaron también respuestas positivas hacia la zanahoria, de la cual aún se desconocen los componentes presentes en sus volátiles que puedan causar una atracción hacia los insectos. No obstante, Romero-López *et al.* (2011) determinaron los primeros bocetos de atracción hacia este sustrato alimentario. Algunos factores que pueden explicar estos resultados pueden ser la duración de los bioensayos con cada repetición, de acuerdo con lo sugerido por Méndez-Aguilar *et al.* (2008), ya que en larvas de otras especies se ha reportado que pueden tardar de una a cuatro horas en presentar respuestas positivas de atracción ante estímulos alimentarios (Branson, 1982). Este tipo de registros permite sugerir que las respuestas positivas de las gallinas ciegas hacia sus plantas hospederas puede estar mediado por volátiles que se liberan en las raíces (Méndez-Aguilar, 2008). Se sabe que las larvas de melolóntidos de tercer estadio son rizófagas y por ello es en esta etapa donde más daños causan a los cultivos (Morón *et al.*, 2010), aunque en el caso de las larvas de *C. zealandica* se conoce que incluso las larvas de segundo estadio pueden responder positivamente hacia algunas raíces de plantas hospederas (Sutherland y Hillier, 1974). Por estas razones se esperaba que la mayoría de las larvas mostraran respuestas positivas, sin embargo muchas de ellas no respondieron, tal vez debido a factores como el horario, ya que hasta ahora se desconoce si existe un horario de mayor actividad alimentaria en las larvas. Existe una posibilidad de que la falta de suelo en los bioensayos influyeran en el comportamiento de algunas larvas de acuerdo con Méndez-Aguilar (2008). De ahí se sugiere que en *P. vetula* las respuestas olfativas sean importantes en su búsqueda de alimento aunque son necesarios más estudios que ayuden a comprender mejor este aspecto de su ecología química.

Las larvas no respondieron significativamente a los compuestos vegetales, pero la incomptina B e incomptina A no provocaron mortalidad significativa en las larvas, lo cual es similar a lo reportado por Torres (2009) con extractos de *Piper*

auritum Piperaceae y la raíz de *Blepharocalyx salicifolius* sobre larvas de *P. ravida* y *P. obsoleta*. Existen registros de que las lactonas sesquiterpénicas pueden provocar disuasión en algunos insectos, como en el caso de la “hormiga cortadora” *Atta cephalotes* L. (Hubert *et al.*, 1987); sin embargo, esto no se observó en las larvas de *P. vetula*.

El presente estudio es el primero en reportar los efectos de polvos vegetales extraídos de *D. incompta* sobre larvas de Melolonthidae. Al no registrarse incidencias negativas en su supervivencia, estos compuestos vegetales podrían considerarse como un complemento en la dieta de las larvas al momento de intentar establecer una cría, ya que tampoco se presentaron patrones de comportamiento que evidenciaran alguna respuesta de repelencia ante los polvos vegetales, aunque son necesarios más estudios sobre estos compuestos vegetales en otras especies. Algunos extractos vegetales a diferentes concentraciones pueden comportarse como insectistáticos y no como insecticidas al no presentarse un porcentaje significativo de mortalidad mayor de 1%, de acuerdo con lo descrito por Torres (2009), sin embargo y pese a que no se tomó en consideración para el presente estudio, se observó que en la prueba de alimentación, las larvas que tuvieron contacto directo con polvos de incomptinas no se vieron afectadas por ácaros.

Por ahora se desconoce si la incomptina puede tener un efecto negativo en las larvas a concentraciones diferentes, y tampoco se tiene registro de que se hayan probado otros compuestos vegetales en alguna dieta para melolóntidos.

8.3 Evaluación de la alimentación

El peso de las gallinas ciegas de *P. vetula* disminuyó significativamente después de la prueba. Esto puede explicarse por factores como la pérdida de agua o debido a que el individuo agota sus reservas de grasa, ya que las larvas fitófagas pierden agua tan rápidamente que la cantidad de agua aprovechada es menor a comparación de la que se pierde mediante evaporación y excreción, de acuerdo con Mellanby y French (1958). Estos efectos de pérdida de peso también fueron reportados para *P. obsoleta* (Romero- López *et al.*, 2011) al evaluar determinadas dietas para las larvas. Según lo observado, es probable que las gallinas ciegas aprovechen el alimento consumido en un determinado momento; sin embargo, la

eficiencia de conversión puede disminuir con el tiempo, como lo muestran los índices de consumo relativo.

Considerando que las larvas estudiadas fueron extraídas del suelo durante los experimentos, esto permite darnos cuenta de que los hábitos subterráneos de las larvas (Morón, 1986) les provee protección y alimento, de ahí la importancia para ellas de vivir en suelos húmedos, ya que estos factores les permiten subsistir, evitando así la desecación a la que son vulnerables. El uso de un prototipo de simulador biológico en el estudio de larvas de Melolonthidae resulta innovador, en vista de que actualmente las simulaciones por computadora son muy útiles para poder modelar sistemas biológicos (Fuchs *et al.*, 2010), y en este caso en el estudio del comportamiento alimentario de larvas, ya que hasta ahora y debido a sus hábitos subterráneos no se ha logrado monitorear de manera constante, por lo que se desconoce su horario de actividad. Por estas razones, surge la necesidad de impulsar el uso de estos simuladores biológicos para obtener información respecto a cómo se alimentan las larvas o en qué momento tendrán mayor actividad alimentaria, y extrapolar lo que ocurre dentro de los cultivos afectados tomando como base la predicción surgida del simulador.

De acuerdo con lo obtenido en el prototipo de simulador, puede observarse que los datos hipotéticos de los índices de consumo relativo RCRA y RCRG forman una curva descendente y el RCRI se mantiene constante. Esto no coincide con los datos para *P. vetula*, ya que se muestra una gráfica diferente donde los índices de consumo relativo no siguen un comportamiento específico respecto a ECI, lo cual puede estar relacionado a diversos factores, principalmente a la nula actividad alimentaria y la pérdida de peso de las larvas al momento de la prueba.

8.4 Perspectivas y sugerencias

Este trabajo representa un aporte al estudio de la Ecología química de los integrantes de Melolonthidae, debido a que hasta ahora no se había registrado el comportamiento y respuestas de gallinas ciegas ante compuestos vegetales.

Una de las sugerencias para darle seguimiento al estudio del comportamiento de estos coleópteros ante compuestos vegetales es el establecimiento de bioensayos en campo, así como ampliar el tamaño de muestra y probar con otras concentraciones de incomptina. Estas pruebas podrían hacerse

también con individuos de otras especies de Melolonthidae y delimitando otros horarios para evaluar el comportamiento y respuestas de las larvas.

Por otra parte, el prototipo de simulador biológico representa un primer antecedente al estudio de la actividad alimentaria para larvas de Melolonthidae. El uso de estas herramientas permite ensayar muy diversas condiciones en corto tiempo, sin incrementar el costo y sin riesgos (Fuchs *et al.*, 2010), de esta manera se sugiere realizar más trabajos sobre comportamiento alimentario en larvas cuyos resultados puedan ser utilizados en un simulador biológico y así hacer predicciones que permitan evaluar los daños ocasionados por estos coleópteros de acuerdo a las necesidades que se presenten.

De manera general, se recomienda continuar con el estudio del comportamiento de este grupo de coleópteros, en particular de las larvas. Podrían efectuarse estudios similares con gallinas ciegas de primero y segundo estadio, además de adultos, con fines comparativos. Estas propuestas permitirán obtener resultados más claros sobre los hábitos y el comportamiento de los Melolonthidae y así ser eficientes en la toma de decisiones para establecer una adecuada estrategia de manejo donde se requiera.

9. CONCLUSIONES

- 1) Se observaron siete patrones principales de comportamiento en larvas de *P. vetula*, siendo los más relevantes el movimiento de patas, movimiento de cápsula cefálica y movimiento mandibular.
- 2) Las larvas de esta especie mostraron el mayor número de respuestas positivas a los fragmentos de papa y zanahoria, lo cual permite sugerir que en las condiciones del estudio estas son atraídas a estímulos químicos que posiblemente estén liberando los sustratos.
- 3) No se registró mortalidad significativa en las larvas al estar en contacto con incomptina A o B en forma sólida (polvo), por lo que se considera un efecto insectistático. Las respuestas positivas de larvas hacia las incomptinas fueron menores con respecto al control; sin embargo, no se observó repelencia.
- 4) Las larvas mostraron una tendencia a disminuir de peso en un lapso aproximado de una hora, además de poca actividad alimentaria durante los bioensayos.
- 5) El prototipo de simulador mostró que las larvas no muerden el sustrato y no aumentan su peso corporal. Este es el primer registro de este tipo para integrantes de Melolonthidae.

10. LITERATURA CITADA

Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49(3-4), 227-266.

Arguello, H., O. Cáceres y M. A. Morón. 1999. Guía ilustrada para identificación de especies de gallina ciega (*Phyllophaga* spp.) presentes en las principales zonas agrícolas de Nicaragua. PROMIPAC- Nicaragua, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 18 p.

Alzogaray, R. A., Fontán, A. and Zerba, E. N. (2000). Repellency of deet to nymphs of *Triatoma infestans*. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(1): 6-10.

Amariles-Barrera, S. A., García, C. M., y Henao, G. J. P. (2013). Actividad insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Aedes aegypti*, Diptera: Culicidae. *CES Medicina*, 27(2): 193-204.

Anaya, A.L. (2003). Ecología química. Editorial Plaza y Valdés, México.

Aragón, A. y Morón, M. Á. (2004). Descripción de las larvas de tres especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae) del Valle de Puebla, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 43(3), 295-306.

Aragón García, A., Morón, M. Á., López-Olguín, J. F., y Cervantes-Peredo, L. M. (2005). Ciclo de vida y conducta de adultos de cinco especies de *Phyllophaga* Harris, 1827 (Coleoptera: Melolonthidae; Melolonthinae). *Acta Zoológica Mexicana*, 21(2), 87-99.

Badii, M. H., Cerna, E., y Landeros, J. (2010). Enemigos Naturales: Nociones Etológicas (Natural Enemies: Etological Notions). *Daena: International Journal of Good Conscience*, 5(1), 256-269.

Bautista, E., Calzada, F., Yepez-Mulia, L., Chavez-Soto, M., and Ortega, A. (2012). Incomptines C and D, two heliangolides from *Decachaeta incompta* and their antiprotozoal activity. *Planta médica*, 78(15), 1698-1701.

Bosa, C. F., Clavijo, A., Karlsson, M. F., Cotes, A. M., and Witzgall, P. (2011). Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum*. *Revista Colombiana de Entomología*, 37(1), 1-7.

Brockmann, H. J. (1994). Measuring behaviour: Ethograms, kinematic diagrams, and time budgets. Technical document, Department of Biology, University of Florida, USA.

Calzada, F., Yepez-Mulia, L., Tapia-Contreras, A., and Ortega, A. (2009). Antiprotozoal and antibacterial properties of *Decachaeta incompta*. *Revista Latinoamericana de Química*, 37(2), 97-103.

Celis, Á., Mendoza, C. F., y Pachón, M. E. (2009). Uso de Extractos Vegetales en el Manejo Integrado de Plagas, Enfermedades y Arvenses: revisión. *Temas agrarios*, 14(1), 5-16.

Chávez-Ibañez, E., Rodríguez-Navarro, S., Sánchez-Pérez, L. D. C., Hamdan-Partida, A., y Barranco Florido, J. E. (2014). Actividad insecticida in vitro de extracto crudo de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin sobre larvas de *Phyllophaga* spp. (Harris). *Revista de Protección Vegetal*, 29(3), 226-230.

Cherman, M. A., y Morón, M. Á. (2014). Validación de la familia Melolonthidae Leach, 1819 (Coleoptera: scarabaeoidea). *Acta Zoológica Mexicana*, 30(1), 201-220.

Cohnstaedt, L. W., Disberger, J. C., Paulsen, E., and Duehl, A. J. (2018). Key Elements of Photo Attraction Bioassay for Insect Studies or Monitoring Programs. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (137), e57445.

Cotes, A. M., López-Ávila, A., Bosa-Ochoa, C. A., Zuluaga, M. V., Rincón, D, Valencia, E., Clavijo-Mc Cormick, A., Aragón, S. M., Borrero, F., Camargo, C., Cuadros, D., Witzgall, P., Bengtsson, M., Karlsson, M. y Birgersson, G. (2012). Uso de los compuestos volátiles de la papa en el control de la polilla guatemalteca. Bogotá: CORPOICA. 48 p.

Cuate-Mozo, V. A., Aragón-García, A., Pérez-Torres, B. C., López-Olguín, J. F., Morón, M. Á., y Rojas-Martínez, R. I. (2016). Manejo del complejo gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae) asociado al cultivo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) en Puebla, México. *Agrociencia*, 50(7), 889-900.

Cubillo, D. y Hilje, L. (1996). Repelentes. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Ed. L. Hilje. Turrialba, CR. CATIE, 77-83.

Cueva-Tacuri, M. M. (2014). Identificación taxonómica de las especies de *Phyllophaga* (Col. Scarabaeidae) presentes en diez cultivos de importancia económica en la Provincia de los Ríos. Tesis de pregrado. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE

del Val, E., Arnés, E., Gaona, J. A. y Astier, M. (2013). Incidencia de gallina ciega, sistemas de manejo campesinos y variabilidad climática en la comunidad de Napizaro, Michoacán (México). *Agroecología*, 8(1), 53-62.

Delgado-Casale, M. E. (2012). Perspectiva de extractos vegetales para el control del loque americano (*Paenibacillus larvae*) en la larva de las abejas melíferas (*Apis mellifera*). Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Química Agrícola

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), Decachaeta incompta (DC.) R.M.King & H.Rob., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:1006267>
Fecha de actualización: 19/03/2013, 12:53:28 p.m.
Fecha de consulta: 03/09/2020, 5:17:54 p.m.

Díaz, P. (2002). Abundancia y distribución de especies de “gallina ciega” (Coleoptera: Melolonthidae), hongos (Hyphomycetes) y nemátodos (Nematoda: Heterorhabditidae) entomopatógenos en los altos de Jalisco, México. Tesis de Maestría. Área Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Colima.

Dicke, M. and Sabelis, M. W. (1988). Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology*, 131-139.

Estrella, E. A. (2010). Ecología química de *Vismia mexicana* Schltld (Clusiaceae): metabolismo secundario y daño foliar. Tesis de maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Farrar, R. R., Barbour, J. D., and Kennedy, G. G. (1989). Quantifying food consumption and growth in insects. *Annals of the Entomological Society of America*, 82(5), 593-598.

Fontán, A. (1999). Compuestos modificadores del comportamiento: su uso en estrategias de control de bajo impacto ambiental. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 58 (1-2): 227- 231.

Fuchs Gómez, O. L., Campos Méndez, M., Vera Cervantes, E. y Reyes Lazalde, A. (2010). Ventajas que presentan los nuevos ambientes virtuales en el desarrollo de habilidades cognitivas y en los aprendizajes de algunos conceptos de Física y de Fisiología. Décimo Congreso Internacional Retos y Expectativas de la Universidad. Instituto Politécnico Nacional.

García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Meza, G. D. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*, 8(3), 1-10.

Girón-Pablo, S., Ruiz-Vega, J., Pérez-Pacheco, R., Aquino-Bolaños, T., and Martínez-Martínez, L. (2015). Biological control of *Phyllophaga vetula* (Horn) with entomopathogenic nematodes in various formulations and moisture conditions. *Southwestern Entomologist*, 40(3), 511-517.

Hernández-Cruz, J., Morón, M. Á., Ruiz-Vega, J., Sánchez-García, J. A., Martínez-Martínez, L. y Pérez-Pacheco, R. (2014). Bionomía de las especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae) en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 30(1), 144-160.

Hochberg, M. E., Bertault G., Poitrineau K., and Janssen A. (2003). Olfactory orientation of the truffle beetle, *Leiodes cinnamomea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109: 147–153.

Hubert, T. D., Okunade, A. L., and Wiemer, D. F. (1987). Quadrangolide, a heliangolide from *Eupatorium quadrangularae*. *Phytochemistry*, 26(6), 1751-1753.

Huelgas-Marroquín, P., Astier Calderón, M., Larsen, J., Nájera Rincón, M., y del-Val, E. (2015). El complejo gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae) y su relación con el suelo y el manejo agrícola. In V Congreso Latinoamericano de Agroecología-SOCLA.

INEGI, (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Santa Isabel Cholula, Puebla.

Llanos, C. A. H., Arango, D. L. y Giraldo, M. C. (2008). Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 34(1), 76-82.

Mareggiani, G. (2001). Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo Integrado de Plagas*, 60, 22-30.

Marín-Jarillo, A., y Bujanos-Muñiz, R. (2008). Especies del complejo "gallina ciega" del género *Phyllophaga* en Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México*, 34(3), 349-355.

Marín-Cruz, V. H., Rodríguez-Navarro, S., Barranco-Florido, J. E., and Cibrián-Tovar, D. (2017). Insectistatic and insecticide activity of *Beauveria bassiana* in *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(3).

Marín-Loaiza, J. C., y Céspedes, C. L. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4).

- Meinwald, J., and Eisner, T. (2008). Chemical ecology in retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12), 4539-4540.
- Mellanby, K., and French, R. A. (1958). The importance of drinking water to larval insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1(2), 116-124.
- Méndez-Aguilar, M. D. J., Castro-Ramírez, A. E., Rojas, J. C. y Huerta-Lwanga, E. (2008). Respuesta olfativa de larvas de *Phyllophaga ravid*a y *P. tumulosa* (Melolonthidae) a volátiles de raíces de cuatro plantas hospederas. *Acta Zoológica Mexicana*, 24(1), 115-128.
- Morón, M. Á. (1986). El género *Phyllophaga* en México. Morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). Publicación 20. Instituto de Ecología, México. 344 pp
- Morón, M. Á. (2001). Larvas de escarabajos del suelo en México (Coleoptera: Melolonthidae). *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (Es1), 111-130.
- Morón, M. Á., Nogueira, G., Rojas-Gómez, C. V. y Arce-Pérez, R. (2014). Biodiversidad de Melolonthidae (Coleoptera) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 298-302.
- Morón, M. Á., Rojas-Gómez, C. V. y Arce-Pérez, R. (2016). Los estados inmaduros de *Phyllophaga heteronycha*, *P. leonina* y *P. angulicollis* (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 933-943.
- Morón, M. Á., Rodríguez-del Bosque, L. A., Aragón, A., y Ramírez-Salinas, C. (2010). Biología y hábitos de coleópteros escarabaeoideos. *Plagas del suelo*, 65-82.
- Nieves-Silva, E. y Romero-López, A. A. (2016). Olfatómetro portátil para el estudio de interacciones entre "frailecillos" (Coleoptera: Melolonthidae) y plantas. *Entomología mexicana*, 3, 516-522.
- Nordlund, D. A. and Lewis, W. J. (1976). Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2(2), 211-220.
- Osborne, G. O., and Boyd, J. F. (1974). Chemical attractants for larvae of *Costelytra zealandica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *New Zealand Journal of Zoology*, 1(3), 371-374.
- Pacheco, A., Blanco-Metzler, H. y Mora, R. (2012). Modificación de olfatómetros de cuatro brazos para experimentación en broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae). *Agronomía Costarricense*, 36(1).
- Pelcastre-Neri, V., Reyes-Lazalde, A., Pérez-Bonilla, M.E., y Romero-López, A. A. (2017). Simuladores como un modelo de aprendizaje en biología de suelos: el caso de un experimento de infiltración. Segundo Coloquio Nacional sobre Modelos Educativos Universitarios, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala.
- Pérez, D. e Iannacone, J. (2006). Efectividad de extractos botánicos de diez plantas sobre la mortalidad y repelencia de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., insecto plaga del Pijuayo *Bactris gasipaes* Kunth en la Amazonía del Perú. *Agricultura Técnica*, 66(1), 21-30.
- Pineda-Castellanos, M. L., Rodríguez-Segura, Z., Villalobos, F. J., Hernández, L., Lina, L., and Núñez-Valdéz, M. E. (2015). Pathogenicity of isolates of *Serratia marcescens* towards larvae of the scarab *Phyllophaga blanchardi* (Coleoptera). *Pathogens*, 4(2), 210-228.

Pizarro, D., Silva, G., Tapia, M., Rodríguez, J. C., Urbina, A., Lagunes, A., y Aguilar-Medel, S. (2013). Actividad insecticida del polvo de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12 (4): 420 - 430

Ramírez-Salinas, C., y Castro-Ramírez, A. E. (2000). El complejo "gallina ciega" (Coleoptera: Melolonthidae) en el cultivo de maíz, en El Madronal, municipio de Amatenango Del Valle, Chiapas, México. Acta Zoológica Mexicana, (79), 17-41.

Rodríguez-Ledesma, Y., Mirabal-García, R., Suárez-Pérez, C., García-González, M.T., Rodríguez, A. A., y Orrantía-Cárdenas, I. (2017). Control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky con polvo de mármol en granos de maíz almacenados. Pastos y Forrajes, 40(4), 296-301.

Romero-López, A. A (2001). Evaluación de la actividad tóxica de cepas de *Bacillus thuringiensis* en gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) de importancia agrícola. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Romero-López, A. A. (2003). Ecología química del escarabajo *Phyllophaga obsoleta* (Coleoptera: Melolonthidae). Tesis Doctoral. Instituto Politécnico Nacional.

Romero-López, A. A., Arzuffi, R., Valdez, J., Morón, M. A., Castrejón-Gómez, V., and Villalobos, F. J. (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. (2016). Comunicación química de coleópteros Melolonthidae distribuidos en México: a una década de distancia. Dugesiana, 23(1), 59-73.

Romero-López, A. A. and Morón, M. Á. (2013). Sexual dimorphism in antennae of Mexican species of *Phyllophaga* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). Sexual Dimorphism. IN TECH Publisher, Croatia, 17-34.

Romero-López, A. A., Arzuffi, R., y Morón, M. Á. (2005). Feromonas y atrayentes sexuales de coleópteros Melolonthidae de importancia agrícola. Folia Entomológica Mexicana, 44(2), 233-245.

Romero-López, A.A., Morón, M. Á., Aragón, A., y Villalobos, F. J. (2010). La "gallina ciega" (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) vista como un "ingeniero del suelo". Southwestern Entomologist, 35(3), 331-343.

Romero-López, A. A, Arzuffi, R. (2010). Evidencias sobre la producción y liberación de compuestos bioactivos de la feromona sexual de un melolontido mexicano. En Rodríguez del Bosque LA y Morón. MA (Eds.) Ecología y Control de Plagas Edafícolas. INECOL. Xalapa, México. pp. 204-222.

Romero-López, A. A. (2011). Infoquímicos involucrados en las interacciones ecológicas de los coleópteros Melolonthidae y su potencial para el manejo de especies plaga de México. En: Manejo agroecológico de sistemas Vol. II. Aragón G.A., D. Jiménez G. y M. Huerta L. (Eds.). 2011. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp. 145-160.

Romero-López, A. A., Arzuffi, R., and Figueroa-Brito, R. (2011). Effect of a meridic diet on the larval development of *Phyllophaga obsoleta* (Coleoptera: Melolonthidae). Southwestern Entomologist, 36(1), 41-46.

Salamanca, C., Jaramillo, M. C., Arango, G. J., Londoño, M. E., Tobón, J. A., y Henao, A. (2001). Evaluación de la actividad biológica de extractos vegetales sobre *Phyllophaga obsoleta* Blanchard (Col: Melolonthidae). *Actualidades Biológicas*, 23(75), 5-11.

Sandoval, S. F. M. y Manzano, M. R. (2012). *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) plaga de *Solanum quitoense*. ¿Es vulnerable al control el primer estadio larval? *Acta Agronómica*, 61(5), 61-62.

Sutherland, O. R. W., and Hillier, J. R. (1974). Olfactory response of *Costelytra zealandica* (Coleoptera: Melolonthinae) to the roots of several pasture plants. *New Zealand Journal of Zoology*, 1(3), 365-369.

Torres, M. M. (2009). Actividad biológica de extractos vegetales en *Phyllophaga ravida* y *P. obsoleta* (Coleoptera: Melolonthidae). Tesis de maestría. El Colegio de la Frontera Sur.

Vallejo, M. (2007). Efecto insecticida de aceite de neem y una mezcla de extractos vegetales sobre larvas de gusano elotero (*Heliothis zea*, Boddie). Tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Villegas-Urbano, N. P. (2004). Reconocimiento de especies del complejo chisa (Coleoptera: Melolonthidae) asociados al cultivo de cebolla y pasto en la localidad de la Florida, Risaralda. Tesis (Ingeniera Agrónoma) (Doctoral disertación, Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa Agronomía).

Zamora-Vuelvas, M. C., Ponce-Saavedra, J., and Deloya-López, A. C. (2014). Scarabaeoidea (Insecta: Coleoptera) capturados con trampas en el cerro "El Aguila", Municipio de Morelia, Michoacan. *Entomología Mexicana*, 1, 519-524.

Zaragoza-Ortega, M., Segura-León, O. L., Hernández-Cruz, J., Valdez-Carrasco, J., and Sánchez-Soto, S. (2017). The response of *Phyllophaga brevidens* and *Phyllophaga lenis* (Coleoptera: Scarabaeidae) to methyl 2-(methylthio) benzoate and light. *Florida Entomologist*, 100(3), 546-550.

Zitlalpopoca-Hernández, G., Najera-Rincón, M. B., del-Val, E. K., Alarcón, A., Jackson, T., and Larsen, J. (2017). Multitrophic interactions between maize mycorrhizas, the root feeding insect *Phyllophaga vetula* and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied Soil Ecology*, 115, 38-43.