

RESPUESTA OLFATIVA DE *Chelonus insularis* Cresson, 1865 (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) A COMPUESTOS VOLÁTILES EMITIDOS POR PLANTAS DE MAÍZ

Fabián Rubén Ortiz-Carreón✉, Juan Cisneros-Hernández y Edi Álvaro Malo-Rivera

Grupo de Ecología de Artrópodos y Manejo de Plagas, Departamento de Agricultura, Sociedad y Ambiente, El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Aeropuerto Km 2.5, Tapachula, Chiapas, México. C. P. 30700.

✉ Autor de correspondencia: frortiz@ecosur.edu.mx

RESUMEN. *Chelonus insularis* es un parasitoide de huevo-larva que ataca a *Spodoptera frugiperda*, principal plaga del maíz en México y otros países de América. En un olfatómetro de vidrio tipo “Y”, se determinó la atracción de hembras de *C. insularis* a compuestos volátiles de plantas de maíz sanas y dañadas por larvas de *S. frugiperda*. Los resultados muestran que *C. insularis* fue significativamente atraído tanto a los volátiles de plantas sanas como los de plantas dañadas. Además, fue significativamente más atraído a volátiles de plantas dañadas cuando se confrontó con los de plantas sanas. Los volátiles fueron colectados por la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) e identificados por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM). Se identificaron 21 compuestos en plantas sanas y 27 en plantas dañadas. Algunos compuestos identificados en plantas dañadas se encontraron en mayor proporción que en plantas sanas. Los compuestos identificados en plantas sanas fueron: β -cariofileno, (*E*)- α -bergamoteno, linalol y (3*E*)-4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrieno (los cuatro presentes en mayor proporción). En plantas dañadas se identificó a: β -cariofileno, (*E*)- α -bergamoteno, indol, longifoleno, α -guaieno, (*Z*)- α -*trans*-bergamotol, aromadendreno y cadineno (los últimos 6, son volátiles inducidos). Se discute la posible relevancia de estos hallazgos en la interacción planta-hospedero-parasitoide.

Palabras clave: *Spodoptera frugiperda*, parasitoide, compuestos volátiles, interacción tritrófica, señales químicas.

Olfactory response of *Chelonus insularis* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles emitted by maize plants

ABSTRACT. *Chelonus insularis* is an egg-larva parasitoid that attacks *Spodoptera frugiperda*, the main pest of maize in Mexico and other countries of America. In a type “Y” glass olfactometer, we evaluated the attraction of *C. insularis* females to volatile compounds from healthy maize plants damaged by *S. frugiperda* larvae. The results show that *C. insularis* was significantly attracted to the volatiles of the healthy plant as a damaged plant. In addition, it was significantly more attracted to volatiles of damaged plants when compared with those of healthy plants. The volatiles were collected by the technique of solid phase microextraction (SPME) and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). We identified 21 compounds from healthy plants and 27 in damaged plants. In addition, some compounds identified in the damaged plants were found in a greater proportion than in a healthy plant. Among the compounds identified in healthy plants, we found β -caryophyllene, (*E*)- α -bergamotene, linalool and (3*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (the 4 presents in greater proportion). In the damaged plants, we identified β -caryophyllene, *trans*- α -bergamotene, indole, longifolene, α -guaiene, (*Z*)- α -*trans*-bergamotol, aromadendrene and cadinene (the last 6 are induced volatiles). The possible relevance of these findings in the plant-host-parasitoid interaction is discussed.

Key words: *Spodoptera frugiperda*, parasitoid, volatile compounds, tritrophic interaction, chemicals signals.

INTRODUCCIÓN

Las plantas, al ser atacadas por herbívoros, pueden liberar nuevos compuestos volátiles (Mattiacci *et al.*, 1995) así como incrementar y/o disminuir la concentración de volátiles cuando son dañadas mecánicamente (Turlings *et al.*, 1995). Estos volátiles se liberan al momento del daño o después de horas e incluso días posteriores al daño (Röse *et al.*, 1996). Dichos compuestos son señales que indican a los parasitoides que una planta ha sido atacada y existe la posibilidad de que encuentren a su hospedero, facilitando la regulación de las poblaciones de herbívoros (Kessler y

Baldwin, 2001). Generalmente, estos volátiles son usados por parasitoides como señales de largo alcance que indirectamente delatan la presencia de su hospedero (Vet y Dicke, 1992).

En las relaciones tritóficas planta-hospedero-parasitoide se ha encontrado que el parasitoide responde a los volátiles emitidos por la planta hospedera (Takabayashi *et al.*, 1995; Du *et al.*, 1998). En la interacción *Zea mays* (Linnaeus, 1753)-*Spodoptera exigua* (Hübner, 1808)-*Cotesia marginiventris* (Cresson, 1921), el parasitoide mostró una preferencia hacia plantas dañadas por larvas de *S. exigua* en comparación con plantas sanas en pruebas de elección. Además, ya se han identificado químicamente los compuestos que utiliza el parasitoide en la búsqueda de su hospedero. Por ejemplo, se ha encontrado que una mezcla de volátiles de plantas de maíz dañadas con larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) atraen a *C. marginiventris* (D'Alessandro *et al.*, 2009).

En el caso de parasitoides que atacan huevos no se espera que éstos provoquen atracción química de largo alcance, en muchos casos los volátiles presentes en la superficie de los huevos actúan a corto alcance (Fatouros *et al.*, 2008). Por otro lado, los volátiles emitidos de plantas pueden ser más detectables para estos parasitoides. La atracción de parasitoides de huevos a volátiles y/o extractos de plantas ya ha sido reportada (Hilker *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2002; Lou *et al.*, 2005).

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (James Edward Smith, 1797), es la principal plaga de maíz en México y otros países de Centro y Sudamérica (Blanco *et al.*, 2010). Se han reportado parasitoides que atacan al gusano cogollero en cultivos de maíz ocasionando niveles de mortalidad que van del 35 al 70 % (Van Huis, 1981). Entre los parasitoides que se han encontrado atacando poblaciones de *S. frugiperda* en cultivos de maíz, en la costa del Estado de Chiapas, México, destaca *Chelonus insularis* (Cresson, 1865) de la familia Braconidae (Cisneros *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo fue determinar la atracción de *C. insularis* a volátiles de plantas de maíz sanas y plantas de maíz dañadas por *S. frugiperda* e identificar los compuestos volátiles en ambos tipos de plantas. La información obtenida de este trabajo será de utilidad para entender la interacción que ocurre en el trinomio maíz-gusano cogollero-*C. insularis* y en un futuro poder diseñar mejores estrategias de control.

MATERIALES Y MÉTODO

Para la obtención y cría del parasitoide, se colectaron larvas de *S. frugiperda* de forma manual en cultivos de maíz ubicados en terrenos aledaños a ECOSUR, dentro de la ciudad de Tapachula, Chiapas. Los insectos fueron criados a una temperatura de 25 ± 2 °C, 75 ± 5 % de humedad relativa (HR) y un fotoperiodo de 12:12 (luz/oscuridad) hasta la obtención de pupas y posteriormente adultos del parasitoide.

Para los bioensayos y colecta de volátiles se utilizó maíz híbrido Pioneer 40-63 W sembrado en invernadero. El tratamiento de planta dañada consistió en colocar dos larvas de tercer estadio de *S. frugiperda*, con ayuno de 12 horas, una a la altura del cogollo y la otra en una de las hojas por un lapso de diez horas. La edad de las plantas utilizadas fue de 12-15 días.

Las pruebas de atracción se realizaron en un olfatómetro de vidrio tipo “Y”, y los tratamientos y confrontaciones realizadas fueron las siguientes: 1) Planta sana vs control (aire limpio); 2) Planta dañada vs control y 3) Planta sana vs planta dañada. Las observaciones se realizaron con luz blanca artificial, a una temperatura de 25 ± 2 °C y una humedad relativa de 60 ± 5 %. Se utilizaron 30 hembras vírgenes en cada una de las evaluaciones.

La colecta de volátiles se realizó mediante la técnica de microextracción en fase sólida (SPME). La desorción e identificación de los volátiles se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Varian, CP-3800®, acoplado a un espectrómetro de masas Varian, Saturn 2200®. Los compuestos fueron identificados preliminarmente con base en el espectro de masas de cada uno, comparadas con la

biblioteca NIST versión 2.5. Los tiempos de retención y los espectros de masas de los compuestos identificados se compararon con aquellos estándares sintéticos disponibles para confirmar su identificación y se determinó el índice de retención (IR) de cada uno de los compuestos.

La respuesta de *C. insularis* en cada una de las tres evaluaciones fue analizada mediante una prueba G con corrección de Williams, excluyéndose del análisis los parasitoides que no exhibieron actividad de elección hacia alguno de los dos brazos del olfatómetro en un periodo de cinco minutos. Para la comparación de los compuestos identificados en ambos tipos de plantas, se aplicó una prueba *t* de Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las hembras del parasitoide *C. insularis* fueron significativamente más atraídas tanto a plantas sanas ($\chi^2 = 6.68$; $df = 1$; $P < 0.01$) como a plantas dañadas ($\chi^2 = 11.37$; $df = 1$; $P < 0.001$) respecto al control. En la confrontación entre plantas dañadas contra plantas sanas, se encontró que las hembras del parasitoide fueron significativamente más atraídas a plantas dañadas ($\chi^2 = 4.85$, $df = 1$; $P < 0.05$) (Fig. 1).

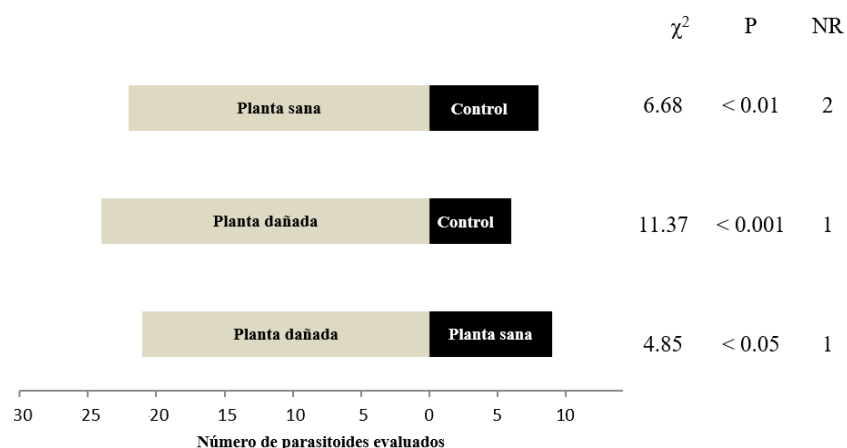


Figura 1. Respuesta de hembras de *C. insularis* a control (aire limpio), volátiles de planta sana y volátiles de planta dañada por *S. frugiperda* en bioensayos en ofatómetro “Y”. NR = no respondió. χ^2 = valor de ji cuadrada. P = valor de significancia.

En el presente trabajo se encontró que los volátiles liberados por plantas de maíz sanas son atractivos para las hembras de *C. insularis* y los volátiles que liberan las plantas dañadas por *S. frugiperda* son aún más atractivos por lo que se podría inferir que los volátiles juegan un papel clave en las decisiones de localización del hospedante. El análisis de los volátiles emitidos por plantas de maíz sanas mostró la presencia de 21 compuestos (Cuadro 1), entre los que se identificaron en mayor abundancia a: β -cariofileno (40.75 %), (*E*)- α -bergamoteno (14.51 %), linalol (8.08 %) y (3*E*)-4,8-dimetil-1,3,7, nonatrieno (6.14 %). En lo que respecta a los volátiles emitidos por plantas de maíz dañadas por larvas de *S. frugiperda* se encontró la presencia de 27 compuestos, incluyendo: β -cariofileno (52.69 %), (*E*)- α -bergamoteno (17.67 %), linalol (4.89 %) y (3*E*)-4,8-dimetil-1,3,7, nonatrieno (4.39 %) (Cuadro 1). Los volátiles de plantas dañadas por herbivoría se consideran que actúan como defensas indirectas de las plantas ya que sirven como señales confiables de que están presentes los hospederos y presas de los parasitoides y depredadores (Turlings y Wackers, 2004). Algunos compuestos volátiles emitidos por las plantas de maíz debido al daño por herbivoría corresponden a volátiles de hoja verde, alcoholes, compuestos aromáticos, monoterpenos y sesquiterpenos (D’Alessandro y Turlings, 2006; Turlings *et al.*, 1990).

Cuadro 1. Compuestos identificados (promedio \pm error estándar) en volátiles de plantas sanas de maíz y plantas dañadas por larvas de *S. frugiperda*. ¹Los compuestos en negritas fueron confirmados con estándares sintéticos. ²Compuestos confirmados con la biblioteca NIST versión 2.5 y mediante la determinación del índice de retención (IR).

Índice de retención	Tiempo de retención	Compuesto	Planta sana (X \pm EE)	Planta dañada (X \pm EE)	N = 9
1.- 955	5.417	Cumeno ¹	0.17 \pm 0.09	0.01 \pm 0.02	4/9
2.- 982	5.760	β-Pinoeno ¹	1.58 \pm 0.59	0.30 \pm 0.19	7/9
3.- 992	5.878	1,2,4-Trimetilbenceno	1.07 \pm 0.47	0.16 \pm 0.13	5/9
4.- 999	5.965	3-Hexen-1-ol,acetato(Z)	2.11 \pm 0.50	0.56 \pm 0.53	7/9
5.- 1059	6.662	p-Cimeno	0.63 \pm 0.73	0.11 \pm 0.15	4/9
6.- 1103	7.165	Linalol	8.08 \pm 7.16	4.89 \pm 3.84	9/9
7.- 1114	7.272	(3E)-4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrieno	6.14 \pm 3.51	4.39 \pm 4.45	8/9
8.- 1148	7.635	<i>trans</i> -3-Dodeceno	1.38 \pm 0.66	0.28 \pm 0.22	8/9
9.- 1192	8.097	Hexanoato de butilo	3.09 \pm 1.56	0.31 \pm 0.21	8/9
10.- 1199	8.176	Tetradecano	1.36 \pm 0.60	0.17 \pm 0.26	6/9
11.- 1325	9.386	Indol	-	1.62 \pm 1.49	6/9
12.- 1392	9.997	Longifoleno	-	0.42 \pm 0.91	4/9
13.- 1395	10.026	β -Cedreno	1.67 \pm 0.95	0.48 \pm 0.31	6/9
14.- 1398	10.055	α -Bergamoteno	0.90 \pm 0.89	1.63 \pm 2.01	9/9
15.- 1406	10.124	β -Elemeno	0.69 \pm 0.41	0.32 \pm 0.28	9/9
16.- 1413	10.183	α -Longipineno	1.73 \pm 0.80	2.85 \pm 3.73	9/9
17.- 1449	10.488	(E)- α -Bergamoteno	14.51 \pm 16.44	17.67 \pm 19.02	9/9
18.- 1456	10.547	α -Guaieno	-	0.91 \pm 1.07	9/9
19.- 1463	10.605	β-Cariofileno	40.75 \pm 58.81	52.69 \pm 48.89	9/9
20.- 1488	10.822	(Z)- α - <i>trans</i> -Bergamotol	-	0.34 \pm 0.48	5/9
21.- 1494	10.871	Aromadendreno	-	0.36 \pm 0.45	9/9
22.- 1498	10.900	8-Cedren-13-ol	1.70 \pm 1.06	0.67 \pm 0.85	9/9
23.- 1512	11.018	Cadineno	-	0.90 \pm 1.02	7/9
24.- 1520	11.086	Eremofileno	2.39 \pm 0.64	1.46 \pm 2.19	9/9
25.- 1525	11.125	Valenceno	3.12 \pm 1.0	1.57 \pm 1.26	7/9
26.- 1542	11.263	α -Amorfeno	3.04 \pm 1.26	2.72 \pm 4.25	9/9
27.- 1583	11.596	(Z)- β -Farneseno	3.79 \pm 1.76	2.10 \pm 1.66	9/9

Puede resaltarse que en plantas dañadas por larvas de *S. frugiperda* se encontraron a indol, longifoleno, α -guaieno, (Z)- α -*trans*-bergamotol, aromadendreno y cadineno; compuestos que no están presentes en planta sana y que pueden ser resultado de la respuesta de la planta al daño por el fitófago. De hecho, algunos compuestos presentes en la planta dañada como el indol ya han sido reportados en plantas de maíz dañadas por larvas de *S. frugiperda* (Turlings y Benrey, 1998). Compuestos inducidos como el α -guaieno fue reportado en plantas de algodón dañadas por larvas de *S. frugiperda* (Martíns, 2012) y el longifoleno ha sido reportado en plantas de eucalipto dañadas por el psílido del eucalipto *Ctenarytaina eucalypti* (Maskell, 1890) (Troncoso *et al.*, 2011).

También se encontró que algunos compuestos fueron producidos significativamente en mayor cantidad por efecto de herbivoría en comparación con planta sana, por ejemplo, el (E)- α -bergamoteno ($t = 2.37$; $gl = 9$; $P < 0.05$) y el β -cariofileno ($t = 2.72$; $gl = 9$; $P < 0.05$) mientras que en otros compuestos (α -bergamoteno y α -longipineno) no se encontró diferencia significativa en la cantidad producida por efecto de herbivoría ($P > 0.05$). Resultados similares fueron reportados por Ton *et al.* (2007) quienes, en experimentos de laboratorio, hechos con plantas de maíz, observaron el aumento en la concentración de compuestos orgánicos volátiles provocado por el daño de *S. exigua* a la planta, los cuales generaron una fuerte atracción del parasitoide *C. marginiventris*.

Finalmente, los resultados obtenidos en esta investigación, alientan a continuar trabajando en la evaluación de compuesto sintéticos tanto en laboratorio como en campo con la finalidad de evaluar si alguno o una mezcla de sintéticos sean atrayentes para *C. insularis* y en un futuro utilizar otros métodos de control de esta plaga.

CONCLUSIONES

En este trabajo se determinó que *C. insularis* fue atraído a volátiles de plantas de maíz sanas y a volátiles de plantas dañadas por larvas de *S. frugiperda* en el olfatómetro.

Entre los compuestos inducidos presentes en plantas dañadas de maíz se encontraron indol, longifoleno, α -guaieno, (Z)- α -trans-Bergamotol, aromadendreno y cadineno.

Literatura Citada

- Blanco, C. A., Portilla, M., Jurat-Fuentes, J. L., Sanchez, J. F., Viteri, D., Vega-Aquino, P., Teran-Vargas, A. P., Azuara-Dominguez, A., Lopez, J. D. and R. S. Arias. 2010. Susceptibility of isofamilies of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1Ac and Cry1Fa proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Southwestern Entomologist*, 35(3): 409–415. <https://doi.org/10.3958/059.035.0325>.
- Cisneros, J., Penagos, D. I., Hernández, O. y W. Trevor. 2004. ¿Es el insecticida biorracional spinosad compatible con los parasitoides en el manejo integrado de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)? Pp. 349–353. In: A. M. Morales, M. G. Ibarra, A. P. G. Rivera y S. C. Stanford (Eds.). *Entomología mexicana*. Vol. 3. Colegio de Postgraduados y Sociedad Mexicana de Entomología A. C. Texcoco, estado de México.
- D'Alessandro, M., Brunner, V., von Mérey, G. and T. C. J. Turlings. 2009. Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. *Journal of Chemical Ecology*, 35: 999–1008. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9692-7>.
- D'Alessandro, M. and T. C. J. Turlings. 2006. Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. *Analyst*, 131: 24–32. <http://doi.org/10.1039/B507589K>.
- Du, Y., Poppy, G. M., Powell, W., Pickett, J. A., Wadhams, L. J. and C. M. Woodcock. 1998. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 1355–1368. <https://doi.org/10.1023/A:1021278816970>.
- Fatouros, N. E., Dicke, M., Mumm, R., Meiners, T. and M. Hilker. 2008. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. *Behavioral Ecology*, 19: 677–689. <https://doi.10.1093/beheco/arn011>.
- Hilker, M., Rohfritsch, O. and T. Meiners. 2002. The plant's response towards insect egg deposition. Pp. 205–233. In: M. Hilker and T. Meiners (Eds.). *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*. Blackwell Publishing.
- Kessler, A. and I. T. Baldwin. 2001. Defensive function of herbivore induced plant volatile emissions in nature. *Science*, 291: 2141–2144. <https://doi.org/10.1126/science.291.5511.2141>.
- Lou, Y. G., Ma, B. and J. A. Cheng. 2005. Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Journal of Chemical Ecology*, 31: 2357–2372. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-7106-z>.
- Martíns, D. 2012. *Influencia de volátiles de algodón inducidos por herbivoría en la quimiotaxis de Anthonomus grandis (Coleoptera: Curculionidae)*. Tesis de Maestría. Universidad de Brasilia, Brasil. Instituto de Ciencias Biológicas. 56 pp.
- Mattiacci, L., Dicke, M. and M. A. Posthumus. 1995. β -glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 2036–2040.
- Reddy, G. V. P., Holopainen, J. K. and A. Guerrero. 2002. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 28: 131–143. <https://doi.org/10.1023/A:1013519003944>.
- Röse, U. S. R., Manukian, A., Heath, R. R. and J. H. Tumlinson. 1996. Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves. *Plant Physiology*, 111: 487–495. <https://doi.org/10.1104/pp.111.2.487>.

- Takabayashi, J., Takahashi, S., Dicke, M. and M. A. Posthumus. 1995. Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology*, 21: 273–287. <https://doi.org/10.1007/BF02036717>.
- Ton, J., D'Alessandro, M., Jourdie, V., Jakab, G., Karlen, D., Held, M., Mauch-Mani, B. and T. C. J. Turlings. 2007. Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize. *Plant Journal*, 49: 16–26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02935.x>.
- Troncoso, C., Becerra, J., Bittner, M., Perez, C., Sáez K., Sánchez-Olate, M. and D. Ríos. 2011. Chemical defense responses in *Eucalyptus globulus* (Labill) plants. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56: 768–770. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072011000300010>.
- Turlings, T. C. J. and B. Benrey. 1998. Effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience*, 5: 321–333. <https://doi.org/10.1080/11956860.1998.11682472>.
- Turlings, T. C. J., Loughrin, J. H., McCall, P. J., Rose, U. S. R., Lewis, W. J. and J. H. Tumlinson. 1995. How caterpillars-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 4169–4174.
- Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H. and W. J. Lewis. 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250: 1251–1253. <https://doi:10.1126/science.250.4985.1251>.
- Turlings, T. C. J. and F. L. Wäckers. 2004. Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-damaged plants. Pp. 21–75. In: R. T. Cardé and J. G. Miller (Eds.). *Advances in Insect Chemical Ecology*, Cambridge University Press, New York.
- Van Huis, A. 1981. *Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua*. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen. 230 pp.
- Vet, L. E. M. and M. Dicke. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37: 141–172. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001041>.