


OBSERVACIONES DEL COMPORTAMIENTO DE “FRAILECILLOS” (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE) EN CAMPO Y LABORATORIO QUE EVIDENCIAN ATRACCIÓN DE ESTOS HACIA FLORES Y BROTES DE SU PLANTA HOSPEDERA

Gabriela Itzel Morales-Blancas  y Angel Alonso Romero-López

Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Boulevard Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio 119-A, Col. Jardines de San Manuel, Puebla, México, C. P. 72570.

 *Autor de correspondencia: gabriela.moralesblancas@viep.com.mx*

RESUMEN. Los adultos de *Macrodactylus mexicanus* Burmeister, 1855 (“frailecillos”), en su entorno natural, se posan sobre las hojas de los arbustos de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg., 1892 (Fabaceae) (“palo dulce”) y después se dirigen hacia las flores, permaneciendo sobre ellas durante un lapso de tiempo mayor comparado con las hojas. Lo anterior permite sugerir la participación de volátiles químicos en la atracción de estos insectos. Para darle continuidad a ello y complementar el esquema de comunicación química alimentaria de *M. mexicanus*, en el presente estudio se describió el comportamiento de los frailecillos en campo al momento de contactar con las flores del palo dulce, además de evaluar la atracción de los adultos hacia hojas y flores de *E. polystachya* en bioensayos de laboratorio. Se llevaron a cabo observaciones focales y continuas de adultos de *M. mexicanus* en dos arbustos de *E. polystachya*, registrando quince patrones de comportamiento en un etograma, de los cuales destaca el desplazamiento sobre la superficie de las flores e introducción de la cabeza del insecto en el interior del brote. Asimismo, se lograron detectar respuestas positivas hacia flores y hojas en bioensayos de laboratorio. Se trata del primer reporte de este tipo para Melolonthidae distribuidos en México.

Palabras clave: *Macrodactylus mexicanus*, comunicación química, *Eysenhardtia polystachya*, etograma, volátiles, bioensayos.

Observations of “Rose Chafers” (Coleoptera: Melolonthidae) in natural and laboratory conditions as attraction evidence of these insects to flowers and blossoms of it’s host plant

ABSTRACT. Adults of *Macrodactylus mexicanus* Burmeister, 1855 (“rose chafers”) arrive on the leaves of *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg. 1892 (Fabaceae) (“palo dulce”) in a natural environment. Immediately after that, these rose chafers go to the flowers and stay there longer than they do on the leaves. This suggest the involvement of volatile chemicals in the attraction of these insects. In order to continue with this topic and to supplement the scheme of chemical food communication of *M. mexicanus*, in this study the behavior of “rose chafers” when contacting the flowers of the sweet stick, in particular with the buds, in field observations, was described, as well as the attraction of adults to leaves and flowers of *E. polystachya* in laboratory bioassays was evaluated. Focal and continuous observations of *M. mexicanus* adults were carried out in two shrubs of *E. polystachya*. An ethogram of fifteen behavior patterns was obtained, highlighting the displacement on the surface of the flowers and introduction of the head of the insect inside the bud. Likewise, positive responses toward flowers and leaves in laboratory bioassays were recorded. This is the first report of this type for Melolonthidae distributed in Mexico.

Keywords: *Macrodactylus mexicanus*, chemical communication, *Eysenhardtia polystachya*, ethogram, volatiles, bioassays.

INTRODUCCIÓN

Las plantas proveen alimento y refugio a muchos insectos y son un elemento clave en las interacciones multitróficas. Las interacciones entre especies vegetales y estos artrópodos frecuentemente resultan en la detección de volátiles de plantas por parte de los insectos (Xu y Turlings, 2017). En coleópteros Melolonthidae (ver clasificación propuesta por Cherman y Morón, 2014), se ha

estudiado el comportamiento de los adultos en función de los volátiles que liberan las plantas y que provocan la atracción de estos, dentro de los que destacan los correspondientes a *Popillia japonica* Newman, 1841 (Loughrin *et al.*, 1995, Heath *et al.*, 2001), *Maladera matrida* Argaman, 1986 (Harari *et al.*, 1994), *Hoplia communis* Waterhouse, 1875 (Imai *et al.*, 1998), *Melolontha hippocastani* F., 1801 (Ruther *et al.*, 2002 y *Melolontha melolontha* L., 1775 (Reinecke *et al.*, 2002). En especies distribuidas en México, este tipo de interacciones se han documentado en un contexto químico-ecológico para adultos de los géneros *Phyllophaga* y *Macrodactylus* (Romero-López, 2016). En el caso del segundo, existe información sobre adultos de *Macrodactylus nigripes* Bates, 1887 en interacción con hojas del “azumiate” *Baccharis salicifolia* (Ruiz y Pavón Pers., 1907, Asteraceae) (Nieves-Silva y Romero-López, 2016; 2019) y sobre adultos de *Macrodactylus mexicanus* Burmeister 1855 con hojas y flores del “palo dulce” *Eysenhardtia polystachya* (Ortega Sarg., 1892, Fabaceae) (Morales-Blancas y Romero-López, 2019).

Con relación a los estudios sobre bioensayos de confirmación de actividad biológica de adultos de *Macrodactylus* hacia diversos infoquímicos, se han empleado olfatómetros de cuatro y tres vías (Nieves-Silva y Romero-López, 2016), en el cual los adultos de *M. nigripes* respondieron positivamente hacia hojas y extractos de azumiate y maíz con respecto al control, del mismo modo aunque para bioensayos con un enfoque químico-sexual, se han efectuado pruebas con olfatómetros de dos vías para evaluar la respuesta de machos adultos de *M. mexicanus* hacia extractos de la cámara genital y glándulas accesorias de hembras de la misma especie (García-Canales y Romero-López, 2017).

En el primer estudio sobre patrones de comportamiento en la interacción entre adultos de *M. nigripes* con hojas de una de sus plantas hospederas, Nieves-Silva y Romero-López (2019) incluyeron patrones que mostraron los insectos antes y al momento del contacto con la superficie foliar, proponiendo la intervención de infoquímicos en el inicio de la interacción. Entre estos patrones destacan el desplazamiento directo del aire hacia las hojas de la planta con movimientos periódicos y constantes de las alas, posarse en la hoja y el movimiento de las mandíbulas del lado derecho al izquierdo en la dirección opuesta, cortando la hoja en pequeños fragmentos. En consistencia con esto, Morales-Blancas y Romero-López (2019) reportan el movimiento antenal como uno de los patrones principales, lo que sugiere infoquímicos mediando la interacción.

Por ello, en el presente estudio se propone dar continuidad a los registros de comportamiento de adultos de *M. mexicanus* en campo, en particular de los adultos al momento de hacer contacto con las flores de palo dulce, así como efectuar bioensayos de laboratorio con olfatómetro para obtener evidencias sobre la participación de volátiles químicos en el acercamiento de los adultos de esta especie de Melolonthidae.

MATERIALES Y MÉTODO

Obtención del material biológico.

Los adultos de *M. mexicanus* fueron recolectados manualmente en el Jardín Botánico Universitario de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), en el periodo mayo-septiembre de 2019. Se confirmó su identidad taxonómica con base en los criterios establecidos por Arce-Pérez y Morón (2000). El cuidado y manejo de los insectos se llevó a cabo tomando en consideración los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, con especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Registros de comportamiento al contacto con flores de *E. polystachya* en campo.

Se llevó a cabo la descripción de los movimientos, actos y posturas de los adultos desde la llegada y posado sobre los tallos hasta el contacto con las hojas y la interacción final con las flores

de árboles de *E. polystachya* ubicados en el Jardín Botánico Universitario, por medio de la observación directa en registros focales y continuos (Altman, 1984; Romero-López y Arzuffi, 2010). Cada sesión de observación duró 15 min, considerando el intervalo entre las 11:00 y las 14:00 hrs, periodo en el cual los adultos de esta especie presentan la mayor actividad sexual y alimentaria (Morales-Blancas y Romero-López, 2019).

Bioensayos en laboratorio.

Los bioensayos activos se llevaron a cabo en condiciones controladas de temperatura (24 ± 2 °C), humedad ($65 \% \pm 5$ °C) e iluminación blanca (60 W), entre las 11:00 y las 14:00 h, en el Laboratorio de Infoquímicos y Otros Productos Bióticos de la Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP, Puebla, México. Esto con la finalidad de simular las condiciones y horario en que se los adultos llevan a cabo de forma natural sus actividades de interacción con la planta. Se empleó un olfatómetro de vidrio de dos vías en forma de “Y”, el cual está conformado por un tubo central de 14 cm y dos brazos de 13 cm cada uno, con un diámetro interior de 1.5 cm. Cada uno de los brazos está conectado con una cámara de vidrio de 6.5 cm de longitud y 2.5 cm de diámetro interior; en dichas cámaras se colocó 1 μ L de extracto de hojas y flores (esta cantidad de hojas en cada rama o de flores compuestas en el pedicelo se determinó con base en los registros de comportamiento previos en campo), además del control. Cada lado del olfatómetro estuvo conectado a un flujo de viento constante de 500 mL/min, el cual fue regulado por un flujómetro (Cole Palmer, Ev-03217-06, USA) (1 L/min en el tubo central). En cada bioensayo, los estímulos fueron colocados aleatoriamente en cada uno de los extremos del olfatómetro y un insecto en la parte inicial del tubo, dejando pasar 5 min hasta que se mostrara una respuesta positiva hacia cualquiera de los estímulos (desplazamiento del adulto hacia alguna de las fuentes que concluyera con el contacto de algunos de sus tarsos o cabeza con la hoja o flores, en un lapso de 60 s). Después de cada experimento, se retiraron los estímulos e insectos dando una pausa de 5 min para que se eliminen los residuos previos del olfatómetro. Se probaron treinta adultos de *M. mexicanus* (indistintamente del sexo) para cada bioensayo. Se consideraron treinta repeticiones para esta actividad ($n = 30$).

Análisis de datos.

Los registros de observación se llevaron a cabo durante 20 días, considerándose como completos aquellos en los que se obtuvo la secuencia total de los patrones de comportamiento desde la llegada y posado de los adultos sobre los tallos de la planta hasta el contacto con las flores. Todas las sesiones se grabaron con una cámara Panasonic DMC-Fs18EG-P y se elaboraron etogramas con base a lo propuesto por Romero-López y Arzuffi (2010) y Nieves-Silva y Romero López (2019) con algunas modificaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El repertorio de patrones de comportamiento mostrado por los adultos de *M. mexicanus* a partir del primer contacto con las flores, consistió en once patrones principales: **1.** Inmersión de la cabeza en flor (ICF), **2.** Permanencia sobre el brote floral (PB), **3.** Desplazamiento dirigido sobre superficie foliar (DTDF), **4.** Apertura/despliegue de lamelas (AL), **5.** Permanencia de cabeza en la flor (PCF), **6.** Separación de pétalos (SP), **7.** Movimiento antenal (MA), **8.** Permanencia sobre la flor (PF), **9.** Movimiento mandibular sobre el ápice del brote floral (MMB), **10.** Rodeado de la flor con las propatas (RFP) y **11.** Rodeado del botón con las propatas (RBP). Los patrones con mayores frecuencias de aparición fueron ICF, PB y DTDF (100 %), mientras que los menos frecuentes fueron RBP y MMB (30 %).

El catálogo de patrones en orden progresivo se presentó de la siguiente manera, tomando en consideración el momento en el que el insecto establecía contacto con la planta hospedera: de

inicio, el insecto localiza el botón que usará para alimentarse, recorriendo los patrones descritos previamente para interactuar con flores (1). Dada la comunicación mediada por infoquímicos, el movimiento antenal es fundamental para este proceso (2). Posterior a ello, el adulto rodea el botón con las propatas (3) mientras permanece en el mismo para llevar a cabo la separación de los pétalos (4) realizando un movimiento mandibular sobre el ápice del botón (5). Una vez separados los pétalos, introduce la cabeza en la flor (6) para lo cual se apoya de las propatas con el fin de impulsarse hacia el interior (7), finalmente permanece de 5 a 10 min aproximadamente.

La literatura que aborda el catálogo de patrones que registran la interacción de este grupo con su planta hospedera es escasa (Morales-Blancas y Romero-López, 2019), sin embargo, se ha reportado la permanencia sobre las flores y el movimiento mandibular como patrones principales. Para adultos de *M. nigripes* se probaron diferentes estímulos, incluyendo hojas de azumiate, aunque sólo empleando extractos de hojas de esta planta junto con hojas de otras plantas, en bioensayos de laboratorio (Nieves-Silva y Romero-López, 2016).

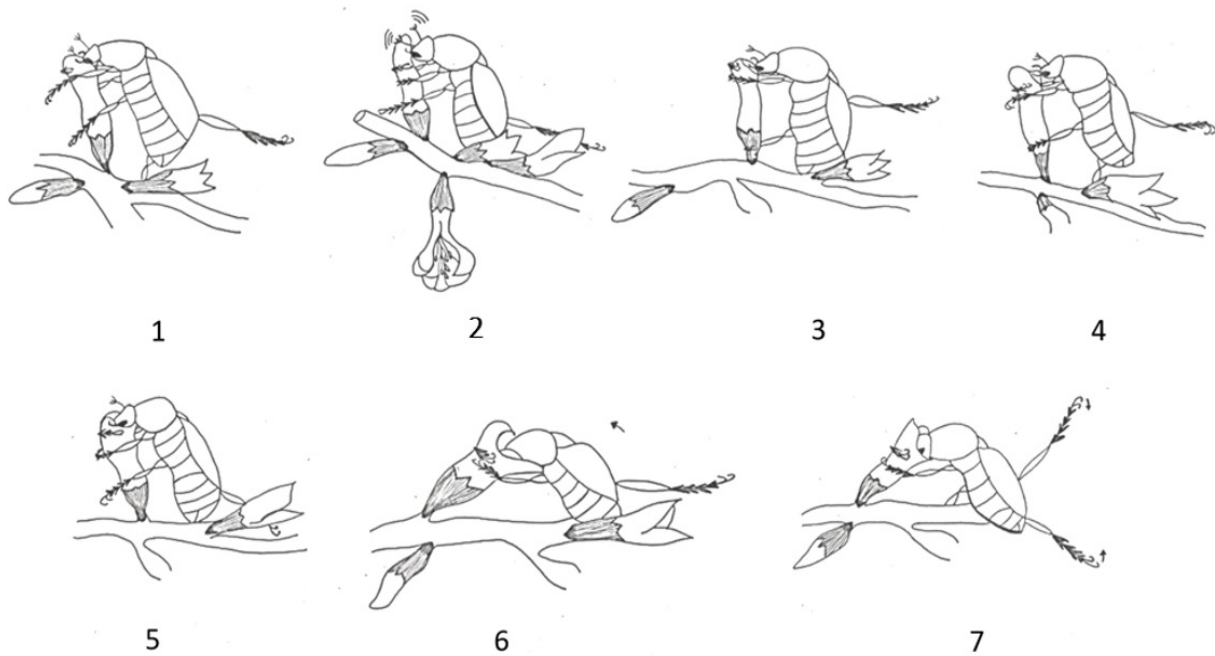


Figura 1. Etograma secuencial del repertorio de patrones que presentan los adultos de *Macroductylus mexicanus* al primer contacto con las flores de *Eysenhardtia polystachya*, en campo.

Bioensayos de laboratorio.

En el olfatómetro se observó que los adultos de *M. mexicanus* presentaron respuestas positivas hacia flores y hojas de *E. polystachya* en comparación con el control (Figuras 2), respectivamente ($X^2 = 41.6667$, $gl = 1$, $P > 0.05$; $X^2 = 24.0667$, $gl = 1$, $P > 0.05$). Con relación a la comparación entre flores y hojas, las respuestas positivas de los frailecillos fueron estadísticamente significativas hacia las flores ($\chi^2 = 35.2667$, $gl = 1$, $P > 0.05$) (Figura 3).

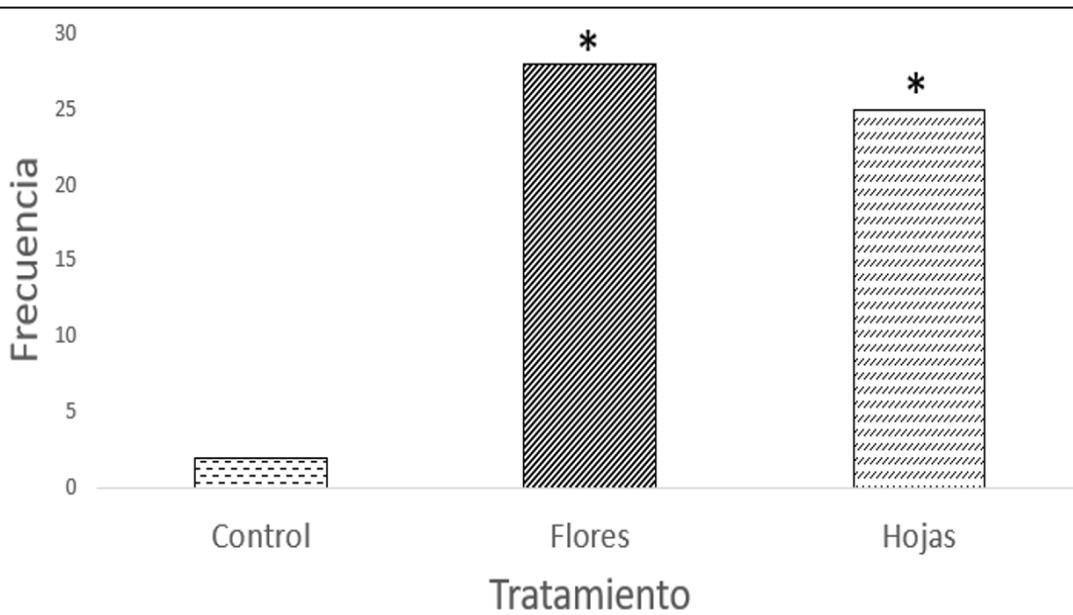
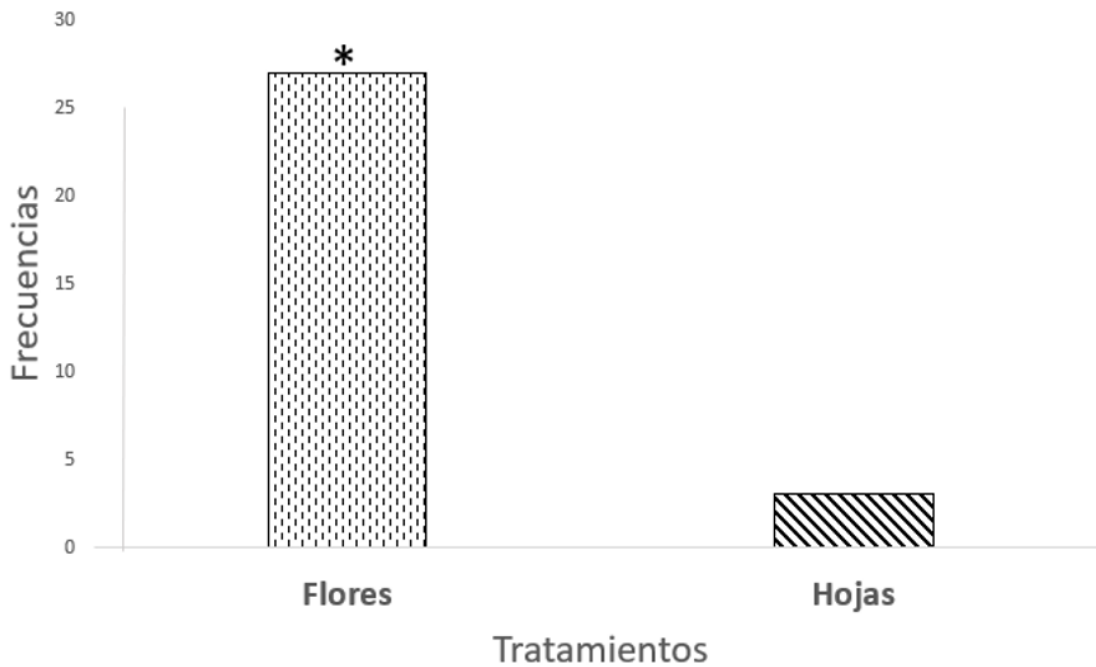


Figura 2. Bioensayos en olfatómetro que se muestra la frecuencia de respuestas positivas de adultos de *Macrodactylus mexicanus* hacia flores y hojas de *Eysenhardtia polystachya*, con respecto al control. Los asteriscos representan diferencias estadísticas significativas (Chi-cuadrada, $n= 30$)



Figuras 3. Bioensayos en olfatómetro en que se muestra la frecuencia de respuestas positivas de adultos de *Macrodactylus mexicanus* hacia flores y hojas de *Eysenhardtia polystachya*. Los asteriscos representan diferencias estadísticas significativas (Chi-cuadrada, $n= 30$).

CONCLUSIONES

Se describió el comportamiento de adultos de *M. mexicanus* al momento de contactar con flores y brotes florales de *E. polystachya*, observándose como patrones principales el desplazamiento sobre la superficie de las flores, e introducción de la cabeza del insecto en el interior del brote. Además, se evaluó la atracción de adultos de esta especie hacia extractos de hojas y flores de *E. polystachya* en bioensayos de laboratorio, detectándose repuestas positivas más significativas hacia extractos florales.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por el financiamiento para la realización del proyecto, a Alice Nelly Fernández por su contribución con el etograma.

LITERATURA CITADA

- Altmann, J. 1984. Observational sampling methods for insect behavioural ecology. *Florida Entomologist*, 67: 50–55. DOI: 10.1163/156853974X00534
- Arce-Pérez, R. y M. A. Morón. 2000. Taxonomía y distribución de las especies de *Macrodactylus latreille* (Coleoptera: Melolonthidae) en México y Estados Unidos de América. *Acta Zoológica Mexicana (n. s.)*, 79: 129–239. ISSN 2448-8445.
- Cherman, M. A., y M. A. Morón. 2014. Validación de la familia Melolonthidae Leach, 1819 (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*, 30(1), 201-220.
- García-Canales, E. y A. A. Romero-López. 2017. Respuesta de machos *Macrodactylus mexicanus* en pruebas de olfatómetro. *Entomología mexicana*, 4: 443–449. Recuperado de <http://www.socmexent.org/entomologia/index.html>
- Harari, A.R., Ben-Yakir, D. and Rosen, D. 1994. Mechanism of aggregation behavior in *Maladera matrida* Argaman (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*, 20(2): 361-371. <https://doi.org/10.1007/BF02064443>
- Heath, J.J., Williams, R.N., and Phelan P.L. 2001. High light intensity: a critical factor in the wind-tunnel flight of two scarabs, the rose chafer and Japanese beetle. *Journal of Chemical Ecology*, 27(3): 419-429. DOI: 10.1023/a:1010320102288
- Imai, T., Maekawa, M., Tsuchiya, S. and Fujimori, T. 1998. Field attraction of *Hoplia communis* 2-phenylethanol, a major volatile component from host flowers, *Rosa* spp. *Journal of Chemical Ecology*, 24(7): 1491-1499.
- Loughrin, J.H., Potter, D.A. and Hamilton-Kemp, T.R. 1995. Volatile compounds induced by herbivory act as aggregation kairomones for the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newman). *Journal of Chemical Ecology*, 21(10): 1457-1467. doi: 10.1007/BF02035145
- Morales-Blancas G. I. y A. A. Romero-López. 2019. Comportamiento de adultos de *Macrodactylus mexicanus* Burmeister, 1855 (Coleoptera: Melolonthidae) en su acercamiento a árboles de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg. 1892 (FABACEAE). *Entomología mexicana*, 6: 352–357. Recuperado de <http://www.socmexent.org/entomologia/index.html>
- Nieves-Silva, E. y A. A. Romero-López. 2016. Olfatómetro portátil para el estudio de interacciones entre “frailecillos” (Coleoptera: Melolonthidae) y plantas. *Entomología mexicana*, 3: 516–522. Recuperado de <http://www.socmexent.org/entomologia/index.html>
- Nieves-Silva, E., y Romero-López, A.A. 2019. Chemical profile of the volatiles of *Baccharis salicifolia* (Asteraceae) and interaction with *Macrodactylus nigripes* (Coleoptera: Melolonthidae). *Acta Agronómica*, 68:3. DOI: 10.15446/acag.v68n3.71063

- Reinecke, A., Ruther, J., Tolasch, T., Francke, W., y Hilker, M. 2002. Alcoholism in cockchafers: orientation of male *Melolontha melolontha* towards green leaf alcohols. *The Science of Nature*, 89(6): 265-269. DOI: 10.1007/s00114-002-0314-2
- Romero-López, A. A. 2016. Comunicación química en coleópteros Melolonthidae: a una década de distancia. *Dugesiana*, 23(1): 59–73. DOI: <http://dx.doi.org/10.32870/dugesiana.v23i1.5748>
- Romero-López, A. A. and Arzuffi, R. 2010. Evidencias sobre la producción y liberación de compuestos bioactivos de un melolóntido mexicano. En L. A. Rodríguez del Bosque y M. A. Morón Eds. *Ecología y Control de Plagas Edafícolas*. Publicación especial del Instituto de Ecología A.C. pp. 203-222. México. Recuperado de <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000049490>.
- Romero-López, A. A., Aragón, A. y R. Arzuffi. 2007. Estudio comparativo del comportamiento sexual de cuatro especies de Phyllophaga (Coleoptera: Melolonthidae). Pp. 275–281. In: E. G. EstradaVenegas, A. Equihua-Martínez, C. Luna-León y J. L. Rosas-Acevedo. *Entomología mexicana*, Vol. 6, Tomo 1. Colegio de Postgraduados y Sociedad Mexicana de Entomología A. C. Texcoco, estado de México.
- Ruther, J., Reinecke, A., Tolasch, T. and M. Hilker 2002. Phenol - Another cockchafer attractant shared by *Melolontha hippocastani* Fabr. and *M. melolontha* L. *Z. Naturforsch*, 57: 910–913 DOI: 10.1515/znc-2002-9-1026
- Xu H., Veyrat N., Degen T. and Turlings T. 2014. Exceptional use of sex pheromones by parasitoids of the genus *Cotesia*: males are strongly attracted to virgin females, but are no longer attracted to or even repelled by mated females. *Insects* 5, 499–512. DOI: 10.3390/insects5030499