

Capítulo 4

Comportamiento de adultos de *Tecia solanivora* frente a dos compuestos volátiles de la planta de papa

Carlos Felipe Bosa

Andrea Clavijo

María Victoria Zuluaga

Miriam Karlsson

Alba Marina Cotes



Introducción

Los estudios anteriores demostraron que los adultos de *Tecia solanivora* se ven atraídos hacia los compuestos volátiles de las plantas de papa en estados de floración y a los tubérculos. El análisis químico de estos olores detectó dos compuestos, el metil-fenilacetato y el sulcatón, que se encuentran en altas cantidades tanto en flores como en tubérculos (Karlsson *et al.*, 2009), por lo cual se seleccionaron estos dos compuestos como potenciales compuestos atractivos de adultos de *T. solanivora*. En concordancia con esto, los siguientes experimentos tuvieron como objetivo evaluar el efecto de los compuestos de flores y tubérculos sobre el comportamiento de machos y hembras en olfatómetro y en condiciones de casa de malla.

Materiales y métodos

Los siguientes estudios se llevaron a cabo durante los años 2008 y 2009 en el Laboratorio de Control Biológico en una casa de malla del Centro de Biotecnología y Bioindustria de Corpoica (Mosquera, Cundinamarca).



Evaluación de los compuestos volátiles sintéticos de la planta de papa en olfatómetro. Los compuestos volátiles previamente seleccionados por Karlsson *et al.* (2009) por producir respuestas en antenas del insecto se evaluaron mediante ensayos en un olfatómetro de cuatro brazos con el fin de determinar su efecto sobre el comportamiento de hembras recién emergidas de *T. solanivora*.

El metil-fenilacetato y sulcatón se evaluaron en forma individual y combinada en el olfatómetro, para un total de tres tratamientos. Uno de los brazos del olfatómetro fue tratado con el compuesto volátil respectivo, y los brazos restantes constituyeron el control por los cuales circulaba aire limpio. Se evaluaron dos parámetros de medición: a) el brazo de elección inicial, y b) el tiempo de permanencia de las hembras en cada brazo. En cada sesión experimental se colocó una hembra virgen recién emergida de *T. solanivora* en la parte central de la cámara principal del olfatómetro y se evaluó durante 30 minutos su respuesta comportamental frente al compuesto respectivo o a la combinación de estos a la concentración de 10 nanogramos contenidos en un caucho de polietileno tipo farmacéutico, el cual se ubicó en el interior de la columna seleccionada al azar para cada repetición. Se estableció un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento, y cada repetición constó de seis hembras. Este experimento se hizo tres veces con el propósito de obtener datos robustos que permitieran hacer un buen análisis de los resultados.

Ensayos en casa de malla. En una casa de malla de dimensiones 4 m x 8 m se evaluaron diferentes dosis del compuesto metil-fenilacetato, ya que este obtuvo las mayores respuestas en antenas del insecto (Karlsson *et al.*, 2009). Se evaluaron concentraciones de 100 µg, 1 mg y 10 mg de dicho compuesto; para ello 100 µL de muestra de cada concentración se dispensó en un septo de caucho tipo farmacéutico como material portador. Como tratamiento control se utilizó un septo de caucho con el solvente de dilución (hexano analítico de 99% de pureza).

Se colocaron cuatro trampas plásticas dentro de la casa de malla, consistentes en un recipiente plástico con aberturas en ambos lados y en su fondo agua con detergente, las que fueron cebadas con cada uno de los septos de caucho impregnados con las concentraciones de volátil previamente determinadas. Como control se utilizaron cuatro trampas con agua jabonosa y cebadas con cauchos con el solvente de dilución, el hexano (Figura 19). Los diferentes tratamientos se dispusieron en un diseño de bloques completos al azar. Semanalmente dentro de la casa de malla se realizó una liberación controlada de 150 adultos del insecto (75 hembras y 75 machos) y las trampas fueron revisadas con una frecuencia de dos veces por semana durante cuatro



semanas para el registro de machos y hembras capturados en cada trampa por tratamiento.



Figura 19. Esquema del montaje de casa de malla. a. Disposición de trampas en la casa de malla; b. detalle de una trampa de caída. Fotografía: Laboratorio de Control Biológico, Corpoica.

Adicionalmente, se evaluó el efecto de la combinación de los dos compuestos volátiles sobre adultos del insecto; para ello se registró el número de adultos capturados en trampas plásticas cebadas con septos de caucho que contenían la concentración seleccionada en el ensayo anterior del compuesto metil-fenilacetato y su respectiva combinación con tres concentraciones de sulcatón (100 μg , 1mg y 10 mg) y solo el sulcatón a 100 μg . Se utilizaron tres trampas por cada combinación, y el control estuvo constituido por tres trampas con septos de caucho cebados con hexano.

Resultados

Evaluación de compuestos sintéticos en olfatómetro. En los ensayos de olfatómetro, utilizando compuestos sintéticos, se observó que 12 hembras seleccionaron el brazo del olfatómetro que contenía metil-fenilacetato, en comparación con 10 hembras que eligieron el brazo control y 8 hembras que permanecieron en la cámara central del olfatómetro (Figura 20). Para el volátil denominado sulcatón se observó que 13 hembras seleccionaron el brazo con este volátil, contra 14 hembras que prefirieron el brazo control y 3 hembras que optaron por la cámara central del olfatómetro (Figura 21).

Al evaluarse la combinación de los dos volátiles metil-fenilacetato y sulcatón, se obtuvo una preferencia de 11 hembras que escogieron el brazo con esta mezcla, en comparación con 14 hembras que escogieron el brazo control y 5 hembras que se ubicaron en la cámara central. En este caso se

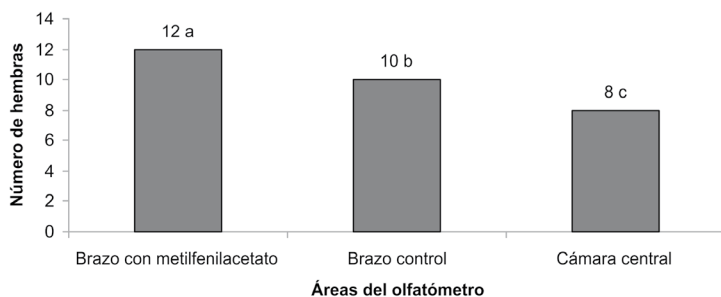


Figura 20. Primera elección de hembras vírgenes de *T. solanivora* en los brazos del olfatómetro cebados con metil-fenilacetato. Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas según Tukey ($\alpha=0,05$).

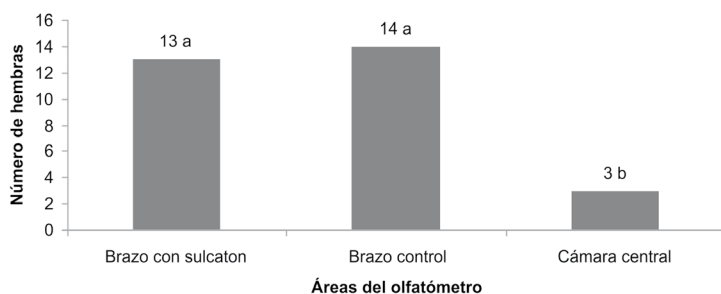


Figura 21. Primera elección de hembras vírgenes de *T. solanivora* en los brazos del olfatómetro cebados con sulcatón. Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas según Tukey ($\alpha=0,05$).

encontraron diferencias significativas para la cámara central con respecto al brazo con el volátil y brazo control, pero no entre estos dos últimos tratamientos.

Para el parámetro de tiempo de permanencia no se encontraron diferencias significativas para los compuestos volátiles metil-fenilacetato, sulcatón o para la mezcla de estos dos. Sin embargo se observó un mayor tiempo de permanencia por parte de las hembras hacia el brazo con el volátil metil-fenilacetato y sulcatón evaluados en forma individual con respecto a los brazos tratados con aire limpio (control) (Figura 22).

Evaluación de compuestos sintéticos en casa de malla. Al evaluar de forma individual el compuesto metil-fenilacetato en condiciones de casa de malla, se observó una mayor atracción de machos y hembras en las trampas cebadas con la dosis de 100 μg en comparación a los demás tratamientos (Figura 23). Estos resultados permitieron seleccionar la dosis de 100 μg del metil-fenilacetato para los ensayos posteriores.

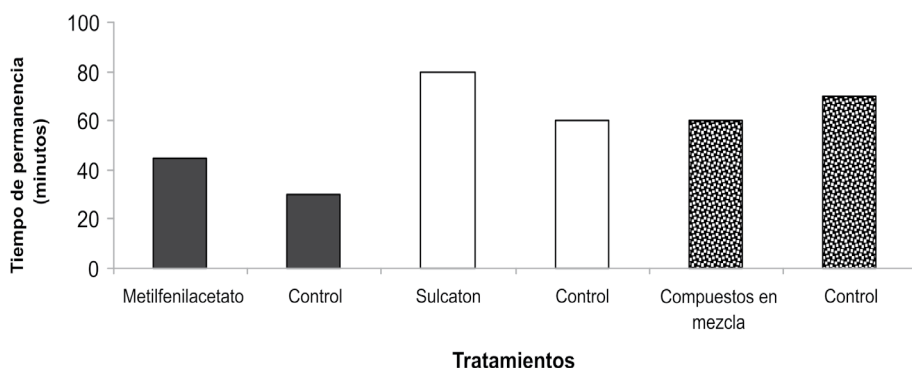


Figura 22. Tiempo de permanencia de hembras vírgenes en el brazo del olfatómetro tratado con el volátil respectivo y el brazo control.

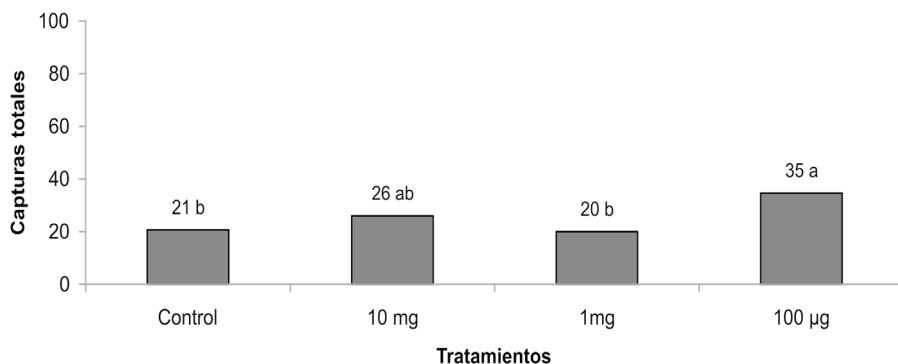


Figura 23. Capturas de adultos en trampas cebadas con diferentes concentraciones del compuesto metil-fenilacetato en casa de malla. Las barras con la misma letra no difieren estadísticamente según Tukey ($\alpha=0,05$).

Durante la evaluación de diferentes dosis y combinaciones de los compuestos volátiles en trampas, se observaron diferencias significativas para las capturas del insecto obtenidas con los diferentes tratamientos; no obstante, al discriminar las capturas entre machos y hembras, se encontró una mayor preferencia de las hembras por la dosis de 100 µg del volátil metil-fenilacetato (Figura 24), resultados similares a los obtenidos anteriormente (Figura 23).

Se observaron las mayores capturas de adultos del insecto con el compuesto metil-fenilacetato a la dosis de 100 µg que cuando este se combinó en diferentes dosis con el compuesto secundario sulcatón e inclusive cuando este último se evaluó en forma individual a la misma dosis (Figura 24).

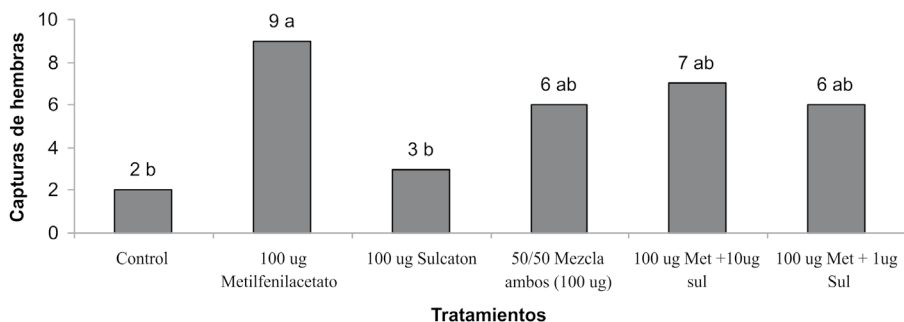


Figura 24. Capturas totales de hembras en trampas cebadas con diferentes mezclas de los compuestos metil-fenilacetato (Met) y sulcatón (Sul) en casa de malla. Las barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha=0,05$).

Discusión

Evaluación de compuestos sintéticos en olfatómetro. A diferencia de los resultados obtenidos para solo el compuesto metil-fenilacetato, cabe resaltar que cuando se evaluó la combinación de los dos compuestos volátiles es posible que se haya presentado un efecto de repelencia, ya que hubo un mayor tiempo de permanencia de las hembras en el brazo tratado con aire (control) que en el tratado con la mezcla de los volátiles (Figura 22). Estos resultados no fueron observados cuando se evaluaron en el olfatómetro los compuestos volátiles por separado, donde en cada caso las respuestas de atracción de hembras fueron mayores hacia los brazos tratados con cada volátil en comparación con el brazo control (Figura 21).

Se observó que un alto porcentaje de las hembras evaluadas permanecieron quietas o inmóviles en la cámara principal del olfatómetro, sin dirigirse a ningún brazo, lo cual pudo llevar a que no se registraran diferencias significativas. También es posible que debido a la complejidad de compuestos volátiles emitidos por la planta de papa (Karlsson *et al.*, 2009), la hembra requiera de una mayor cantidad de señales para generar respuestas del comportamiento, bien sea de atracción o de repulsión. Además, otros estímulos táctiles o visuales podrían estar asociados a la respuesta de atracción de una especie.

Keiichi *et al.* (1998) también identificaron el compuesto metil-fenilacetato, además del α -feniletanol y un benzil alcohol, como los principales constituyentes volátiles emitidos de flores de *Ligustrum japonicum* de la familia Oleaceae. En este estudio el metil-fenilacetato produjo respuestas intermedias del comportamiento en *Pieris rapae*, medidas como respuestas positivas en antenas de adultos por la técnica de la electroantenografía



y como extensión de la probóscide, concluyendo que probablemente este compuesto floral en adición con otros cuatro son los que contribuyen en un radio de acción corto a la atracción del insecto hacia la planta hospedera para la búsqueda de fuentes de alimento. En nuestro estudio otro factor que pudo influir en los resultados de olfatometría es que las plumas naturales de olor de un volátil son intermitentes en el tiempo y el espacio, debido a la dirección y velocidad variable del viento que hace que estas se conviertan en filamentos discretos intercalados con corrientes de aire limpio. Esta naturaleza intermitente de una pluma de olor es importante para que los insectos se orienten a lo largo de la pluma, porque impide la fatiga sensorial y la insensibilización de los receptores nerviosos de la antena. La estructura temporal y espacial de la pluma proporciona información importante respecto a la distancia y orientación hacia la fuente emisora (Murlis *et al.*, 1992). En condiciones de olfatómetro, es posible que una hembra sometida a una pluma de olor continua sin paquetes de aire no exhiba ninguna reacción, debido a que no puede identificar dichos cambios en la pluma y, en consecuencia, no se evidencia una respuesta de atracción.

La utilización de hembras vírgenes en experimentos de olfatometría se debe a que con frecuencia estas utilizan a las plantas hospederas para diversos propósitos aparte de la oviposición. Por ejemplo, las hembras pueden utilizar a las plantas hospederas como lugares de encuentro para la cópula. Landolt *et al.* (1999) encontraron que hembras de *Trichoplusia ni* fueron atraídas por el sexo opuesto en presencia de su planta hospedera (plantas de algodón). Esto cobra mayor relevancia, dada la poca movilidad que poseen las hembras de *T. solanivora* y en especial si estas se encuentran copuladas (López-Ávila y Rincón, 2006).

Evaluación de compuestos sintéticos en casa de malla. Estudios de electroantenografía utilizando antenas de hembras y machos de *T. solanivora* indicaron que las antenas responden a varios sesquiterpenos y monoterpenos. Unos de los compuestos que originó las mayores respuestas en antenas fue el metil-fenilacetato, el cual fue evaluado en la presente investigación y que corresponde a un compuesto floral que es liberado en altas cantidades en las plantas en floración y también liberado por los tubérculos de papa (Karlsson *et al.*, 2009). Estos autores sugieren que posiblemente este compuesto facilita una mayor atracción de las hembras hacia las plantas en tuberización y maduración en campo, y también posiblemente favorece la atracción hacia los tubérculos en condiciones de almacenamiento.

Estudios adicionales de oviposición demostraron que las hembras de *T. solanivora* colocan sus huevos en el suelo con presencia de plantas en floración completa y en el suelo en plantas que se encuentran en proceso de



maduración de tubérculos. Estos autores reportaron que las hembras ovipositan en el suelo y no en los tallos de las plantas o en el follaje, posiblemente debido a un efecto repelente de compuestos terpenoides liberados por el follaje de las plantas, lo cual favorece que las hembras ovipositen en el suelo o en cercanía de los tubérculos, mas no en el follaje o en los tallos (Karlsson *et al.*, 2009).

Los resultados indican que la mayor atracción de adultos hacia el volátil metil-fenilacetato puede obedecer a que este fue aislado de plantas en estado de floración, en plantas en tuberización e inclusive en tubérculos solos, en tanto que el compuesto sulcatón fue aislado únicamente del follaje de la planta de papa (Karlsson *et al.*, 2009). Esto coincide con reportes de literatura que soportan que las hembras de *T. solanivora* ovipositan la mayoría de sus huevos sobre la superficie del suelo, muy cerca de la base de los tallos de las plantas de papa; así mismo, se ha observado que las poblaciones de este insecto se incrementan con la floración del cultivo (Soriano, 2000; Barreto *et al.*, 2003). Esta etapa fenológica del cultivo posiblemente representa un momento crítico para la búsqueda de lugares de oviposición por parte de las hembras, ya que coincide con la tuberización de las plantas. El metifenilacetato también ha sido reportado como atrayente de hembras en otros insectos como el escarabajo de cuernos largos *Anaglyptus subfasciatus* y *Fagus crenata* (Kiyoshi *et al.*, 1997; Sakakibara *et al.*, 1998), lo cual sugiere que puede jugar un papel importante en la atracción de hembras de muchos insectos hacia plantas hospederas.

El hecho de que la concentración más baja de 100 µg para el compuesto metil-fenilacetato hubiera sido la preferida por los machos y hembras puede estar asociada con el hecho de que los receptores nerviosos de las antenas requieren muy bajas concentraciones de un compuesto para que estos sean detectados, como es el caso de las feromonas que generalmente se emiten en cantidades del orden de los nanogramos (Witzgall *et al.*, 2008). Para el caso de las feromona sexuales de muchas especies de lepidópteros, se sabe que altas concentraciones de los compuestos que las integran pueden generar inhibición de su comportamiento por mecanismos de saturación (Miller *et al.*, 2006), y es posible que lo mismo ocurra con compuestos volátiles emitidos por las plantas hospederas.

Respecto a la mayor respuesta de atracción y receptividad de los machos al compuesto metil-fenilacetato, se sabe que la mayoría de las especies de lepidópteros (incluida *T. solanivora*) presenta diferencias entre los sexos a nivel del sistema nervioso para la percepción de estímulos olfativos. Estas diferencias pueden estar manifestadas en diferente número de receptores antenales, neuronas de extensión o arborización de núcleos cerebrales, lo



cual hace que los machos sean mucho más sensibles a un gran número de estímulos de su entorno de orden ambiental o sexual o que reaccionen a diferentes estímulos que las hembras (Kingan y Hildebrand, 1989).

La polilla guatemalteca de la papa es una especie monófaga de este cultivo, por lo que se puede sugerir que presenta una relación estrecha con su planta hospedera. Esto posiblemente se debe a que el insecto desde sus estados inmaduros se alimenta de los tubérculos de la planta. El comportamiento de las hembras en la localización de su planta hospedera ha sido objeto de estudio, con el fin desarrollar metodologías para interrumpir los procesos de oviposición, que son vitales para la permanencia del insecto en el cultivo de papa. En este sentido, la identificación química y la caracterización biológica de las sustancias implicadas en la localización de las fuentes de alimentación permitirán entender el comportamiento de las hembras con miras al desarrollo de nuevas alternativas de manejo de la plaga tanto en condiciones de campo como en almacenamiento de semilla de papa.

Conclusiones

Aunque el metil-fenilacetato y el sulcatón fueron unos de los compuestos liberados tanto en tubérculos como plantas en floración en grandes cantidades, estos no mostraron ser muy efectivos por sí solos, ni mezclados para la captura de hembras de la polilla guatemalteca. El hecho de que los compuestos sean liberados en grandes cantidades y que muestren una respuesta en las antenas de la polilla no significa que estos sean atractivos. En este caso es posible que estos dos compuestos no sean los responsables de la atracción, o que sean estos en combinación con otros compuestos. Falta investigación adicional sobre el uso de compuestos volátiles para el control de la polilla guatemalteca. Todavía hay muchas combinaciones de compuestos que deben ser evaluadas antes de poder proponer una estrategia para el manejo de esta plaga.



BIBLIOGRAFÍA

- Barreto, N.; Espitia, E.; Galindo, R.; Gordo, E.; Cely, L.; Martínez, L.; Lozano, F.; López-Ávila, A. (2003). *Estudios de fluctuación de poblaciones la polilla guatemalteca de la papa Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae) en tres intervalos de altitud en Cundinamarca y Boyacá*. En: *Memorias Tecia solanivora, II Taller Nacional, "Presente y futuro de la investigación en Colombia sobre polilla guatemalteca"*. Bogotá, Colombia: Cevipapa, CNP, Andi, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Karlsson, M.; Birgersson, G.; Cotes, A.; Bosa, F.; Bengtsson, M.; Witzgall, P. (2009). *Plant odor analysis of potato: Response of Guatemalan moth to above and belowground potato volatiles*. *J. Agric. Food Chem.* 57: 5903-5909.
- Keiichi, H.; Hisashi, O.; Nanao, H. (1998). *Identification of floral volatiles from Ligustrum japonicum that stimulate flower visiting by cabbage butterfly, Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology*, 24 (12): 2167-2180.
- Kingaw, T.; Hildebrand, J. (1989). *Sexually dimorphic polypeptides in developing antennal sensory neurons of an insect*. *The Journal of Neuroscience*. 9(6): 1951-1960.
- Kiyoshi, N.; Walter, S.; Leal, T.; Masahiko, T.; Mikio, O.; Michitaka, N. (1997). *Increase of trap catches by a combination of male sex pheromones and floral attractant in longhorn beetle, Anaglyptus subfasciatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 23 (6): 1635-1640.
- Landolt, P.; Heath, J.; Millar, J.; Davis-Hernández, K.; Dueben, B.; Ward, K. (1999). *Effects of host plant Gossypium hirsutum L. on sexual attraction of cabbage looper moths, Trichoplusia ni (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)*. *Journal of Chemical Ecology* 20: 2959-2974.
- López-Ávila, A.; Rincón, D. (2006). *Diseño de un olfatómetro de flujo de aire para medir respuestas olfativas de insectos de tamaño mediano y pequeño*. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 7(1): 61-65
- Miller, J.; Gut, L.; Lame, F.; Stelinski, L. (2006). *Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (Part I): Theory*. *Journal of Chemical Ecology*. 32(10): 2089-2114.
- Murlis, J.; Elkinton, J.; Cardé, R. (1992). *Odor plumes and how insects use them*. *Annual Review of Entomology*. 37:505-532.
- Sakakibara, Y.; Akira, K.; Akiomi, Y. (1998). *Performance of four chemical with floral scents as attractants for Longicorn beetles in a Broadleaved forest*. *J. For. Res.* 3: 221-224.
- Soriano, J. (2000). *Algunos aspectos relacionados con el comportamiento de Tecia solanivora (Polilla Guatemalteca) en condiciones de cultivo*. *Papas Colombianas 2000, con el mejor entorno ambiental. 25 años Fedepapa*. Ventana al Campo Andino 3 (1-2): 168-173.
- Witzgall, P.; Stelinski, L.; Gut, L.; Thomson, D. (2008). *Codling moth management and chemical ecology*. *Annual Review of Entomology*. 53: 503-522.