

# Capítulo 3

## Análisis de los olores de la planta de papa y su efecto en la atracción de la polilla guatemalteca

---

*Miram Frida Karlson  
Göran Birgersson  
Alba Marina Cotes  
Felipe Bosa  
Marie Bengston  
Peter Witzgall*



### Introducción

**Los compuestos volátiles de las plantas son aquellos compuestos químicos** que son arrastrados por el aire y jue-

gan papeles múltiples en la comunicación con otras plantas, con microorganismos y con animales (Gershenson y Dudareva, 2007; Schwab *et al.*, 2008). Aunque estas funciones se entienden a grandes rasgos, cada especie de planta produce docenas de compuestos químicos que en conjunto crean su olor característico. Todavía no es claro si todos estos son esenciales para la planta y biológicamente activos o si solo son desechos biosintéticos (Berenbaum y Zangerl, 2008).

Los compuestos volátiles ayudan a los insectos herbívoros a encontrar sus hospederos; no obstante, dentro de los compuestos que produce la planta algunos pueden ser atractivos, otros repelentes y muchos pueden ser importantes para el insecto. El balance final entre aquellos atractivos y aquellos repelentes va a determinar si la planta es o no atractiva para el insecto. Los estudios recientes, principalmente en polillas, apoyan la idea de que la mez-



cla de pocos compuestos son responsables de la atracción hacia el hospedero (Piñero y Dorn, 2007; Tasin *et al.*, 2007; Knudsen *et al.*, 2008; Cha *et al.*, 2008). El conocimiento de los aleloquímicos que guían a la hembra a sitios adecuados para la oviposición o alimentación es esencial para entender las interacciones entre la planta y el insecto, y para el desarrollo de nuevas estrategias para el control de plagas agrícolas (Cook *et al.*, 2007; Witzgall *et al.*, 2008).



Figura 15. Dispensador de feromonas sintéticas para el control de *T. solanivora* en la interrupción de cópula instalado en un cultivo de papa. Fotografía: Laboratorio de Control Biológico, Corpoica.

El uso de la feromona producida por la hembra (la cual solo atrae machos) en el control de polillas, ha sido eficiente cuando se usa para la captura masiva de machos y para la interrupción de la cópula. Esta última técnica se basa en confundir a los machos y no permitir el encuentro con las hembras para copular (Figura 15) (Witzgall *et al.*, 2010). Sin embargo, gran parte del daño en los cultivos puede deberse a las hembras previamente copuladas que migran a los cultivos, haciendo que el control exclusivo de machos no sea suficiente como estrategia de manejo. Utilizar los compuestos volátiles atractivos o repelentes de la plantas para alterar el comportamiento de las hembras vírgenes y apareadas puede convertirse en una herramienta eficaz para el control de la polilla guatemalteca.

La polilla guatemalteca *T. solanivora* es una plaga monófaga que se alimenta únicamente de tubérculos de papa. Las polillas ponen huevos en la base de los tallos de las plantas cerca a los sitios de formación de tubérculos (Figura 16) y sobre los tubérculos en condiciones de almacenamiento (Bosa *et al.*, 2006).



Figura 16. Huevo de *Tecia solanivora* en el suelo. Fotografía: Laboratorio de Control Biológico, Corpoica.

Teniendo en cuenta lo anterior, y dado que la polilla tiene hábitos nocturnos, se puede pensar que esta utiliza los compuestos volátiles producidos por la planta para encontrarla. Los volátiles producidos por la planta de la papa han sido estudiados de forma preliminar (Visser *et al.*, 1979). De igual forma, el análisis detallado de los compuestos producidos por las plantas en los diferentes estados fenológicos aun no han sido explorados, lo cual sería interesante si se tiene en cuenta que *T. solanivora* prefiere ciertos estados fenológicos de la planta de papa. El estudio resumido en este capítulo (Karls-son *et al.*, 2009) es el primer estudio que aborda este tema y que fundamentalmente es la base para el desarrollo de una estrategia de control mediada por compuestos volátiles.

## Materiales y métodos

**Plantas e insectos.** Para todos los ensayos se utilizaron plantas y tubérculos de papa *S. tuberosum* para la recolección de volátiles emitidos por estos materiales. Las plantas se sembraron en materas plásticas y fueron mantenidas en invernadero en condiciones de temperatura de  $15 \pm 2$  °C bajo un fotoperiodo de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. Las plantas en etapa de germinación tenían entre 2 y 3 semanas después de la siembra, en etapa de inicio de tuberización tenían 5 semanas y 8 semanas en inicio de floración. Los tubérculos fueron recolectados de plantas de 11 semanas, luego del comienzo de la etapa de senescencia.

La polilla guatemalteca fue criada en tubérculos de papa en laboratorio. La población del laboratorio se originó de insectos colectados cerca de Bogotá, Colombia. Los insectos se mantuvieron en cilindros plásticos de 15 cm



de diámetro x 20 cm con papel filtro en la base, lo anterior con el objeto de que las hembras ovipositaran sobre este y de esta forma coleccionar las posturas. Las posturas coleccionadas fueron puestas sobre tubérculos de papa en cajas plásticas de 20 x 30 x 15 cm y se mantuvieron a  $22 \pm 3$  °C con una humedad relativa de  $55 \pm 5\%$ , condiciones favorables para que las larvas cumplieran su ciclo en el interior de los tubérculos. Las larvas de último instar salieron de los tubérculos, formaron la pupa sobre cartón corrugado, y fueron separadas por género (Rincón y López; 2004). Las hembras y machos utilizados en experimentos electrofisiológicos y comportamentales se mantuvieron separados en jaulas de acrílico (33 x 33 x 33 cm) y fueron alimentados con una solución de agua-miel al 10%.

**Recolección de los compuestos volátiles.** El follaje de papa en las tres etapas fenológicas de desarrollo y los tubérculos ( $n=8$ ) se guardaron en un frasco de vidrio de 2 L cerrado con una tapa esmerilada en condiciones de laboratorio y en bolsas de plástico inodoro en campo (Figura 17). Una corriente de aire (150 mL/min) filtrada por carbón activado fluyó sobre el material vegetal desde la base del frasco hacia arriba y luego a través de una trampa especial para capturar volátiles, llamada Super Q, durante 14 horas. Después de la recolección de las muestras, las trampas fueron enjuagadas con hexano y se les añadió 500 ng de acetato de heptilo, compuesto que se usó como testigo para el proceso de cromatografía de gases.



**Figura 17.** Colecta de volátiles emitidos por la planta de papa y tubérculos. a. Equipo de colecta de volátiles de campo; b. Colecta de volátiles de flores de la planta de papa; c. Instalación de equipos para colecta de volátiles en campo; d. Colecta de volátiles producidos por tubérculos frescos. Fotografía: Laboratorio de Control Biológico, Corpoica.



**Análisis químico.** Los volátiles colectados fueron analizados en un cromatógrafo de gases (CG) con un detector de ionización de llama y en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Este método separa las moléculas de los diferentes compuestos que hay en la muestra, basándose en la temperatura a la cual se despegan de un sustrato, y entran en el gas que los rodea, en este caso nitrógeno. Luego de ser separados estos se analizan uno a uno en el detector de ionización de llama y espectrómetro de masas, los cuales generan huellas específicas para cada compuesto, permitiendo que puedan ser comparadas con bases de datos existentes.

La cantidad de cada compuesto fue estimada comparando el resultado con aquel obtenido en el control utilizado que consistió en acetato de heptilo en concentración conocida, y después se corrigieron comparándolos con concentraciones conocidas de compuestos similares. La cantidad de compuestos liberados por diferentes estados fenológicos de la papa fueron comparados mediante análisis de varianza de una vía, seguido por pruebas de Tukey.

**Electroantenografía.** La técnica de la electroantenografía se basa en determinar la actividad de los nervios dentro de las antenas de los insectos cuando estas se exponen a diferentes compuestos químicos volátiles. Esto se logra midiendo las descargas eléctricas que se generan cuando hay un impulso nervioso. Si el insecto tiene la capacidad de detectar un compuesto, se produce una respuesta nerviosa. Así, se acopló un cromatógrafo de gases (CG) a un aparato de electroantenografía (EAD) para hacer lecturas simultáneas y poder saber con precisión a qué compuesto reaccionaron las antenas. Las antenas se cortaron en la base y cada punta se fijó en una pipeta de vidrio con gel conductor. El gas efluente del CG fue dividido en dos: una fracción fue enviada al espectrómetro de masas y la otra se envió a la preparación de la antena, con el fin de tomar datos sobre la caracterización de los compuestos y la respuesta neuronal de forma simultánea. Las polillas que se usaron tenían 2-3 días de edad; se llevaron a cabo grabaciones de follaje (n=40) y olores de tubérculos (n=7) durante el comienzo de la noche.

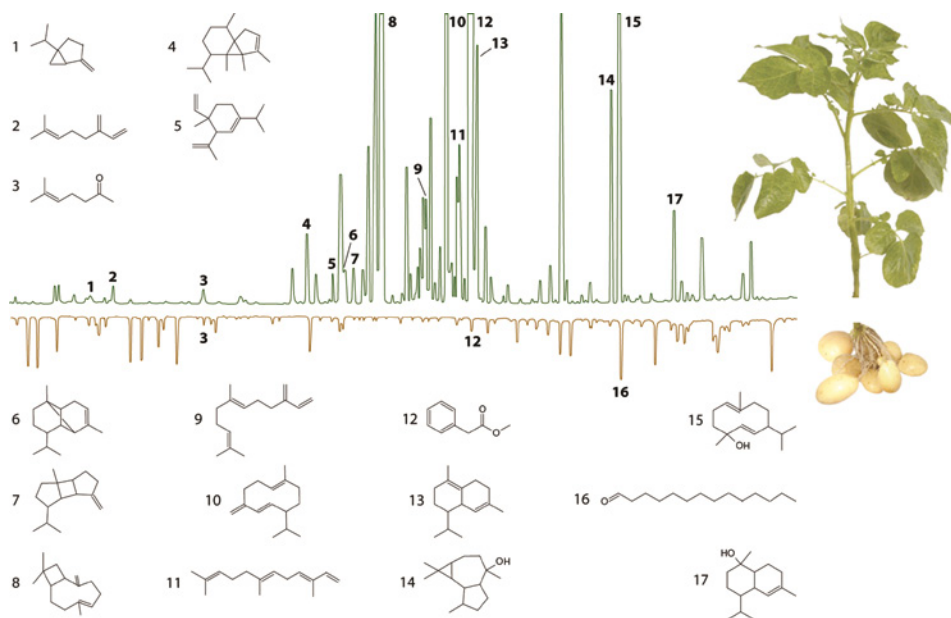
## Resultados

**Análisis químico.** Las plantas de papa verdes liberaron 32 sesquiterpenos, los cuales conforman el 86, 93 y 55% de los volátiles liberados durante los estados de germinación, tuberización y floración respectivamente. Los sesquiterpenos más abundantes fueron  $\beta$ -cariofileno, germacreno-D-4-ol, germacreno-D, kunzeol y (E,E)-R-farneceno. La mayoría de los compuestos se encontraron en los tres estados fenológicos, pero la tasa de liberación incrementó significativamente entre la germinación y la tuberización.



Las plantas en floración liberaron, adicionalmente, grandes cantidades de metil-fenilacetato el cual tiene una fuerte fragancia floral, similar a la de la miel. Este compuesto fue liberado a una tasa de  $157 \pm 52$  ng/g/h. Además, los tubérculos también liberaron este compuesto, aunque a una tasa menor ( $3 \pm 1$  ng/g/h) (Figura 18).

Asimismo, los compuestos liberados por los tubérculos difirieron de los del follaje porque los sesquiterpenos están prácticamente ausentes y solo tres de ellos se encontraron en muy bajas cantidades. Los tubérculos liberaron principalmente alcoholes alifáticos, aldehídos y cetonas, junto con compuestos bencenoides y monoterpenos. La mayoría de estos compuestos también se encontraron en las hojas, sin embargo, varios de ellos como el tetradecanal, octen-3-ol, (Z)- $\beta$ -ocimeno y el heneicosano fueron característicos de los tubérculos.



**Figura 18.** Compuestos volátiles del follaje con flores de papa (perfil superior) y tubérculos (perfil inferior) que muestra respuestas antenales en hembras de *Tecia solanivora* según el análisis de GC y EAD. Los compuestos activos en las antenas son: 1. sabineno; 2. mirceno; 3. 6-metil-5 hepten-2-ona; 4. R-cubeno; 5.  $\delta$ -elemeno; 6. R-copaeno; 7.  $\beta$ -burboneno; 8.  $\beta$ -cariofileno; 9. (E)- $\beta$ -farneseno; 10. germacreno-D; 11. (E,E)-R-farneseno; 12. metil-fenilacetato; 13.  $\delta$ -cadineno; 14. ledol; 15. gernacreno-D-4-ol; 16. tetradecanal; 17.  $\tau$ -cadinol. Adaptado de Karlsson et al., 2009.

**Electroantenogramas.** Las antenas de hembras de la polilla guatemalteca respondieron de forma consistente a dos compuestos producidos por los tubérculos, el metil-fenilacetato, también liberado por las plantas en



etapa de floración, y el tetradecanal. Es interesante resaltar el hecho que el metil-fenilacetato, componente principal del olor de las plantas con flores, también está presente en el olor de los tubérculos (Figura 18). Este compuesto activo del olor floral, que tiene un fuerte olor a miel, fue identificado por primera vez en la papa, produce una fuerte respuesta en la antena de la polilla guatemalteca *T. solanivora*, y un primer ensayo de trampas sugiere que probablemente contribuye a la atracción de las hembras copuladas hacia plantas en estado de floración y tubérculos.

El sulcatón generó una respuesta en la mitad de las grabaciones que se hicieron con olores de los tubérculos, lo cual sugiere que puede ser importante. De los compuestos liberados por plantas con flor, 2 monoterpenos y 12 sesquiterpenos incitaron una respuesta antenal (Figura 18). Se necesitan estudios de comportamiento con mezclas de volátiles más complejas para poder identificar la señal química que incita la atracción de la polilla guatemalteca a la papa.

## Discusión

Los sesquiterpenos son característicos del follaje de la papa, pero solo se encontraron en cantidades mínimas en los tubérculos. Los compuestos volátiles producidos por los tubérculos frescos contienen principalmente compuestos alifáticos y algunos benzenoides y monoterpenos.

El metil-fenilacetato, componente principal del olor de las plantas con flores, también estuvo presente en los volátiles de los tubérculos (Figura 18). Este compuesto activo del olor, que incitó una fuerte respuesta en la antena de la polilla guatemalteca, también es un componente importante del olor floral de la Alheña Japonesa, *Ligustrum japonicum* la cual es atractiva para las mariposas del repollo *Pieris rapae* (Honda *et al.*, 1998), lo cual sugiere que puede ser de importancia para otros insectos.

Los sesquiterpenos son componentes esenciales de varios atrayentes de insectos basados en volátiles de plantas (Webster *et al.*, 2008; Cha *et al.*, 2008). El grupo de los sesquiterpenos es el principal componente del total de los volátiles de la papa, y 12 de ellos generaron una respuesta antenal en hembras de *T. solanivora*. Las diferencias en la producción de estos a lo largo de la vida de la planta de papa podrían permitir que la polilla guatemalteca discrimine entre diferentes estados fenológicos de esta y sus partes.

El hecho de que las hembras de la polilla guatemalteca sean atraídas por plantas con flores y ovipositen en la tierra cerca de estas y no sobre sus tallos y hojas, es comparable con el comportamiento de oviposición de la palomilla



de la papa *Phthorimaea operculella*. Bajo condiciones de campo, las hembras ponen una gran proporción de los huevos en la tierra adyacente a las plantas hospederas y no directamente sobre las hojas, a pesar de ser minadores (Fenemore, 1988); esto sugiere que puede haber alguna repelencia por parte de los volátiles producidos por las estructuras verdes y de esta forma jugar una doble función de atracción a larga distancia y facilitar la elección del sitio de oviposición a corta distancia al repeler a las hembras de las hojas.

## Conclusiones

Este estudio mostró que de los más de 60 compuestos producidos por la planta de papa solo 16 pueden ser percibidos por la polilla guatemalteca. Un extracto de volátiles atractivos para las polillas hembra debería tener tanto olores florales como el metil-fenilacetato. ya que estos indican sitios propicios para la alimentación, como olores que indiquen buenos sitios de oviposición, los cuales, en este caso, pueden ser sesquiterpenos que repelen a las hembras de las hojas y tallos de la planta. Teniendo esto en cuenta, compuestos que se encuentran en plantas con flores y los tubérculos como el metil-fenilacetato, el tetadecanal, y el sulcatón pueden ser útiles en el desarrollo de trampas que permitan el monitoreo de poblaciones y el posible control de la polilla guatemalteca en condiciones de almacenamiento y campo. Adicionalmente, los volátiles repelentes del follaje de la planta podrían ser utilizados para impedir la oviposición (Guerra *et al.*, 2007).

## BIBLIOGRAFÍA

- Berenbaum, M. R.; Zangerl, A. R. (2008). *Facing the future of plant-insect interaction research: le retour à la "raison d'être"*. Plant Physiol. 146: 804-811.
- Bosa, C. F.; Cotes, A. M.; Osorio, P.; Fukumoto, T.; Bengtsson, M.; Witzgall, P. (2006). *Disruption of pheromone communication in Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae): flight tunnel and field studies*. J. Econ. Entomol. 99: 1245-1250.
- Cha, D. H.; Hesler, S. P.; Moser, C. L.; Nojima, S.; Linn, C. E.; Roelofs, W. L.; Loeb, G. M. (2008). *Flight tunnel responses of female grape berry moth (Paralobesia viteana) to host plants*. J. Chem. Ecol. 34: 622-627.
- Cook, S. M.; Khan, Z. R.; Pickett, J. A. (2007). *The use of push-pull strategies in integrated pest management*. Annu. Rev. Entomol. 52: 375-400.
- Fenemore, P. G. (1988). *Host-plant location and selection by adult potato moth, Phthorimaea operculella (Lepidoptera: Gelechiidae): a review*. J. Insect Physiol. 34: 175-177.
- Gershenson, J.; Dudareva, N. (2007). *The function of terpene natural products in the natural world*. Nat. Chem. Biol. 3: 408-414.
- Guerra, P. C.; Molina, I. Y.; Yábar, E.; Gianoli, E. (2007). *Oviposition deterrence of shoots and essential oils of Minthostachys spp. (Lamiaceae) against the potato tuber moth*. J. Appl. Entomol. 131: 134-138.
- Honda, K.; Omura, H.; Hayashi, N. (1998). *Identification of floral volatiles*



from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower-visiting by cabbage butterfly *Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.* 24: 2167-2180.

Karlsson, M. F.; Birgersson, G.; Cortes Prado, A. M.; Bosa, F.; Bengtsson, M.; Witzgall, P. (2009). *Plant odor analysis of potato: response of the Guatemalan Moth to above- and belowground potato volatiles*. *J. Agric. Food Chem.* 57: 5903-5909.

Knudsen, G. K.; Bengtsson, M.; Kobero, S.; Jaastad, G.; Hofsvang, T.; Witzgall, P. (2008). *Discrepancy in laboratory and field attraction of apple fruit moth *Argyresthia conjugella* to host plant volatiles*. *Physiol. Entomol.* 33: 1-6.

Piñero, J. C.; Dorn, S. (2007). *Synergism between aromatic compounds and green leaf volatiles derived from the host plant underlies female attraction in the oriental fruit moth*. *Entomol. Exp. Appl.* 125: 185-194.

Rincón, D. F.; López-Ávila, A. (2004). *Dimorfismo sexual en pupas de *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae)*. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 5 (1): 41-42.

Schwab, W.; Davidovich-Rikanati, R.; Lewinsohn, E. (2007). *Biosynthesis of*

*plant-derived flavor compounds*. *Plant J.* 54: 712-732.

Tasin, M.; Bäckman, A. C.; Coracini, M.; Casado, D.; Ioriatti, C.; Witzgall, P. (2007). *Synergism and redundancy in a plant volatile blend attracting grapevine moth females*. *Phytochemistry.* 68: 203-209.

Visser, J. H.; Van Straten, S.; Maarse, H. (1979). *Isolation and identification of volatiles in the foliage of potato, *Solanum tuberosum*, a host plant of the Colorado Beetle, *Leptinotarsa decemlineata**. *Journal of Chemical Ecology.* 5 (1): 13-25.

Webster, B.; Bruce, T.; Dufour, S.; Birkemeyer, C.; Birkett, M.; Hardie, J., Pickett J. (2008). *Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid *Aphis fabae**. *J. Chem. Ecol.* 34: 1153-1161.

Witzgall, P.; Stelinski, L.; Gut, L.; Thomson, D. (2008). *Codling moth management and chemical ecology*. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 503-522.

Witzgall, P.; Kirsch, P.; Cork, A. (2010). *Sex pheromones and their impact on pest management*. *Journal of Chemical Ecology.* 36: 21.