



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**SEMIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA
BÚSQUEDA DE HOSPEDERO DE *Conotrachelus
perseae* Barber (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)
EN AGUACATE**

REYNA VARGAS ABASOLO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada “SEMIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA BÚSQUEDA DE HOSPEDERO DE *Conotrachelus perseae* Barber (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN AGUACATE” realizada por la alumna: Reyna Vargas Abasolo bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

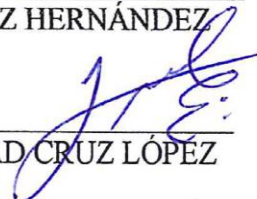
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR


CONSEJERO


DR. HÉCTOR GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

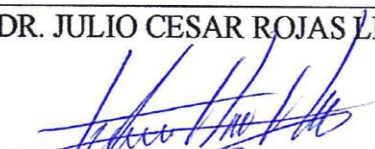
ASESOR


DR. LEOPOLDO CARIDAD CRUZ LÓPEZ

ASESOR


DR. JULIO CESAR ROJAS LEÓN

ASESOR


DR. JESÚS ROMERO NÁPOLES

ASESOR


DR. ARMANDO EQUIHÚA MARTÍNEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, septiembre de 2021.

SEMIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA BÚSQUEDA DE HOSPEDERO DE *Conotrachelus perseae* Barber (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN AGUACATE

Reyna Vargas Abasolo, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

El barrenador pequeño de la semilla del aguacate, *Conotrachelus perseae*, es una plaga reglamentada en México y es una de las cinco plagas por las que el gobierno de Estados Unidos de América ha impuesto restricciones cuarentenarias al aguacate mexicano desde 1912. Debido a que parte de la producción de aguacate se destina al mercado exterior, es necesario desarrollar una herramienta para la detección oportuna de este picudo. Ante esta situación, los atrayentes pueden ser ideales para emplearlos en un sistema de trapeo para esta plaga. En este contexto, se propuso esta investigación con el fin de generar las bases para el diseño de un sistema de trapeo para *C. perseae* con atrayentes sintéticos. Por tal motivo, mediante cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrometría de masas (SM) se determinó el perfil químico de frutos de tres cultivares de aguacate. Además, se evaluó en bioensayos en laboratorio y semicampo la respuesta electrofisiológica (EAG) y comportamental de *C. perseae* a los compuestos volátiles sintéticos identificados. La composición química de volátiles de frutos de aguacate Mexicano fue diferente a la de Fuerte y Hass, en cuanto a los diferentes compuestos encontrados. En total, se identificaron 31 compuestos, de los cuales, α y β -copaeno y cariofileno fueron de los más abundantes en los extractos de los tres cultivares. Por otra parte, el estragol, compuesto que caracteriza al aguacate Mexicano, fue el dominante (62.61%) en los extractos de estos frutos; en tanto que, en aguacate Fuerte éste compuesto se presentó en trazas y en Hass no se detectó. En los registros de electroantenograma (EAG), linalool figuró como el compuesto que desencadenó las mayores respuestas en machos y hembras de *C. perseae*. En los bioensayos en el olfatómetro, los machos fueron atraídos hacia β -pineno, estragol, linalool y ocimeno, mientras que, las hembras respondieron de manera positiva a linalool y ocimeno. En los ensayos en jaulas, los machos fueron atraídos a β -pineno y las hembras a linalool y estragol. De tal modo que, linalool, β -pineno y estragol podrían considerarse para ser incluidos en un sistema de trapeo.

Palabras clave: semioquímico, atrayente, trampa, picudo, aguacate.

SEMIOCHEMICALS INVOLVED IN THE HOST SEARCHING OF *Conotrachelus perseae* Barber (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) IN AVOCADO

Reyna Vargas Abasolo, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

The small avocado seed borer, *Conotrachelus perseae*, is a regulated pest in Mexico and it is one of the five pests for which the United States of America government has imposed quarantine restrictions to Mexican avocados since 1912. Because of that part of the avocado production is destined for the export market, it is necessary to develop a tool for the timely detection of this avocado weevil. In this situation, attractants can be ideal for use in a trapping system for this pest. In this context, this research was proposed in order to generate the basis for the design of a trapping system for *C. perseae* with synthetic food attractants. For this reason, the chemical profile of the fruits of three avocado cultivars were determined by means of gas chromatography (GC) coupled to mass spectrometry (MS). Furthermore, the electrophysiological (EAG) and behavioral responses of *C. perseae* to the identified synthetic volatile compounds were evaluated in laboratory and semi-field bioassays. The volatile chemical profile of avocado fruits cv Mexicano was different from those of cv Fuerte and cv Hass. In total, 31 compounds were identified, of which α and β -copaene and caryophyllene were among the most abundant and were recorded in the extracts of the three cultivars. On the other hand, estragole, a compound that characterizes the cv Mexicano, was the dominant (62.61%) in the extracts of these fruits; whereas, in Fuerte avocado it was presented in traces and in Hass it was not detected. In electroantennogram (EAG) recordings, linalool elicited the highest antennal responses from *C. perseae* males and females. In olfactometer bioassays, males were attracted to β -pinene, estragole, linalool, and ocimene, while females only responded positively to linalool and ocimene. In cage trials, males were attracted to β -pinene and females to linalool and estragole. Thus, linalool, β -pinene and estragole could be considered to be included in a trapping system.

Keywords: semiochemical, attractant, trap, weevil, avocado.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada.

Al **Colegio de Postgraduados**, por la oportunidad que se me dio de continuar con mi formación profesional y realizar mis estudios de doctorado.

Al **Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) unidad Tapachula**, por el apoyo brindado y por permitirme hacer uso de sus instalaciones.

Al **Dr. Héctor González Hernández**, por aceptar ser mi consejero, por su apoyo y guía durante mi formación.

A los integrantes de mi consejo particular por el apoyo brindado durante mi trayectoria como estudiante:

Dr. Leopoldo Caridad Cruz López

Dr. Julio Cesar Rojas León

Dr. Jesús Romero Nápoles

Dr. Armando Equihúa Martínez

A la **Ing. María Armida Díaz Pérez**, Coordinadora de la Campaña contra plagas reglamentadas del aguacatero en el Estado de México y al personal técnico que integran la campaña, por su disposición y apoyo brindado en la parte de campo durante la elaboración de esta investigación.

Al **M. en C. Javier Valle Mora** y al **M. en C. Víctor Manuel Almaraz Valle** por su apoyo con el análisis estadístico de este trabajo.

A mi familia por su amor incondicional...

A **Ime**, te quiero hermana.

A **Janeth** y **Abi**, mis amigas de toda una vida, gracias por su amistad y por estar siempre cuando las necesito.

A mis amigos que encontré en el colegio: **Mario, Vic, Adri, Ere, Marino, Bruno.**

A mis amigos que conocí en ECOSUR: **Rafi, Rutver, Brissa, Lupita, Fer, Toñito, Álvaro, Noé.**

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron con la realización de este trabajo.

Al pueblo de México...

¡¡Muchas gracias!!

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Literatura Citada.....	8
CAPÍTULO I. COMPUESTOS VOLÁTILES DE FRUTOS INMADUROS DE DIFERENTES CULTIVARES DE AGUACATE (<i>Persea americana</i> MILL.).....	13
1.1. RESUMEN.....	13
1.2. INTRODUCCIÓN.....	13
1.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
1.3.1. Material vegetal.....	14
1.3.2. Colecta de volátiles por aireación dinámica.....	15
1.3.3. Perfil químico.....	15
1.4. ANÁLISIS DE DATOS.....	16
1.5. RESULTADOS.....	16
1.6. DISCUSIÓN.....	19
1.7. LITERATURA CITADA.....	22
CAPÍTULO II. RESPUESTA ELECTROFISIOLÓGICA Y COMPORTAMENTAL DE <i>Conotrachelus perseae</i> BARBER (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A COMPUESTOS VOLÁTILES EMITIDOS POR SU HOSPEDERO.....	26
2.1. RESUMEN.....	26
2.2. INTRODUCCIÓN.....	26
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
2.3.1. Cría de <i>C. perseae</i>	28
2.3.2. Material vegetal.....	28
2.3.3. Respuesta comportamental de <i>C. perseae</i> a frutos de aguacate.....	29
2.3.4. Respuesta electrofisiológica (EAG) de <i>C. perseae</i> a compuestos volátiles de frutos de aguacate.....	30
2.3.5. Respuesta comportamental de <i>C. perseae</i> a compuestos sintéticos de frutos de aguacate.....	31

2.3.6. Respuesta de <i>C. perseae</i> a compuestos sintéticos en semicampo	31
2.4. ANÁLISIS DE DATOS	32
2.5. RESULTADOS	32
2.5.1. Respuesta comportamental de <i>C. perseae</i> a diferentes cultivares de frutos de aguacate	32
2.5.2. Respuesta electrofisiológica (EAG) de <i>C. perseae</i> a compuestos volátiles de frutos de aguacate	33
2.5.3. Respuesta comportamental a compuestos sintéticos de frutos de aguacate	37
2.5.4. Respuesta de <i>C. perseae</i> a compuestos sintéticos en semicampo	39
2.6. DISCUSIÓN	40
2.7. LITERATURA CITADA	42
CONCLUSIONES GENERALES	48

LISTA DE CUADROS

CAPÍTULO 1

Cuadro 1.1. Abundancia relativa media (\pm error estándar) de compuestos volátiles identificados en frutos de tres cultivares de aguacate.	17
---	----

CAPÍTULO 2

Cuadro 2.1. Respuesta comportamental de ambos sexos de <i>C. perseae</i> a frutos de aguacate en un olfatómetro tipo “Y”	33
---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.1.** Distribución de compuestos volátiles de frutos de aguacate cv. Mexicano, Fuerte y Hass, en un análisis Random Forest. Cada punto representa los compuestos de un extracto o repetición de cada cultivo de aguacate..... 18
- Figura 1.2.** Disminución media de precisión (A) y disminución media de Gini (B) en un modelo Random Forest. Los números corresponden a los compuestos (C) identificados en frutos de tres cultivares de aguacate (Cuadro 1.1)..... 19

CAPÍTULO 2

- Figura 2.1.** Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos de *C. perseae* a compuestos sintéticos y extractos de frutos de aguacate. T1: β -cariofileno, T2: estragol, T3: linalool, T4: ocimeno, T5: α -pineno, T6: limoneno, T7: β -pineno, T8: α -copaeno, T9: extracto de frutos de aguacate Hass, T10: extracto de frutos de aguacate Mexicano, T11: extracto de frutos de aguacate Fuerte, T12: eugenol..... 34
- Figura 2.2.** Respuesta electrofisiológica (EAG) de hembras de *C. perseae* a compuestos sintéticos y extractos de frutos de aguacate. T1: β -cariofileno, T2: estragol, T3: linalool, T4: ocimeno, T5: α -pineno, T6: limoneno, T7: β -pineno, T8: α -copaeno, T9: extracto de frutos de aguacate Hass, T10: extracto de frutos de aguacate Mexicano, T11: extracto de frutos de aguacate Fuerte, T12: eugenol..... 35
- Figura 2.3.** Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos de *C. perseae* a diferentes concentraciones de compuestos sintéticos identificados en frutos de aguacate. L1: linalool (0.5 μ l), L2: linalool (1 μ l), L3: linalool (5 μ l), L4: linalool (10 μ l); E1: estragol (0.5 μ l), E2: estragol (1 μ l), E3: estragol (5 μ l), E4: estragol (10 μ l); BP1: β -pineno (0.5 μ l), BP2: β -pineno (1 μ l), BP3: β -pineno (5 μ l), BP4: β -pineno (10 μ l)..... 36
- Figura 2.4.** Respuesta electrofisiológica (EAG) de hembras de *C. perseae* a diferentes concentraciones de compuestos sintéticos identificados en frutos de aguacate. L1: linalool (0.5 μ l), L2: linalool (1 μ l), L3: linalool (5 μ l), L4: linalool (10 μ l); E1: estragol (0.5 μ l), E2: estragol (1 μ l), E3: estragol (5 μ l), E4: estragol (10 μ l); BP1: β -pineno (0.5 μ l), BP2: β -pineno (1 μ l), BP3: β -pineno (5 μ l), BP4: β -pineno (10 μ l)..... 36
- Figura 2.5.** Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos (M) y hembras (H) de *C. perseae* a diferentes concentraciones de linalool (L). L1: 0.5 μ l, L2: 1 μ l, L3: 5 μ l, L4: 10 μ l. 37
- Figura 2.6.** Respuesta comportamental de *C. perseae* machos (a) y hembras (b), a compuestos sintéticos identificados de volátiles de frutos de aguacate. DCM: diclorometano. ns: no significativo, * (P < 0.05), ** (P < 0.01), *** (P < 0.001).

Los datos se analizaron mediante prueba de G con corrección de Williams por tamaño de muestra. 38

Figura 2.7. Respuesta de *C. perseae* a compuestos volátiles sintéticos en jaulas en invernadero. *B-pineno, linalool, estragol, ocimeno (1:1:1:1). Tratamientos con la misma letra, no fueron significativamente diferentes entre sí ($P>0.05$). 39

INTRODUCCIÓN GENERAL

El género *Persea* pertenece a la familia Lauraceae y comprende alrededor de 81 especies identificadas. Este género se divide en dos subgéneros: *Eriodaphne* y *Persea*. En el subgénero *Eriodaphne* se ubica la mayoría de las especies reconocidas, y se caracterizan por producir frutos pequeños o diminutos que carecen de mesocarpio (pulpa) comestible, y en su mayoría son resistentes a la enfermedad de pudrición de la raíz o tristeza del aguacatero causada por *Phytophthora cinnamomi*. Sin embargo, estas especies son incompatibles con las variedades comerciales, pues no se ha tenido éxito en los intentos por injertar o hibridar *P. americana* con estas especies (Kopp, 1966; Berg y Ellstrand, 1986; Storey *et al.*, 1986). Por otra parte, en el subgénero *Persea* se reconocen tres especies principales: *P. parvifolia* Williams, *P. schiedeana* Nees, esta última conocida como “pagua” o “chinini” y el aguacate comercial *Persea americana* Mill (Kopp, 1966).

La mayoría de las especies del género *Persea* son nativas del continente americano (Kopp, 1966); su distribución va desde el norte de México a través del sureste de Estados Unidos, al oriente a través de las Indias Occidentales y al sur a través de Centroamérica, Colombia, Venezuela, Guyana, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile (Storey *et al.*, 1986).

La evidencia taxonómica sugiere que el aguacate cultivado se originó en el centro sur de México; es decir, nuestro país es el centro genético primario de *P. americana* (Storey *et al.*, 1986). *P. americana* se distribuye desde las zonas montañosas de México, hasta las tierras bajas de Centroamérica (Guatemala y Costa Rica) (Popenoe y Williams, 1947; Ben Ya'acov *et al.*, 2003; Knight, 2002). Esta especie es polimórfica y comprende varios taxones considerados variedades o subespecies botánicas a los que se les denominó razas “hortícolas” (Scora *et al.*, 1992). Además, considerando su centro de origen, actualmente se reconocen tres razas: mexicana (*P. americana* var. *drymifolia*), guatemalteca (*P. americana* var. *guatemalensis* Williams) y antillana (*P. americana* var. *americana* Mill.) (Popenoe, 1934; Storey *et al.*, 1986; Chen *et al.*, 2009).

El aguacate mexicano (*P. americana* var. *drymifolia*) se caracteriza por tener un epicarpio delgado que lo hace frágil para el traslado o manipulación de frutos, la semilla es grande, el contenido de aceite es del 33 %, más alto que las otras razas, y en general, los frutos son más pequeños al tamaño comercialmente deseable; sin embargo, se ha utilizado ampliamente para

hibridación y portainjertos de nuevos cultivares. De tal modo, que se ha señalado que *P. americana* var. *drymifolia* es la raza primordial del aguacate comercial, pues los genes de la raza mexicana son componentes fundamentales de los cultivares híbridos mexicano-guatemaltecos, tales como Fuerte y Hass. Las características que se tomaron de la raza mexicana fue su resistencia al frío y la temporada de cosecha avanzada (Bergh y Ellstrand, 1986); además, se ha mencionado que los portainjertos mexicanos tienen mayor producción y se desarrollan mejor en climas fríos, en comparación con los guatemaltecos y antillanos. Por otro lado, Ayala y Ledesma (2014) mencionan que los portainjertos mexicanos son menos tolerantes a suelos salinos.

Los frutos de la raza guatemalteca se distinguen por tener el epicarpio más grueso y la semilla es más pequeña, en comparación con las otras dos razas. Los aguacates guatemaltecos tienen un tiempo de madurez más largo, por lo que la temporada de cosecha es más tardía; además, la raza guatemalteca es menos tolerante al frío que la raza mexicana (Bergh y Ellstrand, 1986).

La raza antillana se adapta a las regiones tropicales y no resiste las bajas temperaturas (Galindo-Tovar, 2008). Los frutos son grandes, de sabor generalmente dulce, el contenido de aceite es bajo (10 %), el lapso de flor a fruto es corto, el periodo entre floración y recolección varía de 5 a 8 meses; además, se caracterizan por ser resistentes a suelos salinos (Barrientos-Priego y López-López, 1998).

En general, las tres razas poseen características particulares que las diferencian como son: el tamaño y forma del fruto, textura y color del epicarpio, tamaño de la semilla, entre otras (Lahav y Lavi, 2002). Se ha señalado que los aguacates guatemaltecos tienen mejor calidad hortícola, pero la hibridación con las otras variedades le proporcionan ventajas importantes. Por ejemplo, ya se dijo que tienen la temporada de cosecha más larga, mientras que los aguacates mexicanos y antillanos maduran más rápido; por otra parte, los genes de la raza antillana les confieren buena adaptación a climas tropicales, mientras que, la raza mexicana proporciona mayor tolerancia a heladas. De tal modo que con la hibridación de aguacates guatemaltecos con mexicanos y antillanos se adoptan estas características (Bergh, 1992).

Actualmente en las plantaciones modernas de aguacate se emplean nuevos cultivares obtenidos por hibridación de diversos materiales colectados en México y Centroamérica (Knight, 2002; Lahav y Lavi, 2002; Galindo-Tovar *et al.*, 2008). Estos cultivares han sido producto de estudios sobre métodos de propagación y mejora varietal de este cultivo realizados principalmente en

California (E.U.), Israel y Sudáfrica (Mijares y López, 1998). Los cultivares de aguacate se seleccionan considerando características particulares deseables para el árbol y fruto. El método de propagación generalmente usado es el injerto para producir arboles genéticamente idénticos, debido a que tienen características similares en tamaño y forma (Wolfe *et al.*, 1949; Campbell y Malo, 1976; Knight, 2002). Respecto a nuestro país, en la década de 1980, se creó el Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate en el Estado de México (CICTAMEX), con el objeto de realizar actividades de mejoramiento genético de esta especie; dicha institución más tarde cambiaría de nombre a Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX, S.C. (Mijares y López, 1998).

Para 1958, en México, el estado de Michoacán contaba con 923 ha plantadas con aguacate cv. Mexicano, pero más tarde surgió la necesidad de tener cultivares de mejor calidad, mayor rendimiento y con características deseables comercialmente hablando; por lo que el cv. Mexicano se fue reemplazando, de tal modo que, los primeros cultivares introducidos fueron Fuerte, Bacon y Zutano (Mijares y López, 1998).

El cv. Fuerte es un híbrido mexicano-guatemalteco, con predominancia de la raza mexicana, de ahí que se caracteriza por resistir temperaturas frías. El fruto es ovalado, con el exocarpio (piel o cascara) delgado y se mantiene verde cuando el fruto se madura; la semilla es medianamente grande y la pulpa es color amarillo-claro. Este cultivar se propagó por primera vez en California, EUA, en 1911, a partir de yemas importadas de Atlixco Puebla y más tarde se volvió popular cuando en 1913 resistió a las bajas temperaturas de California, EUA ((Blumenfeld y Gazit, 1974).

El cv. Hass fue seleccionado en 1935 por Ruddolph Hass en California, EUA y es resultado de la hibridación de aguacate guatemalteco y mexicano. Este cultivar es el más importante en términos de área cultivada, distribución geográfica y consumo (Bost *et al.*, 2013), pues representa aproximadamente del 85-90 % de todos los aguacates cultivados a nivel mundial (Knight, 2002; Bender, 2012). Dentro de las características del cv. Hass que resaltan en su popularidad se encuentran la forma (es más ovalado que otras variedades), el exocarpio es rugoso y se torna a púrpura intenso al madurar; la piel de este cultivar es más delgada y más coriácea que las de los guatemaltecos puros y la semilla es pequeña (Obeland *et al.*, 2012; Salazar-García *et al.*, 2016).

En México, los primeros viveros comerciales con Hass se establecieron en 1963 con varetas certificadas importadas de Santa Paula, California, EUA y para 1964, se establecieron los primeros huertos comerciales en Michoacán. La superficie cultivada con Hass rápidamente se expandió y con el tiempo reemplazó a los cultivares Fuerte y Mexicano (Zamora-Hernández, 1997). De acuerdo con datos del SIAP (2020), actualmente se tiene una superficie plantada de 233,169 ha con aguacate Hass, 1,231 ha con Fuerte, y 6,722 ha con cultivar Mexicano.

El cultivo de aguacate se ha expandido en todo el mundo, siendo México líder en superficie cultivada, producción y consumo (Galindo y Tovar, 2007). Los principales estados productores son Michoacán, Jalisco, Estado de México, Nayarit y Morelos, concentrándose la mayor producción en el estado de Michoacán con 169,939.45 ha cultivadas. La superficie cultivada de aguacate para el año 2020 fue de 241,136.11 ha, con un valor de la producción de \$49,367,607,000 (SIAP, 2020).

México es el principal exportador de aguacate Hass a nivel mundial. En los últimos años, la demanda del fruto ha ido en aumento, de modo que, las exportaciones han tenido una tasa de crecimiento acelerado del 12 %. Desde la apertura de mercado estadounidense en 1997, este país se convirtió en el principal mercado de exportación para México (77 %), seguido por Canadá (7 %) y Japón (6 %) (Torres, 2009). En este contexto, se ha documentado que, en 2017, México participó con 44 % del volumen de las exportaciones a nivel mundial (SADER, 2019).

Una restricción a las exportaciones de aguacate mexicano es su estatus fitosanitario; donde se tiene especial interés en los barrenadores de la semilla, los cuales son considerados plagas de importancia cuarentenaria. Debido a que su presencia representa una limitante para la producción y comercialización nacional e internacional del fruto por las restricciones fitosanitarias que imponen los países importadores de aguacate (Teliz y Marroquín, 2007).

En este contexto, las principales plagas que causan restricciones en materia de fitosanidad para la importación de aguacate mexicano, principalmente por los EUA, son los barrenadores de la semilla *Conotrachelus perseae* (Barber), *C. aguacatae* (Barber) y *Heilipus lauri* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), el barrenador de ramas, *Copturus aguacatae* Kissinger, 1957 (Coleoptera: Curculionidae) y la palomilla de la semilla, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Depressariidae) (Equihua *et al.*, 2007).

El barrenador pequeño de la semilla, *C. perseae*, es una plaga reglamentada en México, ya que su presencia en huertos comerciales de aguacate representa un riesgo para la exportación de este cultivo, debido a que el principal daño que causa este picudo es en los frutos. En estado de larva penetra la pulpa y barrena completamente la semilla, lo que provoca la caída prematura del fruto. Actualmente, su estatus fitosanitario en México es: presente en algunas áreas y bajo control oficial (SENASICA-DGSV, 2016).

Considerando que la presencia de estos insectos en nuestro país son una limitante para la producción y comercialización nacional e internacional de aguacate por las restricciones fitosanitarias que imponen los países importadores, se creó la Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-1995, con su actualización NOM-066-FITO-2002, denominada “Especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate” (SAGARPA, 2005), en la cual, se declaran zonas libres de barrenadores de la semilla y zonas bajo control fitosanitario; en estas últimas se requiere aplicar medidas fitosanitarias como el uso de una lista reducida de insecticidas sintéticos autorizados y la implementación principalmente de medidas culturales, como la eliminación de fruta infestada.

En ocasiones, para eliminar o controlar a una plaga se requiere de la aplicación de un insecticida que no siempre es posible o aceptable; no obstante, se ha señalado que una alternativa para el manejo eficiente de insectos plaga es con el uso de semioquímicos. Los semioquímicos son sustancias que median la comunicación química de los organismos (Nordlund y Lewis, 1976). Estos compuestos se caracterizan por tener potencial en el manejo integrado de plagas, debido a que se trata de moléculas sintéticas de origen natural, que generalmente se usan en cantidades pequeñas y comúnmente son específicas de cada especie, por lo que se considera que no son tóxicas para vertebrados e insectos benéficos (Smart *et al.*, 2014). Uno de los semioquímicos más usados son las feromonas (Witzgal *et al.*, 2010). En programas de manejo integrado de plagas se ha recurrido al uso de feromonas en trampas para la detección, monitoreo, así como para estudios de distribución estacional y espacial de plagas. Los datos de distribución pueden ser empleados para delimitar las áreas de menor densidad y la expansión de la población plaga. Además, el uso de estos compuestos químicos puede proporcionar una herramienta para el monitoreo de poblaciones en áreas donde el insecto plaga es endémico (Hoddle *et al.*, 2009).

La comunicación química es fundamental en los insectos y el sentido del olfato es esencial para localizar alimento, evitar depredadores, encontrar sitios de apareamiento y oviposición, o bien para la detección de parejas potenciales (Suwannapong y Benbow, 2011; Rojas y Malo, 2012). De tal modo que, para la selección del hospedero, los insectos fitófagos poseen receptores sensoriales que los orientan a una serie de estímulos asociados con las plantas hospederas, como son características visuales, gustativas, mecánicas y olfativas (Visser, 1986).

Las plantas liberan una gran cantidad de compuestos volátiles que son transportados por el viento, los cuales son percibidos por los receptores olfativos de los insectos fitófagos, que luego compilan un olor que actuará como un mensaje químico. La mayoría de los receptores olfativos se encuentran en las antenas. La función principal de los sistemas sensoriales de los insectos consiste en la capacidad que tienen para la discriminación de una gama limitada de estímulos del entorno; de modo que, no todos los volátiles de las plantas son detectados por un insecto en particular, sino sólo aquellos componentes que transmiten información esencial sobre las plantas a las que la especie de insecto se adaptó en la evolución (Visser, 1983).

Los compuestos volátiles del hospedero actúan como atrayentes en sinergia con las feromonas de agregación en diferentes especies de insectos fitófagos (Landolt y Phillips, 1997; Collatz y Dorn, 2013; Wibe *et al.*, 2014; Ruiz-Montiel *et al.*, 2017); como en el picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* Germar (Tinzaara *et al.*, 2007), el picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Ruiz-Montiel *et al.*, 2017), el picudo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922 (Silva-Filho *et al.*, 2012), o como en el caso del picudo de la ciruela *Conotrachelus nenuphar* Herbst, donde el benzaldehído ha tenido buenos resultados solo o en combinación con la feromona de agregación (Prokopy y Leskey, 1997; Leskey *et al.*, 2001; Pinero y Prokopy, 2003; Leskey *et al.*, 2005; Leskey *et al.*, 2008; Hock *et al.*, 2017).

Actualmente, se han establecido diversos programas para detección y monitoreo de insectos plaga con semioquímicos. En Lepidoptera, los principales semioquímicos utilizados en los programas de control de plagas son las feromonas sexuales (Hoddle *et al.*, 2009). Por otra parte, en los picudos, las feromonas de agregación junto con tejido fresco de la planta hospedera o compuestos sintéticos volátiles de éstas, se han utilizado para sistemas de trapeo de estos insectos (Van Tol *et al.*, 2012; Collatz y Dorn, 2013; Azuara *et al.*, 2014; Wibe *et al.*, 2014; Ruiz-Montiel *et al.*, 2017). Soroker *et al.* (2005) detectaron que, en Israel, las infestaciones de *Rhynchophorus*

ferrugineus (Oliver) fueron controladas por un programa de captura masiva, que consistía de 5,000 trampas con cebo (feromona y atrayente alimenticio) con 10 trampas por hectárea, que cubrían 450 ha de palmeras. Después de 2002, no se informaron nuevas infestaciones por esta plaga. Así mismo, en Costa Rica se estableció este método para el control de *Rhynchophorus palmarum* (L.), una plaga de importancia en diferentes especies de palmeras en América, ya que es vector del nematodo *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb), que transmite la enfermedad del anillo rojo; con este método, se redujo la incidencia de la enfermedad (Oehlschlager *et al.*, 2002). Asimismo, para el manejo de *C. nenuphar* se ha implementado la estrategia de árbol trampa, con el uso de benzaldehído como atrayente, a una tasa de liberación de 228 mg/día/árbol (Leskey *et al.*, 2014).

Considerando que el manejo de curculiónidos con semioquímicos ha tenido resultados positivos, el empleo de esta estrategia como parte de un programa de manejo integrado de *C. perseae* podría ser exitoso. El hecho de ser una plaga estacionaria con periodos de vuelo cortos, con una o dos generaciones al año (Coria, 1999), además de que es un insecto específico del cultivo de aguacate de alto valor comercial, son factores positivos para considerar esta estrategia de control. Debido a la rentabilidad del aguacate y que su principal mercado es el de exportación, lo ideal sería el establecimiento de métodos de control de plagas donde el uso de insecticidas fuera escaso o nulo, para evitar problemas de restricciones comerciales por residuos de plaguicidas.

En este sentido, el uso de trampas con atrayentes podría ser de gran ayuda para la detección oportuna de *C. perseae* en el reconocimiento de zonas libres de esta plaga; sin embargo, es poco el trabajo que se ha realizado sobre la comunicación química de este picudo, por lo que es necesario realizar más estudios sobre las respuestas conductuales a estímulos olfativos para conocer los semioquímicos implicados en las interacciones insecto-planta.

Con base en lo anterior, considerando que la presencia de *C. perseae* en nuestro país es una limitante para la producción y comercialización nacional e internacional de aguacate, se propuso esta investigación, con el objetivo de conocer la respuesta de *C. perseae* a compuestos químicos involucrados en la ecología química de esta especie y su hospedero, como pauta inicial para la implementación de semioquímicos en el manejo racional del barrenador pequeño de la semilla del aguacate.

Literatura Citada

- Ayala, S.T., Ledesma, N., 2014. Avocado History, Biodiversity and Production. In: Sustainable Development and Biodiversity, Vol. 2, (eds) Dilip Nandwani, Agricultural and Environmental Sciences, Nashville Tennessee USA, 385 p.
- Azuara, D.A., Terán, V.A.P., Soto, S.A., Aguilar, P.N.Y., Martínez, B.L., 2014. Evaluación del tipo de trampa, atrayente alimenticio y feromona de agregación en el trampeo del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal en Tamaulipas, México. *Entomotropica* 29: 1-8.
- Barrientos-Priego, A., López-López, L., 1998. Memorias Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, Coatepec Harinas. México. Pp: 33-51.
- Bender, G.S., 2012. Avocado production in California. A cultural handbook for growers, 2nd edn. Univ Calif Exp Program, Ch. 2 pp: 1–32.
- Ben-Ya'acov, A., Solis-Molina, A., Bufler, G., 2003. The mountain avocado of Costa-Rica. *Persea americana* var. *Costaricensis*, a new sub-species. In: Proceedings V world avocado congress 27–33, Consejería de Agricultura y Pesca. Malaga, España, pp: 19–24.
- Bergh, B., Ellstrand, N., 1986. Taxonomy of the avocado. *California Avocado Society Yearbook* 70:135–145.
- Bergh, B., 1992. The Origin, Nature, and Genetic Improvement of the Avocado. *California Avocado Society Yearbook* 76: 61-75.
- Blumenfeld, A., Gazit S., 1974. Development of seeded and seedless avocado fruits. *Journal American Society for Horticultural Science* 99: 442-448.
- Bost, J.B., Smith, N.J.H., Crane, J.H., 2013. History, distribution and uses. *The avocado: botany, production and uses*. Wallingford, CABI Publishing, 416p.
- Campbell, C.W., Malo, S.E., 1976. A survey of avocado cultivars. In: Sauls JW, Phillips RL, Jackson LK (eds) *The avocado*. Proc. 1st Sub-Tropical Fruit Short Course, Univ Florida Coop Ext Serv, pp: 20–24.
- Chen, H., Morrell, P.L., De la Cruz, M., Clegg, M.T., 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *Journal of Heredity* 100:56–65.
- Collatz, S., Dorn, S., 2013. A host-plant derived volatile blend to attract the apple blossom weevil *Anthonomus pomorum* – the essential volatiles include a repellent constituent. *Pest Management Science* 69: 1092-1098.
- Coria, A.V.M., 1999. Ciclo de vida, fluctuación poblacional y control del barrenador de la semilla del aguacate (*Conotrachelus perseae* Barber, *C. aguacatae* B.) (Coleoptera: Curculionidae) en Ziracuaretiro, Michoacán, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 313-318.
- Equihua, M.A., Gasca, C.L., Salinas, C.A., 2007. Plagas del aguacate (barrenadores). In: Téliz O. D. y A. Mora A. (eds). *El Aguacate y su Manejo Integrado*, 2da edición, pp.136-146.

- Galindo-Tovar, M.E., Ogata-Aguilar, N., Arzate-Fernández, A.M., 2008. Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 441–450.
- Hock, V., Chouinard, G., Lucas, E., Cormier, D., Leskey, T., Zhang, A., 2017. Olfactometer responses of plum curculio *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae) to host plant volatiles, synthetic grandisoic acid, and live conspecifics. *Journal of Insect Behavior* 30: 475–494.
- Hodde, M.S., Millar, J.G., Hodde, G.D., Zou, Y., McElfresh, J.S., 2009. Synthesis and field evaluation of the sex pheromone of *Stenoma catenifer* (Lepidoptera: Elachistidae). *Journal of Economic Entomology* 102: 1460-1467.
- Knight, Jr R.J., 2002. History, distribution and uses. In: Whiley AW, Schaffer B, Wolstenholme BN (eds) *The Avocado: Botany, Production and Uses*. CAB International, Wallingford, pp: 1–14.
- Kopp, L.E., 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western hemisphere (Persea-Lauraceae). New York, New York, United States: The New York Botanical Garden (eds). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 14:1–117.
- Lahav, E., Lavi, U., 2002. Genetics and classical breeding. In Wiley A., Schaffer, B., Wolstenholme, B. (eds). *The Avocado: Botany, Production, and Uses*. CABI, New York, pp 39–69.
- Landolt, P.J., Phillips, T.W., 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 42:371–391.
- Leskey, T.C., Prokopy, R.J., 2001. Adult plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) attraction to fruit and conspecific odors. *Annals of the Entomological Society of America* 94:275–288.
- Leskey, T.C., Zhang, A., Herzog, M., 2005. Nonfruiting host tree volatile blends: novel attractants for the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 34: 785–793.
- Leskey, T.C., Pinero, J.C., Wood, S., Prokopy, R.J., 2008. Odor baited trap trees: a potential management tool for the plum curculio. *Journal of Economic Entomology* 101:1302–1309.
- Leskey, T.C., Wright, S.E., Hock, V., Chouinard, G., Cormier, D., Leahy, K., Cooley, D., Tuttle, A., Eaton, A., Zhang, A., 2014. Evaluating electrophysiological and behavioral responses to volatiles for improvement of odor-baited trap-tree management of *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 43:753–761.
- Mijares, O.P., López, L.L., 1998. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México.
- Nordlund, D.A., Lewis, W.J., 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology* 2: 211–220.

- Obenland, D., Collin S., Sievert J., Negm F., Arpaia M.L., 2012. Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in “Hass” avocado. *Postharvest Biology and Technology* 71:41-50.
- Oehlschlager, A.C., Chinchilla, C., Castillo, G., González, L., 2002. Control of red ring disease by mass trapping of *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 85: 507-513.
- Pinero, J., Prokopy, R.J., 2003. Field evaluation of plant odor and pheromonal combinations for attracting plum curculios. *Journal of Chemical Ecology* 29: 2735–2748.
- Popenoe, W., Williams, L.O., 1947. The expedition to Mexico of October 1947. *California Avocado Society Yearbook 1947*: 22–28.
- Popenoe, W., 1934. Early history of the avocado. *California Avocado Society Yearbook 1934*: 106–110.
- Prokopy, R.J., Leskey, T.C., 1997. Do natural sources of odor enhance plum curculio attraction to traps? *Fruit Notes* 62:9–12.
- Rojas, J.C., Malo, E.A., (Eds), 2012. *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. El Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p.
- Ruiz-Montiel, C., Ramón-Domínguez, C.L., Domínguez-Reyes, L., Ainsa-Zarate, R., Mendoza-López, M.R., 2017. Efecto de la trampa y atrayente sobre *Scyphophorus acupunctatus* en agave. *Southwestern Entomologist* 42: 237-247.
- Salazar-García, S., Medina-Carrillo R.E., Álvarez-Bravo A. 2016. Evaluación inicial de algunos aspectos de calidad del fruto de aguacate ‘Hass’ producido en tres regiones de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 7:277-289.
- Scora R.W., Bergh B.O. 1992. Origin of and Taxonomic relationships within the genus *Persea*. In: *Proceedings of the Second World Avocado Congress*, April 21-26. Orange California, University of California/California Avocado Society, Riverside. p. 505-514.
- SADER. 2019. Reporte del mercado de aguacate. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). 17p. Consultado: 13/04/2021.
- SAGARPA. 2005. Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-2002, Especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate. Secretaria de Agricultura, Ganadería. Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Diario Oficial. Consultado en junio de 2021 en <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/546737/NOM-066-FITO-2002.18may05.pdf>
- SENASICA-DGSV. 2016. Barrenador pequeño del hueso del aguacate *Conotrachelus aguacatae* (Barber) y *Conotrachelus perseae* (Barber) (Coleoptera: Curculionidae). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV)– Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria – Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha técnica. Tecámac, México. 11 p.

- SIAP. 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Consultado en marzo de 2021 en <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>.
- Silva-Filho, G., Bailez, O., Viana-Bailez, A.M., 2012. Olfactory responses of *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae) to hosts and conspecific odors. *Revista Colombiana de Entomología* 38: 196-199.
- Smart., L.E, Aradottir, G.I., Bruce, T.J.A., 2014. Chapter 6 - Role of semiochemicals in integrated pest management. *Integrated pest management* 93-109.
- Soroker V., Blumberg D., Haberman A., Hamburger M., Rishard S., Reneh S., Talebaev L., Anshelevich L., Harari A.R., 2005. Current status of red palm weevil infestation in date palm plantations in Israel. *Phytoparasitica* 33: 97-106.
- Storey, W.B., Bergh, B.O., Zentmyer, G.A., 1986. The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Yearbook* 70:127–133.
- Suwannapong, G., Benbow, M.E., 2011. The biology of insect odors: sources and olfaction. In: Logan, E., W., Atwood, J.M., *The Biology of Odors*, chapter V. Nova Science Publishers, Inc., pp:153-184.
- Tinzaara, W., Gold, C.S., Dicke, M., Huis, A.V., Ragama, P.E., 2007. Host plant odors enhance the responses of adult banana weevil to the synthetic aggregation pheromone cosmolure⁺. *International Journal of Pest Management* 53: 127–137.
- Torres, P.V.H., 2009. La competitividad del aguacate mexicano en el mercado estadounidense. *Revista de Geografía Agrícola* 43: 61-79.
- Van Tol, R.W.H.M., Bruck, D.J., Griepink, F.C., De Kogel, W.J., 2012. Field attraction of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to kairomones. *Journal of Economic Entomology* 105: 169-175.
- Visser, J.H., 1983. Differential sensory perceptions of plant compounds by insects. In: *Plant Resistance to Insects*, ed. P.A. Hedin, ACS Symp 208: 215-230.
- Visser, J.H., 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 31:121-44.
- Wibe, A., Borg-Karlson, A.K., Cross, J., Bichão, H., Fountain, M., Liblikas I., Sigsgaard, L., 2014. Combining 1,4-dimethoxybenzene, the major flower volatile of wild strawberry *Fragaria vesca*, with the aggregation pheromone of the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi* improves attraction. *Crop Protection* 64: 122-128.
- Witzgall, P, Kirsch, P, Cork, A., 2010. Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology* 36: 80-100.
- Wolfe, H.S., Toy, L.R., Stahl, A.L., Ruehle, G.D., 1949. Avocado production in Florida. *Bulletin* 141. Agricultural Ext Service, Gainesville, p 124.

Zamora-Hernández, A., 1997. Fitosanidad en la producción de planta de vivero. Memorias del VI curso de aprobación fitosanitaria en el manejo del aguacate. Facultad de Agro biología "Presidente Juárez" Uruapan, Michoacán México.

CAPÍTULO I. COMPUESTOS VOLÁTILES DE FRUTOS INMADUROS DE DIFERENTES CULTIVARES DE AGUACATE (*Persea americana* MILL.)

1.1. RESUMEN

El aguacate es una de las frutas más demandadas a nivel mundial. En algunos estudios se describe la composición de los volátiles de hojas, flores y frutos de aguacate. Sin embargo, aún no se tiene información sobre los volátiles emitidos por los frutos inmaduros de aguacate. Esta información puede ser relevante para estudios sobre la ecología química de insectos fitófagos que atacan a frutos del aguacate, incluidas las principales plagas de este cultivo. En frutos de aguacate en desarrollo de los cultivares Mexicano, Fuerte y Hass se identificó un total de 31 compuestos mediante cromatografía de gases (CG) acoplado a espectrometría de masas (SM). De estos compuestos, el α -copaeno, β -copaeno y cariofileno fueron los más abundantes y se registraron en los extractos de los tres cultivares de aguacate. El estragol, que tiene un aroma característico a anís, fue el compuesto más abundante en el cultivar Mexicano (62.61 %), mientras que en Fuerte se encontró en trazas y en Hass no se detectó. En cuanto a la diversidad de compuestos, el perfil volátil del cultivar Mexicano fue diferente al de Fuerte y Hass.

Palabras clave: *Persea americana*, cultivar, cromatografía de gases, compuesto químico.

1.2. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) se cultiva desde climas tropicales y subtropicales hasta el templado, y es uno de los frutales de mayor importancia en el mundo (Bost *et al.*, 2013). Es una especie polimórfica y entre sus diferencias se encuentran el tamaño del fruto y de la semilla, sabor y contenido de aceite, grosor de la epicutícula, color y textura, tiempo de floración y madurez, además de la tolerancia a diferentes temperaturas (Bergh, 1992; Galindo-Tovar *et al.*, 2008).

De acuerdo a sus características morfológicas, ecológicas y moleculares, las variedades se clasifican en grupos y según su centro de origen se asignaron las siguientes razas: mexicana (*P. americana* var. *drymifolia*), guatemalteca (*P. americana* var. *guatemalensis*) y antillana (*P. americana* var. *americana*) (Berg y Ellstrand, 1986; Storey *et al.*, 1986; Boza *et al.*, 2018; Juma *et al.*, 2021). La raza mexicana es conocida por su resistencia a las bajas temperaturas y su alto contenido de aceite. Los frutos tienen un epicarpio delgado, liso y suave; y generalmente se

comercializan y consumen localmente. Esta variedad, junto con la raza guatemalteca, son los precursores de los cultivares Fuerte y Hass (Berg y Ellstrand, 1986; Berg, 1992). Las variedades y porta injertos que se utilizan actualmente en el cultivo de aguacate son resultado de los programas de mejoramiento genético, en donde se seleccionan características particulares deseables de los frutos (Mijares y López, 1998; Ayala y Ledesma, 2014). Actualmente el cv. Hass representa más del 85 % de la producción comercial mundial (Knight, 2002; Bender, 2012). Se distingue por su pulpa cremosa, excelente sabor y su alto contenido de aceite (23.7 %); el epicardio es rugoso y se torna a un color oscuro cuando madura (Obeland *et al.*, 2012; Salazar-García *et al.*, 2016; Heano-Rojas *et al.*, 2019). Por otra parte, el cv. Fuerte también tiene una alta demanda, aunque en menor proporción que Hass. Los frutos son piriformes, el epicarpio es liso y verde cuando madura; tiene alto contenido de aceite (18 %) y también presenta sabor agradable (Blumenfeld y Gazit, 1974). En México, la superficie plantada está cubierta en su mayoría por el cv. Hass, en tanto que Fuerte domina en Israel y Sudáfrica (Barrientos-Priego *et al.*, 2007). Los estudios sobre comparaciones morfológicas y genéticas del aguacate han separado y resaltado la similitudes y diferencias entre diferentes cultivares e híbridos de este cultivo (Alcaraz *et al.*, 2007; Abraham, 2018; Boza *et al.*, 2018). En este sentido, los compuestos volátiles de las plantas tienen un papel fundamental, ya que pueden facilitar la diferenciación entre cultivares. Se han realizado estudios sobre los volátiles presentes en hojas, flores y frutos de diferentes cultivares de aguacate (King y Knight, 1987, 1992; Sagrero-Nieves y Bartley, 1995; Pino *et al.*, 2000, 2004, 2006; El-Mageed, 2007; Liu *et al.*, 2020); sin embargo, no se tiene información específica sobre la composición química de los frutos inmaduros, la cual, también puede ser relevante para utilizarse en estudios de ecología química en el manejo de los barrenadores de la semilla que atacan a este cultivo, debido a que estos volátiles pueden ser atractivos para la localización de huésped de estos insectos. Por tal motivo, se identificó y comparó la composición química volátil de frutos en desarrollo de tres de los cultivares de aguacate más representativos en la industria de este cultivo: Mexicano, Fuerte y Hass

1.3. MATERIALES Y MÉTODOS

1.3.1. Material vegetal

Los frutos de aguacate Mexicano, Fuerte y Hass recolectados para este estudio se encontraban en fase de desarrollo (verde claro), tenían un diámetro ecuatorial de 4 a 6 cm y estaban visiblemente sanos. El aguacate Mexicano se obtuvo de árboles de traspatio de la localidad de Tequexquihuac,

Texcoco (19 ° 28'36 "N, 98 ° 49'37" O), Estado de México, y los otros dos cultivares se obtuvieron de huertos comerciales de aguacate ubicados en Meyuca de Morelos, Coatepec de Harinas (18 ° 84'74 "N, 99 ° 77'69" O), Estado de México. Las colectas de frutos se realizaron durante agosto de 2020. Los frutos recolectados se guardaron en bolsas de polietileno y se transportaron en una hielera al laboratorio, donde se realizaron los análisis químicos.

1.3.2. Colecta de volátiles por aireación dinámica

La colecta de volátiles se realizó con la técnica de aireación dinámica, de acuerdo a lo descrito por Cruz-López *et al.* (2006), con algunas modificaciones. Para el análisis se utilizaron 400 g de frutos de aguacate de cada cultivar y se colocaron por separado dentro de recipientes de vidrio para aireación (39 cm de largo x 9 cm de diámetro interno). A través de los recipientes de vidrio, se pasó una corriente de aire que se filtró con carbón activado (0.5 l/min). Los volátiles de los frutos se capturaron con el adsorbente Super Q (Sigma Scientific LLC, Micanopy, Fl) durante 24 h. Posteriormente, los volátiles fueron eluidos del adsorbente con 400 µL de diclorometano (Baker, grado HPLC, Sigma-Aldrich, Toluca, México). Los extractos se concentraron con N₂ hasta 100 µl antes del análisis químico.

1.3.3. Perfil químico

Los extractos se analizaron en un Cromatógrafo de gases (CG) (Varian Star 3400 CX), acoplado a un espectrómetro de masas (SM) (Varian Saturn 4D, CA, EE.UU.). Para ello, se empleó una columna DB5 no polar de 30 m de largo x 0.25 mm de diámetro, 0.5 µm de espesor (J. & W Science Folsom, CA, EE. UU.). La temperatura programada fue de 50°C durante 2 min, hasta 280°C a 15°C/min y así se mantuvo por 10 min. Las temperaturas del inyector y de la fuente de iones fueron de 200 y 250 °C, respectivamente. Se utilizó helio como gas portador a una velocidad de 1 ml/min. El voltaje de ionización fue de 70 eV. Los compuestos se identificaron tentativamente por comparación con los espectros de masa de la biblioteca del espectrómetro de masas NIST/EPA/NIH (versión 2.0, 2002) y con los índices de retención calculados. La identidad de los compuestos se confirmó por comparación de tiempos de retención y el espectro de masas de los estándares sintéticos. La abundancia relativa (%) de los compuestos se calculó con las áreas de los picos de los compuestos identificados.

Los estándares sintéticos que se utilizaron fueron los siguientes: cariofileno (98.5%), limoneno (90%), ocimeno (97%), β -pineno (98%), estragol (98%), nonanal (98%), β -mirceno (99%), α -pineno (98%), linalool (97%), α -copaeno (98%), *n*-undecano, *n*-dodecano, *n*-tridecano y *n*-tetradecano, obtenidos de Fluka Chemicals (Columbus, Ohio, EUA) y Sigma Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wisconsin, EUA).

1.4. ANÁLISIS DE DATOS

A las áreas de los compuestos identificados se les aplicó el método Random Forest como clasificación para ver si había diferencias entre cultivares de aguacate y para distinguir las variables que contribuyen a estas diferencias. Además, se realizó un análisis de varianza multivariado con permutaciones (PERMANOVA) para observar si había diferencias significativas entre cultivares ($p \leq 0.05$). Estos análisis se realizaron en el programa R v3.6.3 (R Core Team, 2020).

1.5. RESULTADOS

En los extractos de aguacate se identificaron un total de 31 compuestos volátiles, incluidos terpenos, hidrocarburos, fenilpropanoide (estragol) y alcoholes (Cuadro 1.1). La composición de volátiles de los extractos de frutos de aguacate Hass y Fuerte, fue cualitativamente similar difiriendo en abundancia, a excepción del linalool, ylangeno y (E) - α -bergamoteno, que se detectaron sólo en frutos Hass. En contraste, en el extracto de aguacate Mexicano, el estragol fue el compuesto más abundante con 62.61 %, mientras que en frutos Hass no fue detectado y en el extracto Fuerte se encontró solo y apareció en trazas. Además del estragol, otros compuestos que se destacaron por su abundancia en la composición química volátil de los tres cultivares fueron el α -copaeno, el β -copaeno y el cariofileno (Cuadro 1.1).

Por otro lado, según el promedio de las áreas de los picos de los compuestos, se puede ver que los extractos de aguacate Hass contenían una mayor cantidad de volátiles (promedio del área total = 139365032), seguido de Fuerte (promedio del área total = 119643155), mientras que, el aguacate Mexicano fue el que liberó menor cantidad de volátiles (área total promedio = 50908342).

De acuerdo con el análisis estadístico, no se presentaron diferencias significativas entre la composición química de volátiles de frutos de Fuerte y Hass ($F_{2,12}=0.62$, $P=0.57$), en tanto que, el

cultivar Mexicano fue estadísticamente diferente a Hass ($F_{2,12}=5.55$, $P\leq 0.01$) y Fuerte ($F_{2,12}=4.32$, $P\leq 0.01$). En la Figura 1.1, cada punto representa los compuestos de las cinco réplicas de cada cultivar. En general, los puntos correspondientes a Fuerte se acercan o superponen a los puntos de Hass, en tanto que, los que representan el aguacate mexicano están más dispersos.

Por otra parte, para estimar que compuestos influyeron en estas diferencias, se empleó la disminución media de precisión (A) y la disminución media de Gini (B), en el modelo Random forest (Figura 1.2). Los resultados fueron similares en ambos criterios y sólo cambió el orden de las variables. De acuerdo con las Figuras 1.1 y 1.2, los compuestos se sitúan en orden de relevancia del extremo superior hacia abajo, siendo los 10 primeros los que más influyeron en las diferencias señaladas entre cultivares: *n*-tetradecano, (E)- α -bergamoteno, ylangeno, α -cariofileno, estragol, eugenol, linalool, α -tujeno, α -cubebeno, γ -elemeno y biciclo [2.2.1]heptano, 2,2-dimetil-3-metileno.

Cuadro 1.1. Abundancia relativa media (\pm error estándar) de compuestos volátiles identificados en frutos de tres cultivares de aguacate.

Número	Compuesto	TR	IR	Abundancia (%)		
				Mexicano	Fuerte	Hass
1	α -Pino*	4.83	939	3.44 \pm 0.37	3.69 \pm 1.61	2.01 \pm 0.63
2	Bicyclo[2.2.1]heptano, 2,2-dimethyl-3-methylene-,	5.07	956	00	0.59 \pm 0.16	0.27 \pm 0.05
3	β -Pino*	5.45	984	2.24 \pm 0.51	1.50 \pm 0.36	0.75 \pm 0.15
4	1-Hepten-6-one, 2-methyl-	5.5	988	00	0.38 \pm 0.1	0.63 \pm 0.21
5	β -Myrceno*	5.54	991	0.18 \pm 0.04	2.11 \pm 0.13	1.70 \pm 0.4
6	α -Thujeno	5.8	1011	00	1.27 \pm 0.28	2.31 \pm 0.58
7	Limoneno*	6.1	1035	0.55 \pm 0.2	2.25 \pm 0.53	2.19 \pm 0.53
8	(Z)- β -Ocimeno*	6.14	1039	0.79 \pm 0.31	1.19 \pm 0.31	1.17 \pm 0.24
9	(E)- β -Ocimeno*	6.28	1050	0.58 \pm 0.15	2.36 \pm 0.62	2.49 \pm 0.67
10	<i>n</i> -Undecano*	6.9	1100	1.14 \pm 0.28	0.81 \pm 0.32	0.99 \pm 0.68
11	Linalool*	6.95	1104	00	00	0.61 \pm 0.13
12	Nonanal*	7	1109	3.05 \pm 0.49	2.73 \pm 0.48	10.50 \pm 2.83
13	Ácido hexanoico, butyl ester	7.95	1192	1.20 \pm 0.2	1.47 \pm 0.43	0.68 \pm 0.22
14	<i>n</i> -Dodecano*	8.04	1200	0.48 \pm 0.2	0.54 \pm 0.12	0.86 \pm 0.25
15	Estragol*	8.13	1209	62.61 \pm 4.05	0.19 \pm 0.1	00
16	<i>n</i> -Tridecano*	9.09	1300	2.40 \pm 1.37	1.02 \pm 0.3	1.44 \pm 4.58
17	α -Cubebeno	9.67	1359	00	5.60 \pm 0.76	4.12 \pm 0.67
18	Eugenol	9.89	1382	2.52 \pm 1.01	00	00
19	Ylangeno	9.93	1386	00	00	1.65 \pm 0.64
20	α -Copaeno*	9.99	1392	7.88 \pm 0.42	10.58 \pm 3.37	8.56 \pm 2.8

21	<i>n</i> -Tetradecano*	10.07	1400	1.76 ± 0.16	3.33 ± 0.17	00
22	<i>Z</i> - α -Bergamoteno	10.3	1423	0.51 ± 0.02	1.10 ± 0.1	0.74 ± 0.19
23	Cariofileno*	10.45	1441	1.31 ± 0.31	12.64 ± 1.89	9.29 ± 1.91
24	<i>E</i> - α -Bergamoteno	10.48	1445	00	00	0.67 ± 3.84
25	α -Cariofileno	10.78	1477	00	2.37 ± 0.21	1.74 ± 0.34
26	Naphthaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	10.92	1492	1.43 ± 0.16	2.0 ± 0.35	2.01 ± 0.51
27	β -Copaeno	11.01	1502	2.55 ± 1.2	16.05 ± 2.55	13.82 ± 2.82
28	γ -Elemeno	11.14	1517	00	4.0 ± 1.28	3.21 ± 0.85
29	Tricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomero	11.29	1535	0.87 ± 0.16	3.70 ± 0.38	4.41 ± 0.54
30	cis-Calameneno	11.35	1542	2.20 ± 0.3	1.25 ± 1.09	0.87 ± 1.31
31	Farneseno	11.67	1579	0.21 ± 0.06	15.14 ± 3.79	20.16 ± 4.99

TR= Tiempo de retención, IR=Índice de retención calculado, *Compuestos confirmados con estándares sintéticos.

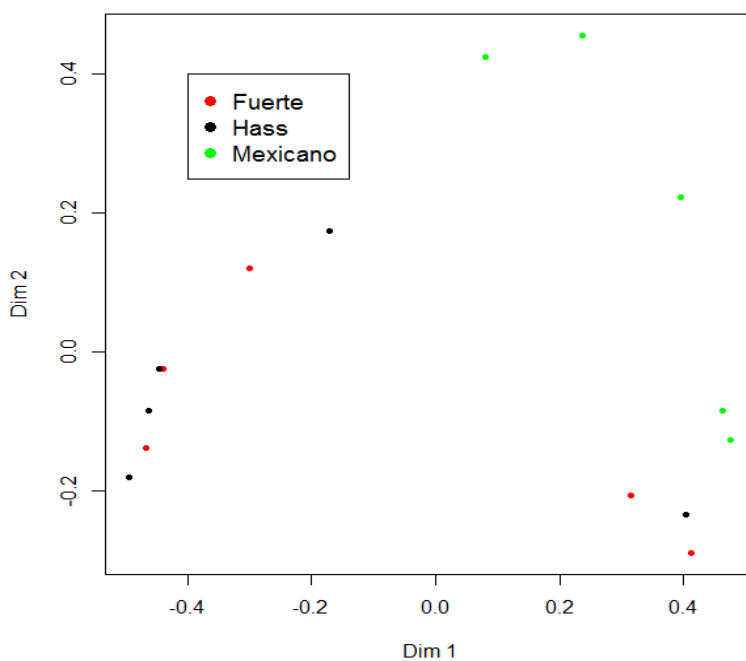


Figura 1.1. Distribución de compuestos volátiles de frutos de aguacate cv. Mexicano, Fuerte y Hass, en un análisis Random Forest. Cada punto representa los compuestos de un extracto o repetición de cada cultivo de aguacate.

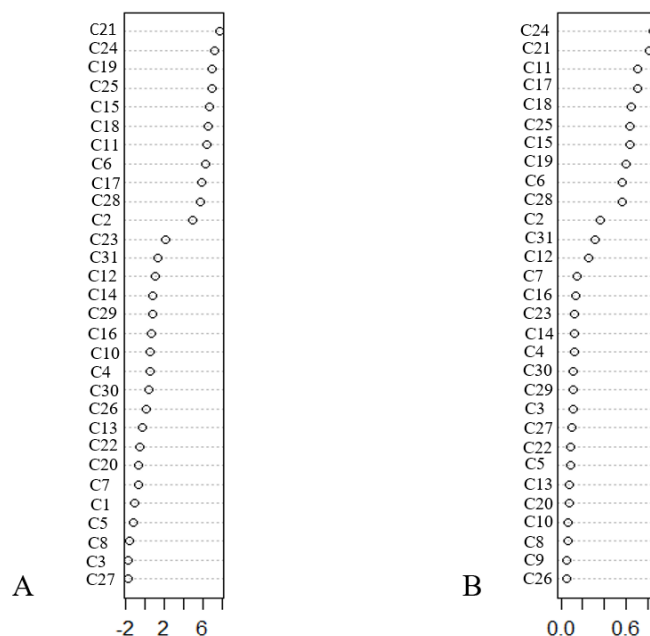


Figura 1.2. Disminución media de precisión (A) y disminución media de Gini (B) en un modelo Random Forest. Los números corresponden a los compuestos (C) identificados en frutos de tres cultivares de aguacate (Cuadro 1.1).

1.6. DISCUSIÓN

La composición química de los volátiles del aguacate está representada mayormente por terpenos lo que coincide con lo reportado en este trabajo (Pino *et al.*, 2000 y 2004; El-Mageed, 2007; Niogret *et al.*, 2013; Galvao *et al.*, 2016). En estudios anteriores, se ha reportado la diversidad química volátil en hojas, flores y mesocarpio de frutos de aguacate (Scora y Scora, 1998; Sinyinda y Gramshaw, 1998; Pino *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2003; Ogunbinu *et al.*, 2007; Mahendran, 2009; Rincón-Hernández *et al.*, 2011; Obenland *et al.*, 2012), por lo que éste es el primer trabajo donde se reporta sobre los volátiles emitidos por frutos de aguacate enteros e inmaduros, Sin embargo, a pesar de tratarse de diferentes estructuras de la planta o distinta etapa de desarrollo del fruto, no se encontró un compuesto distinto a los reportados anteriormente; encontrándose sólo diferencias cuantitativas de cada compuesto. No obstante, es necesaria esta información, ya que puede ser de utilidad con fines de manejo de barrenadores de la semilla del aguacate mediante el uso de atrayentes, debido a que los volátiles capturados son los mismos que aparentemente emiten los frutos cuando aún se encuentran en el árbol. En este estudio se encontró que el cariofileno, α -copaeno y β -copaeno se detectaron en los tres cultivares analizados, y además

fueron de los compuestos más abundantes. Del mismo modo, estos compuestos se han encontrado como mayoritarios en hojas y frutos de diferentes cultivares de aguacate (Sagreto-Nieves y Bartley, 1995; Pino *et al.*, 2000; Espinosa-García *et al.*, 2001; Pino *et al.*, 2004; Ogunbinu *et al.*, 2007; Torres-Gurrola *et al.*, 2009).

La mayoría de los compuestos que marcaron diferencias no se reportaron en aguacate Mexicano, pero si en frutos de Fuerte y Hass, o como en el caso de estragol y eugenol, que sólo se detectaron en los extractos de frutos de aguacate Mexicano (Cuadro 1.1). Los compuestos restantes tuvieron una influencia reducida en las diferencias encontradas. La variación química de los compuestos volátiles de Fuerte y Hass respecto al Mexicano se puede deber al origen de sus progenitores. En el caso de Hass, es un híbrido del cual 58 % de su material genético proviene de raza guatemalteca y 42 % de la variedad *drymifolia*, en tanto que, el aguacate Fuerte está constituido por 99 % de la variedad *drymifolia* (Chen *et al.*, 2009; Tremocoldi *et al.*, 2018), de ahí que en Hass no se haya detectado el compuesto estragol que caracteriza al cv. Mexicano.

Como ya se mencionó, el estragol fue el compuesto principal en frutos de aguacate Mexicano, en tanto que en Fuerte se encontró en trazas y en Hass no se presentó. Del mismo modo, Espinosa-García *et al.* (2001) señalaron la ausencia de estragol en la composición química de Hass. Niogret *et al.* (2013) y Bravo-Monzón y Espinosa-García (2008), encontraron al estragol en hojas de *Persea americana* var. *drymifolia* como el compuesto más abundante, mientras que, en hojas de Hass sólo lo detectaron en trazas. Caso contrario, Guzmán-Rodríguez *et al.* (2020) mencionan que este compuesto fue de los más abundantes en la composición química de volátiles foliares de Hass.

En otros trabajos, se ha señalado que las hojas de aguacate Mexicano son ricas en estragol, un compuesto con un aroma parecido al anís, que en hojas de otros cultivares de la raza guatemalteca o antillana, su concentración es mínima o nula (King y Knight, 1992; Pino *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007; Rincón-Hernández *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2013). Sagreto-Nieves y Bartley (1995) identificaron 30 compuestos volátiles en hojas de aguacate del cv. Mexicano, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, dentro de los cuales, el estragol destacó como compuesto mayoritario (78.12 %); además, señalaron que, de los compuestos identificados, α -cubebeno (3.58 %), metil eugenol (3,37 %) y β - cariofileno (2,10 %) también fueron de los más abundantes. Asimismo, Torres-Gurrola *et al.* (2009) realizaron un análisis foliar de *P. americana* var. *drymifolia*, y encontraron a estragol como compuesto mayoritario (22 a 72 %), seguido de cariofileno con 9 a 16 %. En este sentido, se ha sugerido que el estragol tiene base

genética de la raza Mexicana y es útil como marcador taxonómico para distinguir este cultivar de otros (King y Knight, 1987; Scora y Bergh, 1992; Wu *et al.*, 2007).

Algunos autores han señalado al estragol con propiedades insecticidas y sugieren que la presencia de este compuesto en aguacate podría ser una ventaja contra ciertas especies de insectos fitófagos (Marcus y Lichtenstein, 1979; King *et al.*, 1992). Contrario a ello, se ha señalado que, en campo el cv. Mexicano es más atractivo al ataque del barrenador pequeño de la semilla (*Conotrachelus perseae*) en comparación con otros cultivares como Hass (Comunicación personal: personal técnico de la Campaña contra Plagas Reglamentadas del Aguacatero, SENASICA, 2020). Sin embargo, esta preferencia puede estar relacionada con características de los frutos del cv. Mexicano, como la dureza del exocarpio, que es muy fino y blando, lo que puede facilitar la oviposición de las hembras de *C. perseae* en frutos de aguacate. Sin embargo, en el capítulo II de este trabajo se encontró que, en los ensayos en el olfatómetro de dos vías, hembras y machos de *C. perseae* fueron atraídos a frutos de aguacate Mexicano y Hass sin haber diferencias significativas entre sí. Además, cuando se evaluó al estragol en los bioensayos en el olfatómetro y en las jaulas, machos y hembras respondieron de manera positiva hacia este compuesto respectivamente. Por lo tanto, para confirmar la atracción de *C. perseae* hacia el estragol, se necesitan hacer más estudios sobre el efecto de este compuesto en barrenadores del aguacate, ya que se consideran como plagas de importancia cuarentenaria de este cultivo.

Las plantaciones modernas de aguacate actualmente utilizan nuevos cultivares obtenidos mediante la hibridación de varios materiales vegetales de aguacate. La composición química de estos cultivares puede ser diferente a la de sus progenitores. Este es el primer informe que compara el contenido químico volátil de frutos inmaduros de aguacate de diferentes cultivares. Ya que se encontró que el estragol es un compuesto que caracteriza al cv. Mexicano, mientras que en frutos de aguacate Fuerte y Hass estuvo casi o completamente ausente. Sin embargo, aunque Hass es un híbrido mexicano-guatemalteco y la raza mexicana predomina en Fuerte, en estos cultivares también se detectaron compuestos como linalool, ylangeno y (*E*)- α -bergamoteno, que no se encontraron en frutos de aguacate Mexicano. La información presentada en este estudio se puede utilizar para implementar una estrategia de manejo con atrayentes en el control de picudos barrenadores de la semilla del aguacate.

1.7. LITERATURA CITADA

- Abraham, J.D., Abraham J., Takrma J.F. 2018. Morphological characteristics of avocado (*Persea americana* Mill.) in Ghana. *African Journal of Plant Science* 12: 88–97.
- Alcaraz, M.L., Hormaza J.I. 2007. Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs. *Hereditas* 144: 244–253.
- Ayala, T., Ledesma N. 2014. “Chapter 8. Avocado history, biodiversity and production”. Pp: 157-205. In *Sustainable Horticultural Systems, Sustainable Development and Biodiversity*, D. Nandwani (ed.). Springer International Publishing.
- Barrientos-Priego, A.F., Muñoz-Pérez R.B., Reyes-Alemán J.C., Borys M.W., Martínez-Damián M.T. 2007. Taxonomía, cultivares y porta injertos. Capítulo 2. Pp: 31-62. In: *El Aguacate y su Manejo Integrado*. Teliz D., Mora A. (eds.). Biblioteca Básica de Agricultura, Editorial Colegio de Postgraduados. Texcoco, México.
- Bender, G.S. 2012. Avocado production in California. Ch. 2 pp 1–32. In *A Cultural Handbook for Growers*, 2nd Ed. University of California.
- Bergh, B., Ellstrand N. 1986. Taxonomy of the avocado. *California Avocado Society* 70: 135-146.
- Bergh, B. 1992. The origin, nature and genetic improvement of the avocado. *California Avocado Society* 76: 61-75.
- Blumenfeld, A., Gazit S. 1974. Development of seeded and seedless avocado fruits. *Journal American Society for Horticultural Science* 99: 442-448.
- Bost, J.B., Smith N.J.H., Crane J.H. 2013. History, distribution and uses. *The avocado: botany, production and uses*. Wallingford, CABI Publishing. 416 p.
- Boza, E.J., Tondo C.L., Ledesma N., Campbell R.J., Bost J., Schnell R.J., Gutiérrez O.A. 2018. Genetic differentiation, races and interracial admixture in avocado (*Persea americana* Mill.), and *Persea* spp. evaluated using SSR markers. *Genetic Resources Crop Evolution* 65: 1195–1215.
- Bravo-Monzón, A.E., Espinosa-García F.J. 2008. Volatile emissions in *Persea americana* in response to the stem borer *Copturus aguacatae* attack. *Allelopathy Journal* 21: 165-173.
- Chen, H., Morrell V., Ashworth E.T.M., De la Cruz M., Clegg M.T. 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *Journal of Heredity* 100: 56-65.
- Cruz-López, L., Malo E.A., Toledo J., Virgen A., Del Mazo A., Rojas J.C. 2006. A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. *Journal of Chemical Ecology* 32: 351-365.
- El-Mageed, M.A.A. 2007. Development of volatile compounds of avocado and casimiroa during fruit maturation. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences* 15: 89-100.

- Espinosa-García F.J., García R.Y., Chávez Z.F., Chávez Z.A., Delgado G. 2001. Implicaciones de la variación en los fenotipos químicos de las poblaciones de plantas en su susceptibilidad a plagas y patógenos: el caso de *Persea americana* var. Hass. In Memorias del 1er. Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate, octubre 16-21. Uruapan, Michoacán, México. 46-57 p.
- Galindo-Tovar M.E., Ogata-Aguilar N., Arzate-Fernández A.M. 2008. Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. Genetic Resources and Crop Evolution 55: 441–450.
- Galvao, M.S., Nunes M.L., Constant P. B.L., Narain N. 2016. Identification of volatile compounds in cultivars barker, collinson, fortuna and geadá of avocado (*Persea americana*, Mill.) fruit. Food Science and Technology (Campinas) 36: 439-447.
- Guzmán-Rodríguez, L.F., Cortés-Cruz M.A., Rodríguez-Carpena J.G., Coria-Avalos V.M., Muñoz-Flores H.G. 2020. Biochemical profile of avocado (*Persea americana* Mill.) foliar tissue and its relationship with susceptibility to mistletoe (Family Loranthaceae). Revista Bio Ciencias 7, e492.
- Henaó-Rojas, J.C., López J.O., Osorio N.W., Ramírez-Gil J.G. 2019. Fruit quality in Hass avocado and its relationships with different growing areas under tropical zones. Rev. Ceres, Viçosa. 66: 341-350.
- Juma, I., Geleta M., Hovmalm H.P., Nyomora A., Saripella G.V., Carlsson A.S., Fatih M., Ortiz R. 2021. Comparison of morphological and genetic characteristics of avocados grown in Tanzania. Genes 12, 63.
- King, J.R., Knight R.J. 1987. Occurrence and assay of estragole in the leaves of various avocado cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry 35: 842–844.
- King, J.R., Knight R.J. 1992. Volatile components of leaves of various avocado cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40: 1182–1185.
- Knight, Jr R.J. 2002. History, distribution and uses. In: Wiley AW, Schaffer B, Wolstenholme BN (eds) The Avocado: Botany, Production and Uses. CAB International, Wallingford, pp 1–14.
- Liu, Y., Bu M., Gong X., He J., Zhan Y. 2020. Characterization of the volatile organic compounds produced from avocado during ripening by gas chromatography ion mobility spectrometry. Journal of the Science of Food and Agriculture 101: 666-672.
- Mahendran, T. 2009. Characterization of volatile aroma constituents in avocados (*Persea americana americana* Mill.) grown in Sri Lanka. Agrieast 8:19-29.
- Marcus, C., Lichtenstein E.P. 1979. Biologically active compounds of anise: toxicity and interactions with insecticides in Insecta. Journal of Agricultural and Food Chemistry 27:1917-1223.
- Mijares, P., López L. 1998. Variedades de aguacate y su producción en México Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C. México.

- Moreno, A.O., Dorantes L., Galíndez J., Guzmán R.I. 2003. Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2216-2221.
- Niogret, J., Epsky N.D., Schnell E.Q., Schnell R.J., Heath R.R., Meerow A.W., Kendra P.E. 2013. Analysis of sesquiterpene distributions in the leaves, branches, and trunks of avocado (*Persea americana* Mill.). *American Journal of Plant Sciences* 4: 922-931.
- Obenland, D., Collin S., Sievert J., Negm F., Arpaia M.L. 2012. Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in “Hass” avocado. *Postharvest Biology and Technology*, 71:41-50.
- Ogunbinu, A.O., Ogunwande I.A., Flaminid G., Cionid P.L. 2007. Volatile compounds of *Persea americana* Mill from Nigeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 10: 133–138.
- Pereira, M.E.C., Tieman D.M., Sargent S.A., Klee H.J., Huber D.J. 2013. Volatile profiles of ripening West Indian and Guatemalan-West Indian avocado cultivars as affected by aqueous 1-methylcyclopropene. *Biology and Technology* 80: 37–46.
- Pino, J., Rosado A., Agüero J. 2000. Volatile components of avocado (*Persea americana* Mill.) fruits. *Journal of Essential Oil Research* 12: 377-378.
- Pino, J.A., Marbot R., Rosado A., Fuentes V. 2004. Volatile components of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Moro grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research* 16:139-140.
- Pino, J.A., Marbot R., Martí M.P. 2006. Leaf oil of *Persea americana* Mill. var. *Drymifolia* cv. Duke grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research* 18: 440–442.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online: <http://www.R-project.org/> (Accessed on July 2019).
- Rincón-Hernández, C.A., Sánchez P.J., Espinosa-García F.J. 2011. Caracterización química foliar de los árboles de aguacate criollo (*Persea americana* var. *drymifolia*) en los bancos de germoplasma de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82:395-412.
- Sagrero-Nieves, L., Bartley J.P. 1995. Volatile components of avocado leaves (*Persea americana* Mill.) from the Mexican race. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67:49–51.
- Salazar-García, S., Medina-Carrillo R.E., Álvarez-Bravo A. 2016. Evaluación inicial de algunos aspectos de calidad del fruto de aguacate ‘Hass’ producido en tres regiones de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 7:277-289.
- Scora, R.W., Bergh B.O. 1992. Origin of and Taxonomic relationships within the genus *Persea*. In *Proceedings of the Second World Avocado Congress*, April 21-26. Orange California, University of California/California Avocado Society, Riverside. p. 505-514.
- Scora, R.W., Scora P.E. 1998. Leaf oils of two new avocado varieties endemic to Costa Rica. *Journal of Essential Oil Research* 10:705–707.

- Sinyinda, S., Gramshaw J.W. 1998. Volatiles of avocado fruit. *Food Chemistry* 62: 483-487.
- Storey, W.B., Bergh B., Zentmyer G.A. 1986. The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society* 70:127-143.
- Torres-Gurrola, G., Montes-Hernández S., Espinosa-García F.J. 2009. Patrones de variación y distribución geográfica en fenotipos químicos foliares de *Persea americana* var. *drymifolia*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:19-30.
- Tremocoldi, M.A., Rosalen P.L., Franchin M., Massarioli A.P., Denny C., Daiuto É.R., Rizzato P.J.A., Siqueira M.P., De Alencar S.M. 2018. Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLoS ONE*, 13(2): e0192577.
- Wu, H., Chou C., Chang T.L., Chen I.Z. 2007. Genetic relationship estimation of Taiwan avocado cultivars by volatile constituents of leaves. In: *Proceedings of the VI World Avocado Congress*, Viña del Mar, Chile. <http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/1c-26.pdf> (revisado: 12-01-21).

CAPÍTULO II. RESPUESTA ELECTROFISIOLÓGICA Y COMPORTAMENTAL DE *Conotrachelus perseae* BARBER (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A COMPUESTOS VOLÁTILES EMITIDOS POR SU HOSPEDERO

2.1. RESUMEN

El manejo del barrenador pequeño de la semilla del aguacate, *Conotrachelus perseae* Barber, se basa principalmente mediante prácticas culturales y el uso de insecticidas autorizados. Por tal motivo, para el manejo de esta plaga de importancia cuarentenaria es necesario la búsqueda de otros métodos de control como es el uso de atrayentes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta electrofisiológica (EAG) y comportamental de *C. perseae* a compuestos volátiles de su hospedero el aguacate, en bioensayos en laboratorio y semicampo. En los registros de electroantenograma (EAG), el linalool fue el compuesto con el que se obtuvo una mayor respuesta antenal de *C. perseae*. En los bioensayos en el olfatómetro, los machos fueron atraídos hacia β -pineno, estragol, linalool y ocimeno; mientras que, las hembras respondieron de manera positiva a linalool y ocimeno. Por otro lado, en los ensayos en jaulas, los picudos respondieron de manera positiva a β -pineno y estragol. Los resultados de este trabajo, son una pauta inicial para desarrollar un nuevo método en el manejo de *C. perseae* mediante el uso de atrayentes en un sistema de monitoreo para la detección oportuna de esta plaga.

Palabras clave: atrayente, electroantenograma, EAG, olfatómetro, picudo.

2.2. INTRODUCCIÓN

El barrenador pequeño de la semilla de aguacate, *Conotrachelus perseae* Barber (Coleoptera: Curculionidae), es una plaga de importancia cuarentenaria que puede causar pérdidas del 60 a 70 % en la producción de aguacate, cuando no se emplean medidas de manejo (Castañeda-Vildózola *et al.*, 2013). Actualmente, en México el estatus de esta plaga es “presente en algunas áreas y sujetas bajo control oficial”. El control de esta plaga se basa principalmente en prácticas culturales y el uso de insecticidas autorizados (SENASICA-DGSV 2016).

Los curculiónidos, al igual que otros insectos fitófagos, poseen quimiorreceptores que utilizan para detectar volátiles que emite su hospedero (Butkewich y Prokopy, 1993; Bernays y Chapman,

1994; Bichao *et al.*, 2005). En estudios de comportamiento y electrofisiológicos, se ha comprobado que estos picudos responden positivamente a volátiles de su planta hospedante (Szendrei *et al.*, 2009; Magalhães *et al.*, 2018; García-Díaz *et al.*, 2020; Palanichamy *et al.*, 2020). En este sentido, las plantas liberan compuestos volátiles a través de diversas estructuras, incluyendo hojas, flores y frutos (Kesselmejer y Staudt, 1999; Pichersky *et al.*, 2006). Estos compuestos que sirven para su interacción con su entorno, pueden funcionar como semioquímicos, ya que transmiten información sobre el estado fisiológico de éstas, lo que puede resultar atractivo para los insectos fitófagos, los cuales se guían por estos olores en la búsqueda de su hospedante para alimentación, lugares de apareamiento y/o sitios de oviposición (Dudareva *et al.*, 2006; Schmera y Guerin, 2012).

El uso de semioquímicos es una alternativa que puede ser efectiva en el manejo de insectos plaga (Oehlschlager *et al.*, 2002; Heath *et al.*, 2006; Hoddle *et al.*, 2009; Barrientos-Hernández *et al.*, 2011). En bioensayos de comportamiento o electrofisiológicos con curculiónidos, se ha comprobado que éstos responden positivamente a volátiles de su planta hospedera, como en el caso del picudo del arándano *Anthonomus musculus* Say, el picudo del plátano *Cosmopolites sordidus* Germar, el picudo de la flor de fresa *Anthonomus rubi* (Herbst) o el picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Budenberg *et al.*, 1993; Bichao *et al.*, 2005; Altuzar *et al.*, 2007; Szendrei *et al.*, 2009). Además, se ha demostrado que los compuestos volátiles de la planta hospedera pueden actuar como atrayentes en sinergia con las feromonas de agregación sintéticos en diferentes especies de curculiónidos (Leskey *et al.*, 2005; Van Tol *et al.*, 2012; Collatz y Dorn, 2013; Azuara *et al.*, 2014; Wibe *et al.*, 2014; Ruiz-Montiel *et al.*, 2017).

El uso de atrayentes sintéticos en un sistema de trampeo de *C. perseae* puede contribuir en la detección oportuna y para el reconocimiento de zonas libres de esta plaga; sin embargo, no se han reportado estudios sobre la comunicación química de este insecto, por lo que se hace necesario investigar las respuestas conductuales a estímulos olfativos de esta plaga y poder conocer los semioquímicos implicados en las interacciones insecto-planta. Ante esta situación, se plantearon los siguientes objetivos: 1) Conocer la respuesta comportamental de *C. perseae* a volátiles emitidos por tres cultivares de aguacate y 2) Conocer la respuesta electrofisiológica de ambos sexos del picudo a volátiles de frutos de las diferentes variedades de aguacate.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1. Cría de *C. perseae*

Para la obtención de insectos adultos, se recolectaron frutos de aguacate con síntomas de daños externos ocasionados por este insecto en dos huertas comerciales de la localidad de Meyuca de Morelos (18° 86'43'' N, 99° 78'66'' O y 18° 84'97'' N, 99° 77' 78'' O), Coatepec de Harinas Edo. de México, en septiembre de 2018 y abril de 2021. El material colectado se trasladó al laboratorio de Plagas de Frutales del Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Los frutos se colocaron en recipientes de plástico (50 cm largo X 50 cm ancho) y se cubrieron con tela organza para permitir la ventilación. Los frutos se revisaron diariamente hasta observar la salida de larvas de los frutos, antes de pupar. Las larvas que se disponían a pupar se pasaron a recipientes de plástico transparentes de 3 L de capacidad, con 8 cm de suelo tomado del área de estudio, que se empleó como sustrato para la pupación. A la tapa de cada recipiente (20 cm largo x 10 cm ancho), se le hizo un orificio que se cubrió con organza para permitir la ventilación (13 cm largo x 5 cm ancho). Cabe mencionar que el suelo siempre se mantuvo húmedo para evitar la deshidratación de las pupas. Los recipientes se colocaron en una cámara de cría, con condiciones de temperatura de 25 ± 2 °C, 70 % \pm 10 de HR y un fotoperiodo de 12:12 h luz-oscuridad, hasta la emergencia de los adultos. Para la identificación y separación por sexos de *C. perseae*, se consideró la morfología externa de los adultos (Whitehead 1979, Mancera *et al.* 2018). Los picudos adultos se mantuvieron en recipientes de plástico con ventilación, donde se les ofrecía frutos verdes y brotes de aguacate Hass o Mexicano como fuente de alimento; a la vez que, los frutos servían como sustrato para oviposición, de tal manera que cada tres días se cambiaban los frutos por otros nuevos, y los frutos con los huevos se pasaban a contenedores de plástico con ventilación, donde se mantenían para el desarrollo de las larvas hasta que éstas salían de la semilla para pupar, posteriormente se trasladaban a recipientes con tierra con las condiciones, como ya se mencionó anteriormente.

2.3.2. Material vegetal

Los frutos inmaduros de aguacate Mexicano, Fuerte y Hass se recolectaron cuando estaban en fase de desarrollo, con un diámetro ecuatorial de 4 a 6 cm y con características visibles de estar sanos. El aguacate Mexicano se obtuvo de árboles de traspatio de la localidad de Tequexquahuac,

Texcoco (19°28'36''N, 98°49'37''O), Edo. de México y los otros dos cv. se obtuvieron de una huerta comercial ubicada en Meyuca de Morelos, Coatepec de Harinas (18°84'74''N, 99°77'69''O), Edo. de México. Las colectas de frutos se realizaron en julio de 2019 y agosto de 2020. Los frutos colectados se conservaron en bolsas de polietileno y se transportaron en una hielera, al laboratorio.

2.3.3. Respuesta comportamental de *C. perseae* a frutos de aguacate

Para evaluar la respuesta de *C. perseae* a volátiles de frutos de aguacate, se empleó un olfatómetro de dos vías con en base a lo descrito por Ruiz-Montiel *et al.* (2003). El olfatómetro consistió de un tubo de vidrio de borosilicato en forma de “Y”, con las dimensiones siguientes: el brazo principal de 16 cm de longitud y los brazos laterales de 13 cm de longitud, con un diámetro interno de 1.5 cm. Cada brazo del olfactómetro se conectó a un recipiente de vidrio de borosilicato de 15 L de capacidad (42 cm de alto por 24 cm de diámetro) que contenía una fuente de olor. El flujo de aire se proporcionó mediante una bomba de aire seco (Elite® 801), la cual se conectó a una trampa de carbón activado (Orbo®) (100–1000 mL/min) para la limpieza del aire, y se humedeció a través de una trampa de agua antes de alcanzar el recipiente de vidrio con la fuente de olor, en la cual se colocó 1 kg de frutos de aguacate, según el tratamiento a evaluar; el flujo se ajustó con un flujómetro (Cole-Parmer®) a 370 mL/min. Previo a la realización de los bioensayos, los picudos se dejaron sin alimento durante 24 h. Los adultos de *C. perseae* se colocaron individualmente en la base del tubo y su respuesta hacia un recurso olfativo se registró cuando el insecto pasó la línea de selección (7 cm después de la intersección) y permaneció ahí durante al menos 20 seg. Cada prueba duró 5 min, si el picudo no respondía durante ese tiempo, se excluyó del experimento. Después de la evaluación de cada prueba, los tratamientos y el testigo se rotaron en los brazos del olfatómetro para evitar la predisposición de los insectos a responder hacia un solo lado, y el olfatómetro, así como los recipientes de vidrio, se lavaron con jabón neutro y cloruro de metileno. Se realizaron las siguientes comparaciones: Mexicano vs. aire limpio, Hass vs. aire limpio, Fuerte vs. aire limpio, Hass vs. Mexicano; Hass vs. Fuerte, Fuerte vs. Mexicano. En estas pruebas se realizaron 40 repeticiones por sexo. Se emplearon insectos vírgenes de 15 a 20 d de edad. Los bioensayos se realizaron en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. de México, en una habitación acondicionada con luz roja, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y 70 ± 10 HR. Todas las observaciones se realizaron de 18:00 a 24:00 h.

2.3.4. Respuesta electrofisiológica (EAG) de *C. perseae* a compuestos volátiles de frutos de aguacate

La respuesta antenal de *C. perseae* a compuestos volátiles sintéticos de frutos de aguacate identificados previamente se determinó mediante electroantenografía (EAG), de acuerdo a los descrito por Malo *et al.* (2004). De esta forma, la cabeza de un insecto se cortó y se insertó en un capilar de vidrio (1.1-1.2 mm θ) (Marienfeld®) con solución salina; posteriormente, el capilar se fijó a un electrodo de conexión a tierra. Enseguida, el mazo antenal de una antena, se insertó en la punta de otro capilar que se fijó a un electrodo de registro; en este caso, la punta del capilar se modificó para proporcionar un diámetro ligeramente menor al mazo antenal. Cuando el capilar entró en contacto con la antena, la solución salina creó un sello alrededor del punto de contacto, lo que permitió una baja relación señal/ruido en el registro de la estimulación antenal. Los electrodos se conectaron a un amplificador (Syntech IDAC-02). Después de 1 a 2 min, se estabilizó la señal de la antena y en un pedazo de papel filtro (0.3 x 1.0 cm) se aplicó 1 μg de compuesto sintético, a una concentración de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, como solvente se utilizó diclorometano (DCM); después de 30 seg, el papel filtro se colocó en una pipeta Pasteur que se conectó a una manguera desde el controlador de flujo de aire (1 L/min). La punta de la pipeta se introdujo en un orificio ubicado en un extremo del tubo de metal a través del cual fluía constantemente el aire húmedo en dirección a la antena del insecto. Los compuestos químicos se aplicaron de manera aleatoria. La señal generada por las antenas se grabó en una PC a través del software Syntech (1998). Para cada sexo se realizaron 20 repeticiones, además, se utilizaron insectos vírgenes de 20 a 30 días de edad, que se dejaron 24 h sin alimento, previo a la realización de los experimentos.

En total, se evaluaron los siguientes tratamientos: β -cariofileno, limoneno, ocimeno, β -pineno, α -pineno, eugenol, linalool, estragol, α -copaeno, extracto fruto verde cv. Mexicano, extracto fruto verde cv. Fuerte, extracto fruto verde cv. Hass, y diclorometano (DCM). Los extractos fueron preparados como se describió en el Capítulo I.

Posteriormente, una vez realizada esta prueba, se seleccionaron los compuestos a los cuales se obtuvo una mejor respuesta antenal, con el fin de evaluar la respuesta electrofisiológica de *C. perseae* a diferentes concentraciones bajo el mismo procedimiento descrito anteriormente. Los

compuestos fueron: linalool, estragol, β -pineno y un control (DCM), a las concentraciones de 0.5, 1, 5 y 10 μg respectivamente.

2.3.5. Respuesta comportamental de *C. perseae* a compuestos sintéticos de frutos de aguacate

La respuesta comportamental de *C. perseae* a los compuestos sintéticos se evaluó en un olfatómetro de dos vías, bajo el mismo procedimiento descrito anteriormente. El olfatómetro consistió de un tubo de vidrio de borosilicato en forma de “Y” de 15 cm de longitud y 1.5 cm de diámetro interno. Los brazos del olfatómetro se conectaron a un medidor de flujo (Gilmont instruments, Barrington, IL, USA) acoplado a una bomba de vacío. El flujo de aire se calibró a 0.5 l/min, que se purificó con carbón activado y se humedeció antes de pasar por el recurso a evaluar y entrar al tubo. Los compuestos que se evaluaron fueron α -copaeno, β -pineno, linalool, ocimeno y estragol. Cada compuesto se comparó contra el control que fue DCM. Se realizaron 45 repeticiones por sexo/tratamiento y se emplearon insectos vírgenes de 30 a 40 días de edad, que se dejaron previamente sin alimento durante 24 h. Los bioensayos se realizaron en una habitación acondicionada con luz roja, con una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y 70 ± 10 HR. Las evaluaciones se realizaron a partir de las 19:00 a las 24:00 h. Después de cada prueba, los tratamientos y el testigo se rotaron en los brazos del olfatómetro para evitar la predisposición de los insectos a responder hacia un solo lado; asimismo, después de cada tratamiento se lavó el olfatómetro y secó a 120°C durante 40 min para evitar contaminación.

2.3.6. Respuesta de *C. perseae* a compuestos sintéticos en semicampo

La atracción de *C. perseae* a compuestos sintéticos se evaluó en ensayos de opción múltiple. El experimento se realizó en jaulas cúbicas de 1 m^3 , cubiertas con tela mosquitera de plástico (2 mm θ , 1 mm^2). Los compuestos que se evaluaron fueron estragol, β -pineno, linalool, ocimeno y una mezcla de ellos en una proporción de 1:1:1:1. Estos compuestos fueron a los que *C. perseae* respondió de manera positiva en los bioensayos previos en el olfatómetro en laboratorio. Para la evaluación de los compuestos se utilizaron trampas amarillas para el escarabajo japonés (Pherocon[®], Trécé Incorporated, California EUA). Como liberador se emplearon tubos eppendorf de 2 mL, a los cuales se les realizó dos orificios de 1 mm θ en la parte superior para permitir la volatilización de los compuestos. Cada tubo contenía 600 μL del compuesto o mezcla a una

concentración de (1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), como solvente se utilizó DCM. En cada trampa se colocó un liberador, el cual previamente fue sellado con parafilm. Las trampas con los compuestos se colgaron al azar en la jaula, ubicándose a una altura de 10 cm de la base; asimismo, se colocaron en las esquinas y en el centro de ésta, quedando separadas a la misma distancia, de tal modo, que en cada jaula había seis trampas, con un compuesto o mezcla respectivamente y un control. En el centro de la base de la jaula se liberaron 50 picudos vírgenes de un solo sexo de 20 a 30 días de edad, que previamente se dejaron 24 h sin alimento. Las liberaciones se realizaron a las 19:00 h y las evaluaciones se realizaron 12 h después. La variable respuesta fue el número de insectos capturados por trampa. Para cada sexo se realizaron 10 repeticiones. Cada jaula se consideró como una repetición. Cabe mencionar que debido a que se contaba con un número limitado de trampas, se hicieron varias evaluaciones en el tiempo, es decir, se emplearon dos jaulas a la vez, una para la evaluación de machos y otra de hembras. Los experimentos con las jaulas se realizaron en un invernadero en el Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, donde se registraron, parámetros de temperatura y humedad relativa con un datalogger (HOBO[®]), registrándose una temperatura promedio de 26 ± 7 °C y una HR de 70 ± 5 .

2.4. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de la respuesta del EAG y las pruebas en invernadero se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se realizó con la prueba de LSD ($P \leq 0.05$). Los datos que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se transformaron con log natural. Los análisis se realizaron con el software estadístico R (R Core TEam, 2016). La respuesta conductual de *C. perseae* a volátiles en el olfatómetro, se analizó mediante una prueba de G con corrección de Williams (Soka y Rohlf, 1995).

2.5. RESULTADOS

2.5.1. Respuesta comportamental de *C. perseae* a diferentes cultivares de frutos de aguacate

En los tratamientos donde se comparó frutos vs. aire limpio hubo diferencias significativas, ambos sexos de *C. perseae* optaron por la primera opción. No obstante, en las comparaciones de frutos Mexicano vs. Hass y Hass vs. Fuerte, tanto hembras como machos no mostraron preferencia

por una fuente de olor específica. En contraste, hembras y machos prefirieron volátiles de aguacate Mexicano sobre aquellos de Fuerte (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Respuesta comportamental de ambos sexos de *C. perseae* a frutos de aguacate en un olfatómetro tipo “Y”.

Tratamiento (recurso1 vs. recurso 2)	Sexo	Respuesta a recurso 1 vs. recurso 2	Sr*	P
Mexicano vs. aire limpio	♂	30 vs. 10	4	<0.001
	♀	33 vs. 7	7	<0.001
Hass vs. aire limpio	♂	29 vs. 11	9	<0.01
	♀	37 vs. 3	5	<0.001
Fuerte vs. aire limpio	♂	27 vs. 13	7	<0.05
	♀	31 vs. 9	3	<0.01
Mexicano vs. Hass	♂	19 vs. 21	11	0.75
	♀	25 vs. 15	16	0.11
Mexicano vs. Fuerte	♂	31 vs. 9	9	<0.001
	♀	29 vs. 11	15	<0.01
Hass vs. Fuerte	♂	14 vs. 26	13	0.57
	♀	16 vs. 24	10	0.2

Los datos se analizaron mediante prueba de G con corrección de Williams por tamaño de muestra. *Sr: sin respuesta.

2.5.2. Respuesta electrofisiológica (EAG) de *C. perseae* a compuestos volátiles de frutos de aguacate

No se presentaron diferencias significativas entre sexos en la respuesta antenal de *C. perseae* hacia compuestos volátiles sintéticos y naturales de frutos de aguacate ($P>0.1$). Por otra parte, en el caso de los machos, se encontró que los tratamientos y el control si fueron significativamente diferentes entre sí ($P>0.001$). La respuesta de los machos fue mayor en los tratamientos con los extractos de frutos de aguacate, ya que fueron estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos incluyendo al control. Con los extractos de aguacate Hass y Fuerte, se obtuvo una mayor respuesta antenal, seguidos del extracto de aguacate Mexicano (Figura 2.1). En tanto que, en los tratamientos con los compuestos sintéticos, con linalool se obtuvo una mayor respuesta electrofisiológica respecto a los demás tratamientos incluido al control. El resto de los compuestos no fue significativamente diferente al control; no obstante, en los tratamientos con ocimeno, estragol, β -pineno y β -cariofileno, se observó una mayor respuesta de los picudos machos, respecto a los demás compuestos evaluados.

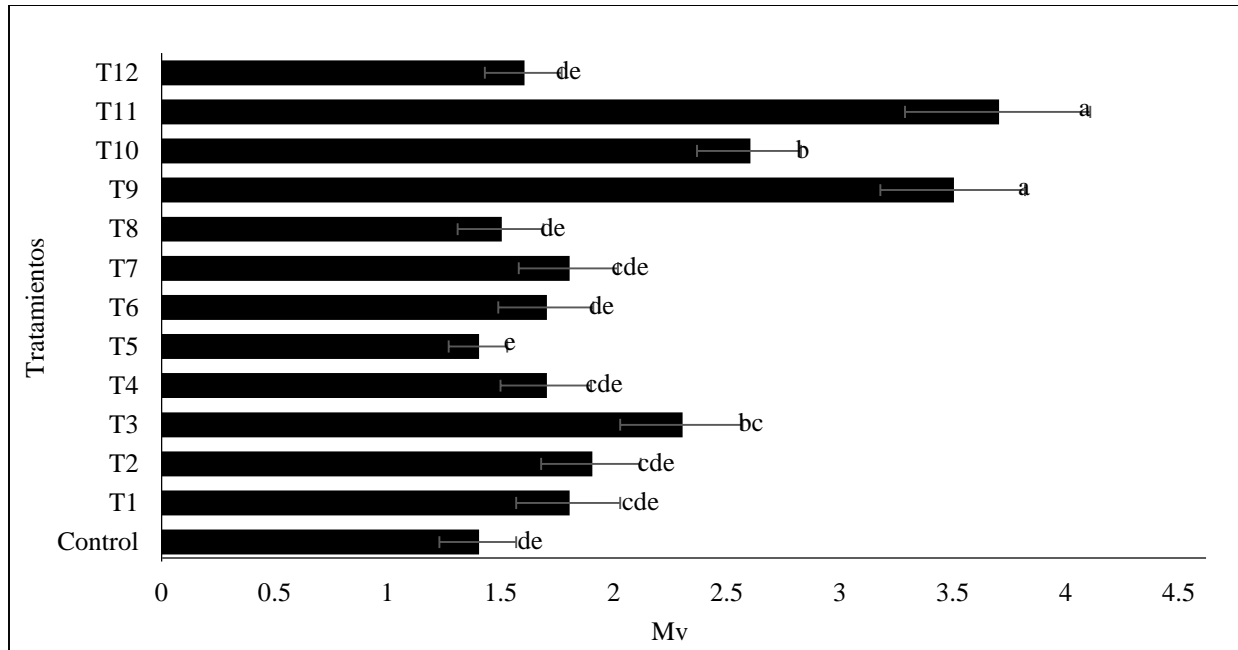


Figura 2.1. Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos de *C. perseae* a compuestos sintéticos y extractos de frutos de aguacate. T1: β -cariofileno, T2: estragol, T3: linalool, T4: ocimeno, T5: α -pineno, T6: limoneno, T7: β -pineno, T8: α -copaeno, T9: extracto de frutos de aguacate Hass, T10: extracto de frutos de aguacate Mexicano, T11: extracto de frutos de aguacate Fuerte, T12: eugenol.

La respuesta electrofisiológica de las hembras tuvo la misma tendencia que la de los machos ($P > 0.001$). Los extractos de frutos de aguacate fueron los tratamientos en los que se obtuvo una mayor respuesta antenal y fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos. En tanto que, en la respuesta antenal de las hembras hacia los compuestos sintéticos, linalool fue el tratamiento con el que se obtuvo una mejor respuesta, siendo estadísticamente diferente al control. Asimismo, aunque estragol, β -pineno y α -copaeno no fueron significativamente diferentes al control, produjeron las respuestas más fuertes en el EAG en comparación con el resto de los compuestos sintéticos evaluados (Figura 2.2).

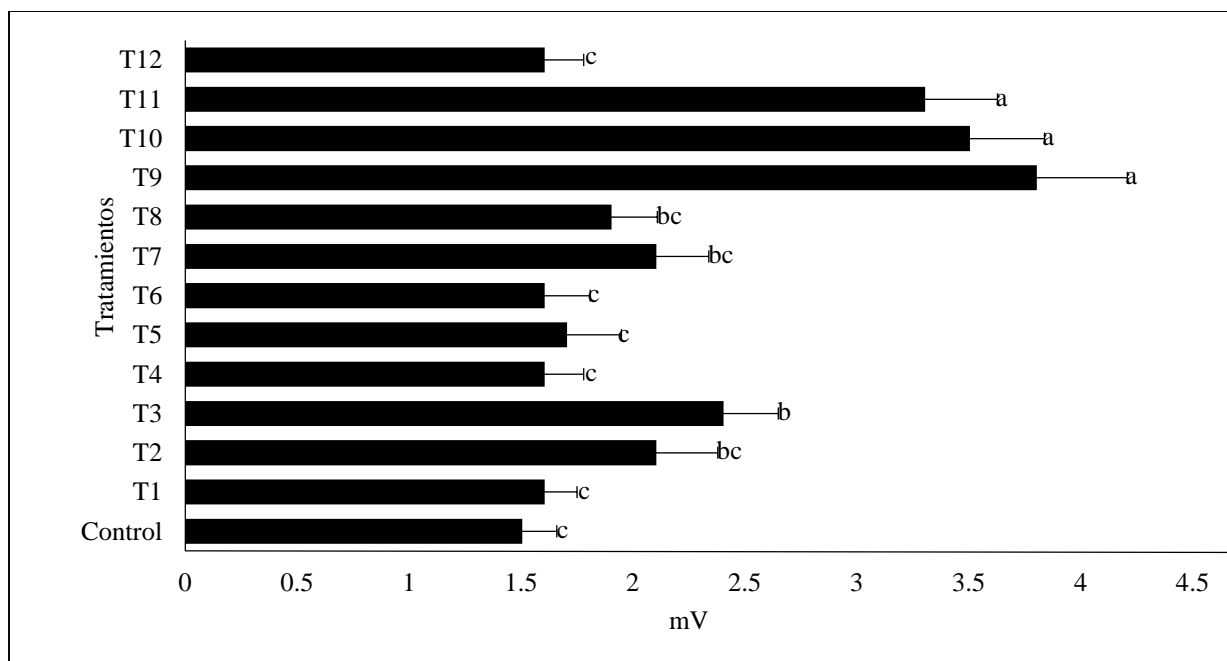


Figura 2.2. Respuesta electrofisiológica (EAG) de hembras de *C. perseae* a compuestos sintéticos y extractos de frutos de aguacate. T1: β -cariofileno, T2: estragol, T3: linalool, T4: ocimeno, T5: α -pineno, T6: limoneno, T7: β -pineno, T8: α -copaeno, T9: extracto de frutos de aguacate Hass, T10: extracto de frutos de aguacate Mexicano, T11: extracto de frutos de aguacate Fuerte, T12: eugenol.

Por otra parte, cuando se evaluó la respuesta electrofisiológica de *C. perseae* a diferentes concentraciones de linalool, estragol y β -pineno, la respuesta a los diferentes tratamientos fue indistinta al sexo ($P > 0.1$). En machos y hembras, las concentraciones evaluadas de estragol y β -pineno no causaron una respuesta antenal diferente al control ($P > 0.1$) (Figura 2.3 y 2.4). En tanto que, linalool fue el tratamiento que generó una mayor respuesta sin importar la concentración evaluada en ambos sexos ($P > 0.001$). De manera general, se puede observar que, la concentración más alta de los compuestos evaluados, fue con la que se generó una mejor respuesta antenal respecto a las demás concentraciones.

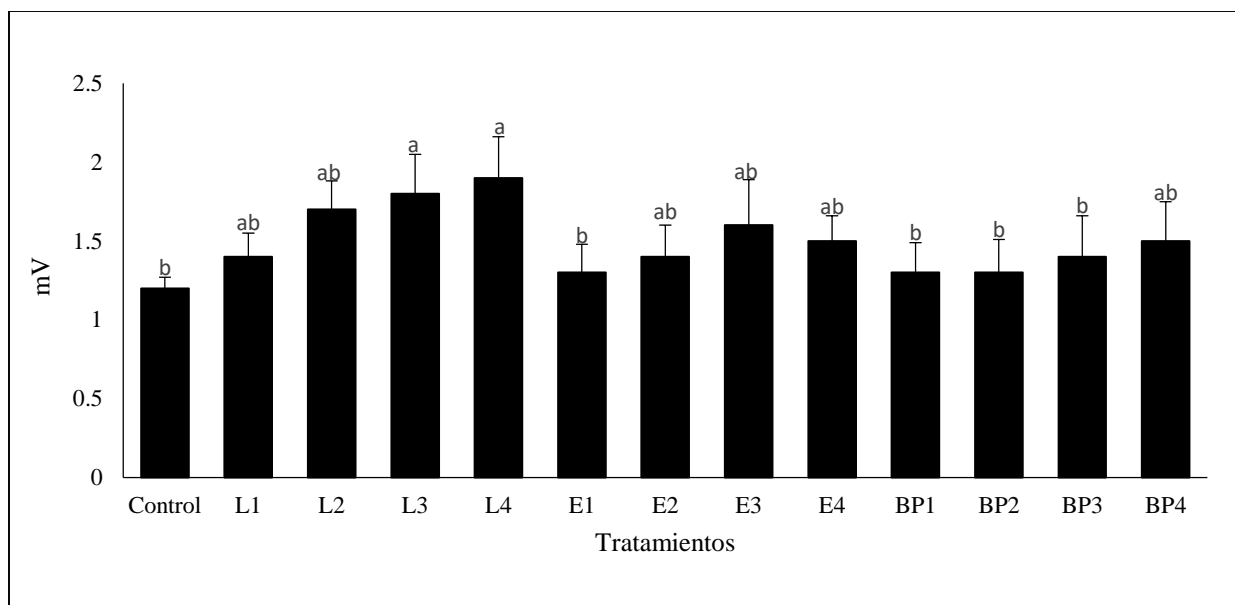


Figura 2.3. Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos de *C. perseae* a diferentes concentraciones de compuestos sintéticos identificados en frutos de aguacate. L1: linalool (0.5 μ l), L2: linalool (1 μ l), L3: linalool (5 μ l), L4: linalool (10 μ l); E1: estragol (0.5 μ l), E2: estragol (1 μ l), E3: estragol (5 μ l), E4: estragol (10 μ l); BP1: β -pineno (0.5 μ l), BP2: β -pineno (1 μ l), BP3: β -pineno (5 μ l), BP4: β -pineno (10 μ l).

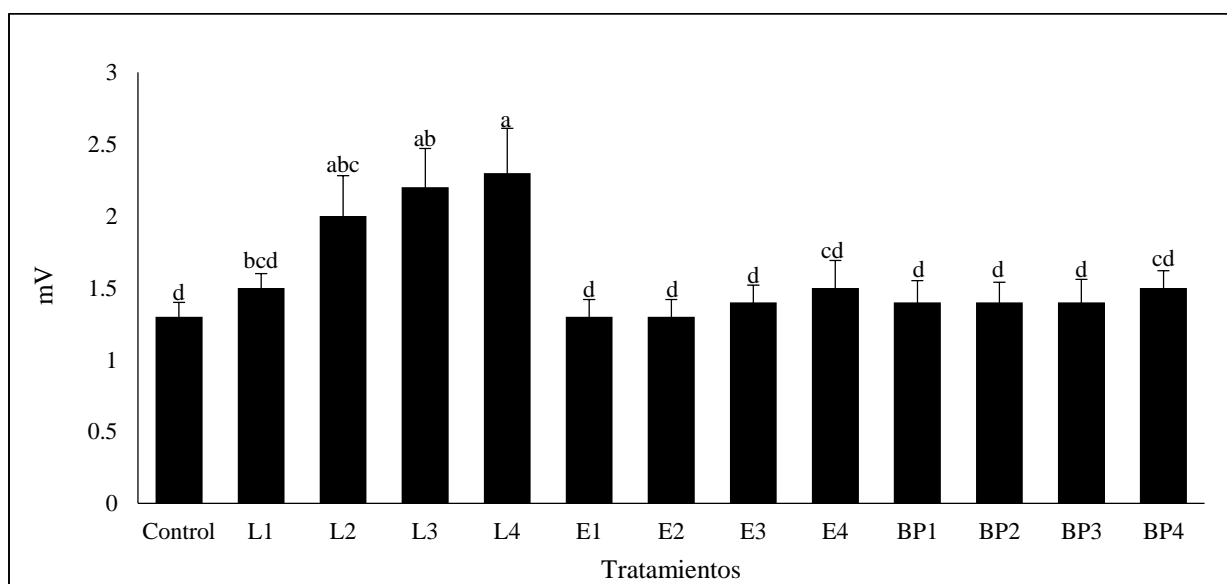


Figura 2.4. Respuesta electrofisiológica (EAG) de hembras de *C. perseae* a diferentes concentraciones de compuestos sintéticos identificados en frutos de aguacate. L1: linalool (0.5 μ l), L2: linalool (1 μ l), L3: linalool (5 μ l), L4: linalool (10 μ l); E1: estragol (0.5 μ l), E2: estragol (1 μ l), E3: estragol (5 μ l), E4: estragol (10 μ l); BP1: β -pineno (0.5 μ l), BP2: β -pineno (1 μ l), BP3: β -pineno (5 μ l), BP4: β -pineno (10 μ l).

A pesar de que no se encontró una interacción entre sexos en la respuesta a las concentraciones evaluadas en los diferentes compuestos, en el caso de los tratamientos con linalool si se presentaron diferencias respecto al control ($P>0.001$). Linalool a 1, 5 y 10 μl , fueron las concentraciones con las que se obtuvo una mayor respuesta antenal tanto en hembras como en machos, respecto al control; además, se observó que las hembras tuvieron una mayor respuesta a los tratamientos que los machos (Figura 2.5).

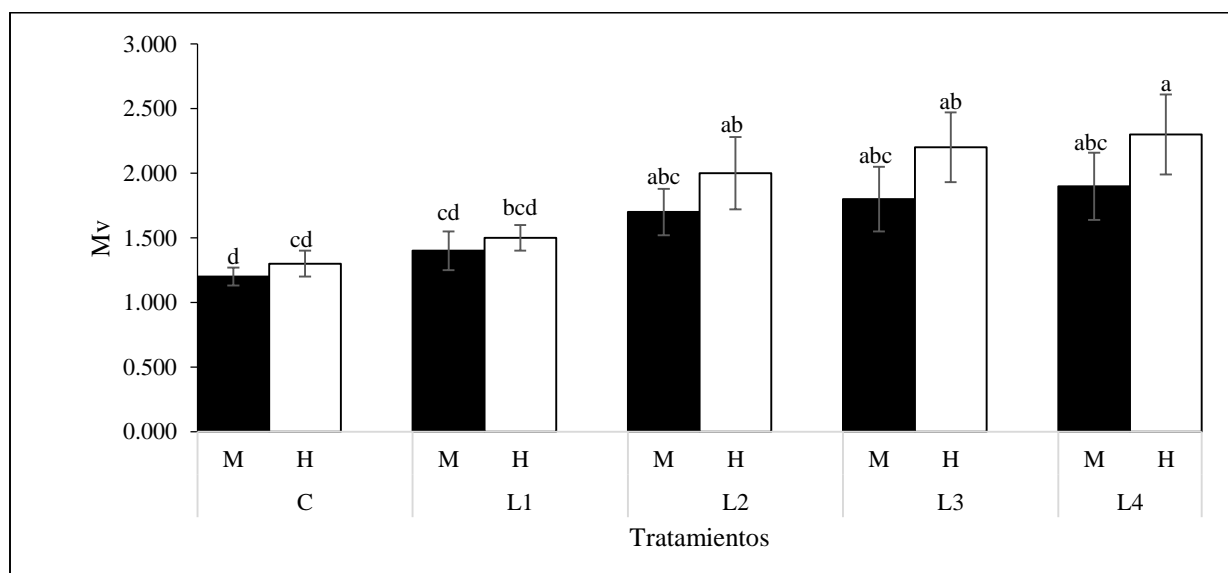


Figura 2.5. Respuesta electrofisiológica (EAG) de machos (M) y hembras (H) de *C. perseae* a diferentes concentraciones de linalool (L). L1: 0.5 μl , L2: 1 μl , L3: 5 μl , L4: 10 μl .

2.5.3. Respuesta comportamental a compuestos sintéticos de frutos de aguacate

Hembras y machos fueron significativamente más atraídos en el olfatómetro a los compuestos de interés en comparación con el control (Figura 2.6 a y b). Cuando se comparó el solvente contra los compuestos, en el caso de los machos hubo diferencias con β -pineno ($G= 4.14$, $d.f= 1$, $P=0.04$), linalool ($G= 15.22$, $d.f= 1$, $P=0.000095$), ocimeno ($G= 19.12$, $d.f= 1$, $P=0.000012$) y estragol ($G= 4.94$, $d.f= 1$, $P=0.02$); mientras que, en el resto de los tratamientos no se presentaron diferencias en comparación con el control. Respecto a las hembras, solo se presentaron diferencias en dos compuestos respecto al control: linalool ($G= 5.21$, $d.f= 1$, $P=0.02$) y ocimeno ($G= 4.7$, $d.f= 1$,

P=0.03; mientras que para el resto de los compuestos, no se observaron diferencias significativas respecto al control.

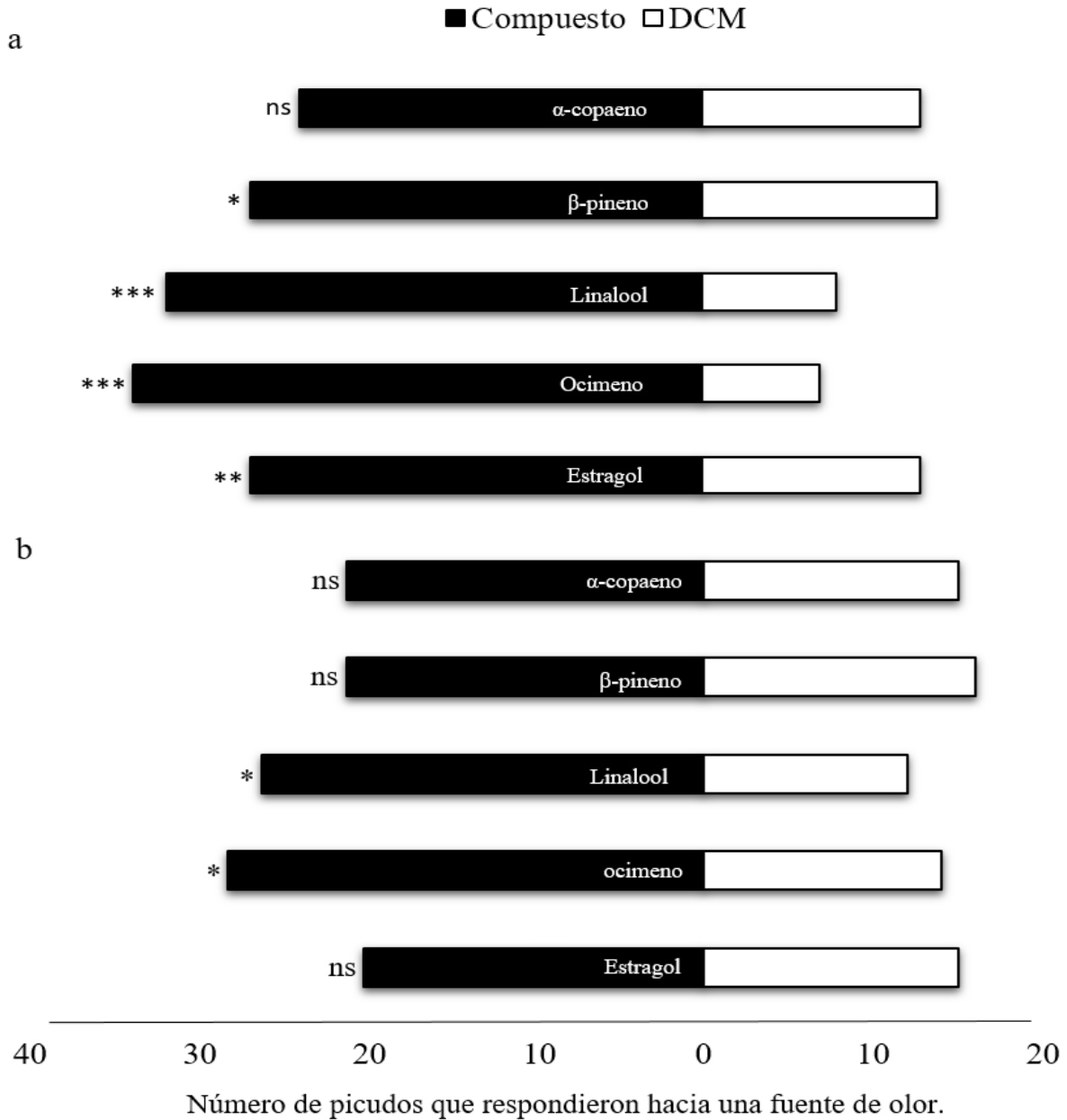


Figura 2.6. Respuesta comportamental de *C. perseae* machos (a) y hembras (b), a compuestos sintéticos identificados de volátiles de frutos de aguacate. DCM: diclorometano. ns: no significativo, * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$), *** ($P < 0.001$). Los datos se analizaron mediante prueba de G con corrección de Williams por tamaño de muestra.

2.5.4. Respuesta de *C. perseae* a compuestos sintéticos en semicampo

En el ensayo en las jaulas, la respuesta de machos no fue significativamente diferente respecto a las hembras ($P>0.1$). En los machos se observó que las trampas con β -pineno capturaron más adultos que los demás compuestos ($P>0.001$); en tanto que, las capturas en las trampas con linalool, estragol y la mezcla, no fueron significativamente diferentes entre sí; finalmente, el ocimeno fue el atrayente que atrajo menos machos. Por otro lado, respecto a las capturas de hembras, también hubo diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.001$). De los cuatro compuestos usados, en las evaluaciones con hembras hubo una mayor captura en las trampas con β -pineno y estragol, las cuales estadísticamente no fueron diferentes entre sí; las trampas con la mezcla y el linalool tuvieron capturas similares, mientras que, el ocimeno atrajo a una menor cantidad de picudos a las trampas (Figura 2.7).

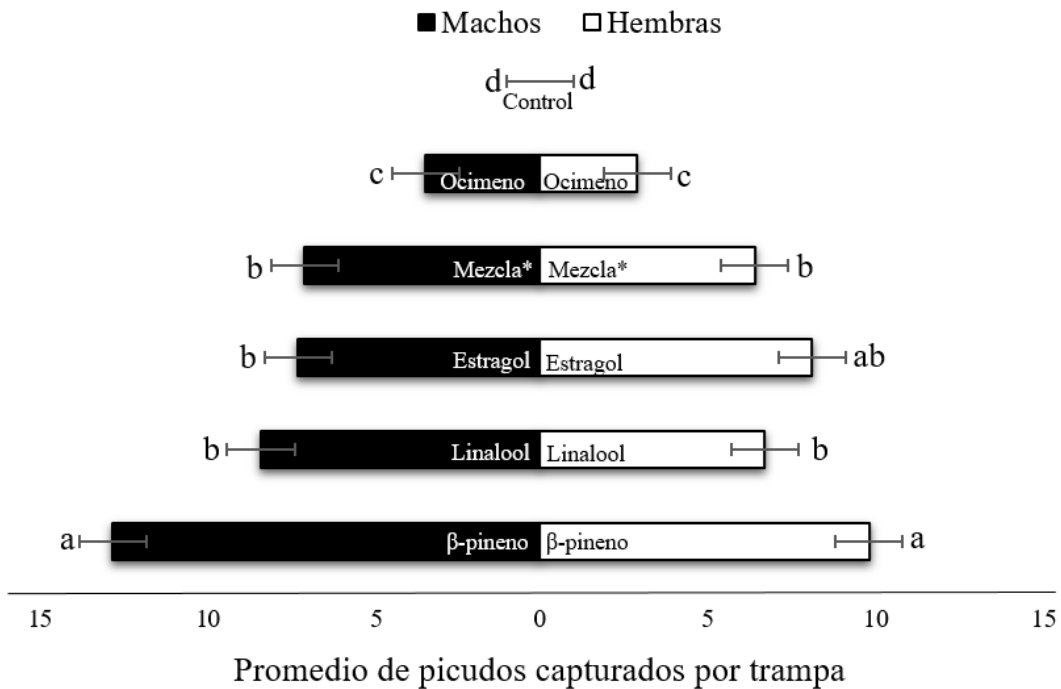


Figura 2.7. Respuesta de *C. perseae* a compuestos volátiles sintéticos en jaulas en invernadero. *B-pineno, linalool, estragol, ocimeno (1:1:1:1). Tratamientos con la misma letra, no fueron significativamente diferentes entre sí ($P>0.05$).

2.6. DISCUSIÓN

En pruebas de laboratorio y semicampo, *C. perseae* respondió positivamente a volátiles de su hospedero, como se reporta en otras especies de insectos (Mcgraw *et al.*, 2011; Leskey *et al.*, 2014; Elizalde-González y Segura-Rivera 2018; García-Díaz *et al.*, 2020). Sin embargo, en este trabajo, se encontró que la amplitud de la respuesta del EAG en *C. perseae* a compuestos sintéticos identificados en frutos de su hospedero fue débil. Al respecto, Altuzar *et al.* (2007) señalan que los ensayos en el EAG, no siempre determinan el comportamiento real de los insectos cuando se exponen a volátiles de su planta hospedante.

Por otro lado, en los bioensayos de comportamiento, se encontró que ambos sexos de *C. perseae* fueron atraídos por los compuestos volátiles a los que fueron expuestos. De los compuestos evaluados en el olfatómetro, los machos respondieron a cuatro compuestos (β -pineno, linalool, ocimeno y estragol), mientras que las hembras sólo a linalool y ocimeno, lo cual muestra una diferencia entre sexos en la percepción de los volátiles del hospedero. En este sentido, puede ser que las hembras sean más selectivas para detectar volátiles de su hospedero. Szendrei y Rodríguez-Saona (2010) señalan que en los insectos es común la diferencia de respuesta comportamental a los volátiles del hospedero entre sexos y que las hembras suelen tener una mayor respuesta que los machos. Sin embargo, en este trabajo se encontró una mayor respuesta del macho a los compuestos evaluados, en contraste con las hembras. En otros trabajos se han reportado resultados similares al encontrado aquí, por ejemplo, Palanichamy *et al.* (2020) observaron que los machos del curculiónido *Odoiporus longicollis* Olivier respondieron positivamente a volátiles de la planta hospedera, mientras que la respuesta de las hembras fue baja (lo que sugiere que los machos, al llegar a su hospedero, puedan liberar la feromona de agregación y atraer a ambos sexos). De igual modo, Guleria (2019) señala que los machos de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae) mostraron una mayor respuesta a volátiles de su hospedero respecto a las hembras. También la respuesta antenal de machos de *Melolontha melolonta* L. (Coleoptera: Melolonthidae) a alcoholes alifáticos saturados e insaturados, fue mayor que en hembras (Reinecke *et al.*, 2005).

Por otra parte, se ha señalado que, en los curculiónidos, los machos producen las feromonas de agregación, las cuales pueden tener efectos sinérgicos con los volátiles del hospedero (Eller y Bartelt, 1996; RoCHAT *et al.*, 2000; Reddy y Guerrero, 2004; Palacio-Cortés *et al.*, 2015; Oehlschlager, 2016). Por ello, puede ser que los machos de *C. perseae* busquen al hospedero y

estando en la planta, envían señales a las hembras u otros machos, de tal modo que, en la búsqueda de alimento, las hembras u otros machos, además de detectar los volátiles de su hospedero, pueden requerir de señales que el macho les envía. Piñero *et al.* (2001), señalan que las hembras de *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) son atraídas por los volátiles del hospedero en combinación con la feromona de agregación que emite el macho (Leskey *et al.*, 2005).

En las pruebas de comportamiento, se encontró que los machos tuvieron una respuesta positiva a β -pineno, linalool, ocimeno y estragol, mientras que las hembras sólo a linalool y ocimeno; en tanto que, en el experimento en las jaulas, de los compuestos probados, los machos respondieron mayormente hacia β -pineno, y las hembras a linalool y estragol. Rodríguez *et al.* (2008) obtuvieron resultados similares, al señalar que el β -pineno es atractivo para *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae); asimismo, Altuzar *et al.* (2007), encontraron que *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) respondió de manera positiva al linalool a dosis bajas. Respecto a la mezcla evaluada, se observó que los picudos no respondieron de manera positiva como se esperaba; sin embargo, es impórtate señalar que sólo se evaluó una concentración de cada compuesto en una proporción de 1:1:1:1, por lo que es necesario realizar más ensayos usando la proporción natural de cómo son emitidos los compuestos por los frutos de aguacate. La mayoría de los insectos herbívoros usan compuestos vegetales ubicuos, siendo la proporción de los compuestos, el estímulo más importante para que éstos puedan localizar su planta hospedante. Por ejemplo, Robert *et al.* (2019), encontraron que *Otiorhynchus sulcatus* F. mostró atracción hacia una mezcla de (Z) -2-pentenol y metil eugenol a una proporción de 1: 1. De igual modo, una mezcla de tres compuestos volátiles del durazno: acetato de (Z) -3-hexenilo, (Z) -3-hexenol y benzaldehído, en una proporción de 4: 1: 1, fueron más atractivos para las hembras de *Cydia molesta* Busck, que cuando se proporcionaron de manera individual (Natale *et al.*, 2003). La mezcla de propionato de fenetilo, eugenol y geraniol atraen a *Phyllopertha horticola* (L.) (Ruther y Tolasch, 2004). Bruce *et al.* (2005) señalan que la mayoría de los receptores periféricos de los insectos fitófagos detectan volátiles ubicuos de las plantas hospederas, por lo tanto, el reconocimiento del hospedero por parte de éstos, no sólo depende de la detección de compuestos en específico, sino también de la proporción a la que éstos son liberados por la planta. El reconocimiento de la mezcla de tales compuestos está mediado por neuronas receptoras olfativas (NRO) localizadas principalmente en las sensilas de las antenas de los insectos (Bruce y Pickett, 2011). Al respecto, los compuestos que se evaluaron en este estudio, son ubicuos de las plantas,

por lo tanto, las proporciones de mezclas específicas de los compuestos sería de vital importancia para que *C. perseae* ubique su planta hospedera; es decir, a pesar de ser especialista del cultivo de aguacate, puede ser que, para la localización de su hospedero, detecte compuestos que no son exclusivos de este cultivo, y, por lo tanto, se requiere de una proporción específica de éstos. Por tal motivo, se necesitan realizar más estudios sobre el efecto de diferentes proporciones de compuestos volátiles en la atracción del barrenador pequeño de la semilla del aguacate.

En general, en la mayor parte de las pruebas del presente estudio, se observó que la respuesta de *C. perseae* no fue tan fuerte como se esperaba. En el caso del experimento en las jaulas, diversos factores pudieron estar involucrados en la respuesta de *C. perseae* hacia algún compuesto en particular. Por ejemplo, la concentración y proporción de los compuestos que se evaluó, así como el tipo o diseño de trampa. Además, es necesario resaltar que en este estudio sólo se evaluaron compuestos identificados en frutos y quizá para la localización del hospedero *C. perseae* requiera de los volátiles de otras estructuras de la planta; como en el caso de *C. nenuphar*, que se ha reportado que no sólo es atraído por el olor natural del fruto o por volátiles sintéticos de un solo compuesto, sino también por volátiles de tejidos foliares o leñosos (Leskey y Prokopy, 2000; Leskey y Prokopy, 2001; Prokopy *et al.*, 2001) y estas estructuras también pueden ser importantes en la localización de la planta hospedera (Leskey *et al.*, 2005).

Este trabajo proporciona información básica para desarrollar atrayentes sintéticos que se puedan emplear para el monitoreo con trampas del barrenador pequeño de la semilla del aguacate, como parte de un programa de manejo integrado; sin embargo, se necesitan más estudios sobre la respuesta de *C. perseae* cuando es expuesto a compuestos volátiles de su hospedero de manera individual, en mezcla y con diferentes concentraciones en experimentos de laboratorio y campo.

2.7. LITERATURA CITADA

- Altuzar, A., Malo, E.A., González-Hernández, H., Rojas, J.C., 2007. Electrophysiological and behavioural responses of *Scyphophorus acupunctatus* (Col., Curculionidae) to *Agave tequilana* volatiles. *Journal Applied Entomology* 131: 121–127.
- Azuara, D.A., Terán, V.A.P., Soto, S.A., Aguilar, P.N.Y., Martínez, B.L., 2014. Evaluación del tipo de trampa, atrayente alimenticio y feromona de agregación en el trampeo del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal en Tamaulipas, México. *Entomotropica* 29: 1-8.

- Barrientos-Hernández, I., Hernández, R.G., Cibrián-Tovar, J., 2011. Tasa de liberación de la feromona sexual de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) y capturas de machos con trampas en brócoli. *Entomotropica* 26: 47-58.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F., 1994. *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman and Hall Inc., New York.
- Bichao, H., Borg-Karlson, A.K., Araujo, J., Mustaparta, H., 2005. Five types of olfactory receptor neurons in the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi*: selective responses to inducible host-plant volatiles. *Chemical Senses* 30: 153-170.
- Bruce, T.J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10: 269-274.
- Bruce, T., Pickett, J., 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. *Phytochemistry* 72: 1605-1611.
- Budenberg, H., Ndiege, I.O., Karago, F.W., Hansson, B.S., 1993. Behavioral and electrophysiological response of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* to host plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 19: 267-279.
- Butkewich, S.L., Prokopy, R.J., 1993. The effects of short-range host odor stimuli on host fruit finding and feeding behavior of plum curculio adults (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology* 19: 825-835.
- Castañeda-Vildózola, A., Franco-Mora, O., Nava-Díaz, C., Pérez-lópez, D.J., Valdéz-Carrasco, J., Vargas-Rojas, L., 2013. Association of *Heilipus lauri* Boheman and *Conotrachelus perseae* Barber (Coleoptera: Curculionidae) on avocado in México. *The Coleopterists Bulletin* 67:116-118.
- Collatz, S., Dorn, S., 2013. A host-plant derived volatile blend to attract the apple blossom weevil *Anthonomus pomorum* – the essential volatiles include a repellent constituent. *Pest Management Science* 69: 1092-1098.
- Cruz-López L., Malo E.A., Toledo J., Virgen A., Del Mazo A., Rojas J.C. 2006. A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. *Journal of Chemical Ecology* 32: 351-365.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A., Orlova, I., 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 417-440.
- Elizalde-González, M.P., Segura-Rivera, E.J., 2018. Volatile compounds in different parts of the fruit *Psidium guajava* L. cv. ‘Media China’ identified at distinct phenological stages using HS-SPME-GC-QTOF/MS. *Phytochemical Analysis* 29: 649–660.
- Eller, F.J., Bartelt, R.J., 1996. Grandisoic acid, a male-produced aggregation pheromone from the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. *Journal of Natural Products* 59: 451–453.
- García-Díaz, E., Tafoya, F., Elizalde-González, M.P., 2020. Behavioral and electroantennographic responses of adults of guava weevil, *Conotrachelus dimidiatus*

- (Coleoptera: Curculionidae), to synthetic host-associated and conspecific volatiles. *Environmental Entomology* 20 49(4): 810-81.
- Guleria, N., 2019. Studies on semiochemicals of spotted stem borer, *Chilo partellus* (Swinhoe)(Lepidoptera: Crambidae). Thesis Doctoral. División of Entomology Icar-Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India.
- Heath, R.R., Teal, P.E.A., Epsky, N.D., Dueben, B.D., Hight, S.D., Bloem, S., Carpenter, J.E., Weissling, T.J., Kendra, P.E., Cibrián-Tovar, J., Bloem, K.A., 2006. Pheromone-based attractant for males of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology* 35: 1469-1476.
- Hodde, M.S., Millar, J.G., Hodde, C.D., Zou, Y., McElfresh, S., 2009. Synthesis and field evaluation of the sex pheromone of *Stenomacris catenifer* (Lepidoptera: Elachistidae). *Journal of Economic Entomology* 102: 1460-1467.
- Kesselmeier, J., Staudt, M., 1999. Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry* 33: 23-88.
- Leskey, T.C., Prokopy, R.J., 2000. Sources of apple odor attractive to adult plum curculios. *Journal of Chemical Ecology* 26: 639-653.
- Leskey, T.C., Prokopy, R.J., 2001. Adult plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) attraction to fruit and conspecific odors. *Annals of the Entomological Society of America* 94: 275-288.
- Leskey, T.C., Zhang, A.J., Herzog, M., 2005. Nonfruiting host tree volatile blends: novel attractants for the plum curculio (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 34: 785-793.
- Leskey, T.C., Hock, V., Chouinard, G., Cormier, D., Leahy, K., Cooley, D., Tuttle, A., Eaton, A., Zhang, A., 2014. Evaluating electrophysiological and behavioral responses to volatiles for improvement of odor-baited trap tree management of *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 43: 753-761.
- Magalhães, D.M., Borges, M., Laumann, R.A., Woodcock, C.M., Withall, D.M., Pickett, J.A., Birkett, M.A., Blassioli-Moraes, M.C., 2018. Identification of volatile compound involved in host location by *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). *Frontiers in Ecology and Evolution* 6: 98.
- Malo, E.A., Castrejón-Gómez, V.R, Cruz-López, L., Rojas, J.C., 2004. Antennal sensilla and electrophysiological response of male and female *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to conspecific sex pheromone and plant odors. *Annals of the Entomological Society of America* 97: 1273-1284.
- Mancera, S.A.V., Bautista-Martínez, N., Illescas-Riquelme, C.P., Valdéz-Carrasco, J., Castañeda-Vildózola, A., 2018. *Conotrachelus* species of agricultural and quarantine importance for Mexico. *Southwestern Entomologist* 43: 45-55.

- Mcgraw, B.A., Rodríguez-Saona, C., Holdcraft, R., Szendrei, Z., Koppenhöfer, A.M., 2011. Behavioral and electrophysiological responses of *Listronotus maculicollis* (Coleoptera: Curculionidae) to volatiles from intact and mechanically damaged annual bluegrass. *Environmental Entomology* 40: 412-419.
- Natale, D., Mattiacci, L., Hern, A., Dorn, S., Pasqualini, E., 2003. Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bulletin of Entomological Research* 93: 335-342.
- Oehlschlager, A.C., Chinchilla, C., Castillo, G., González, L., 2002. Control of red ring disease by mass trapping of *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 85: 507-513.
- Oehlschlager A.C. 2016. Palm weevil pheromones – Discovery and use. *Journal of Chemical Ecology* 42: 617–630.
- Palacio-Cortés, A.M., Valente, F., Saad, E.B., Tröger, A., Francke, W., Zarbin, P.H.G., 2015. (1R,2S,6R)-Papayanol, aggregation pheromone of the guava weevil, *Conotrachelus psidii*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 26: 784–789.
- Palanichamy, S., Padmanaban, B., Mayil, V.M., Backiyarani, S., Uma, S., 2020. Electrophysiological responses of banana pseudostem weevil, *Odoiporus longicollis* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) to methyl jasmonate, 1-hexanol and host plant extract. *Indian Journal of Experimental Biology* 58: 53-57.
- Pichersky, E., Noel, J.P., Dudareva, N., 2006. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science* 311: 808–811.
- Piñero, J.C., Wright, S.E., Prokopy, R.J., 2001. Response of plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) to odor-baited traps near woods. *Journal of Economic Entomology* 94: 1386-1397.
- Prokopy, R.J., Phelan, P.L., Wright, S.E., Minalga, A., Barger, R., Leskey, T.C., 2001. Compounds from host fruit odor attractive to plum curculio adults (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomological Science* 36: 122-134.
- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing and graphics. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org> (last accessed 6 Feb 2020).
- Reddy, G.V.P., Guerrero, A., 2004. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Science*. 9: 253-261.
- Reinecke, A., Ruther, J., Hilker, M., 2005. Electrophysiological and behavioural responses of *Melolontha melolontha* to saturated and unsaturated aliphatic alcohols. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 33–40.
- Roberts, J.M., Kundun, J., Rowley, C., Hall, D.R., Douglas, P., Pope, T.W., 2019. Electrophysiological and Behavioral Responses of Adult Vine Weevil, *Otiorhynchus*

- sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae), to Host Plant Odors. Journal of Chemical Ecology 45: 858–868.
- Rochat, D., Nagnan-Le, M.P., Esteban-Duran, J.R., Malosse, C., Perthuis, B., Morin, J.P., Descoins, C., 2000. Identification of pheromone synergists in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, and attraction of related *Dynamis borassi*. Journal of Chemical Ecology 26: 155-187.
- Rodríguez, D., Cure, J., Cantor, F., 2008. Respuesta de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) a estímulos olfativos: estado actual y perspectivas. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas 41: 24-31.
- Ruiz-Montiel, C., González-Hernández, H., Leyva, J., Llanderal-Cázares, C., Cruz-López, L., Rojas, J.C. 2003. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economic Entomology 94: 1126–1131.
- Ruiz-Montiel, C., Ramón-Domínguez, C.I., Domínguez-Reyes, L., Ainsa-Zarate, R., Mendoza-López, M.R., 2017. Efecto de la trampa y atrayente sobre *Scyphophorus acupunctatus* en agave. Southwestern Entomologist 42: 237-247.
- Ruther, J., Tolasch, T., 2004. Attraction of garden chafer, *Phyllopertha horticola*, to floral Japanese beetle lure. Journal of Applied Entomology 128:158–160.
- SENASICA-DGSV. 2016. Barrenador pequeño del hueso del aguacate *Conotrachelus aguacatae* (Barber) y *Conotrachelus perseae* (Barber) (Coleoptera: Curculionidae). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) – Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria – Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha técnica. Tecámac, México 11 p.
- Schmera, D., Guerin, P.M., 2012. Plant volatile compounds shorten reaction time and enhance attraction of the codling moth (*Cydia pomonella*) to codlemone. Pest Management Science 68: 454–461.
- Szendrei, Z., Malo, E., Stelinski, L., Rodríguez-Saona, C., 2009. Response of cranberry weevil (Coleoptera: Curculionidae) to host plant volatiles. Environmental Entomology 38: 861-869.
- Szendrei, Z., Rodríguez-Saona, C.R., 2010. A meta-analysis of behavioral manipulation of insect pests with plant volatiles. Entomologia Experimentalis et Applicata 134: 201-210.
- Van Tol, R.W.H.M., Bruck, D.J., Griepink, F.C., De Kogel, W.J., 2012. Field attraction of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to kairomones. Journal of Economic Entomology 105:169–175.
- Whitehead, D.R., 1979. Recognition characters and distribution records for species of *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae) that damage avocado fruits in México and Central America. Proceedings of the Entomological Society of Washintton 81: 105-107.

Wibe, A., Borg-Karlson, A.K., Cross, J., Bichão, H., Fountain, M., Liblikas I., Sigsgaard L., 2014. Combining 1,4-dimethoxybenzene, the major flower volatile of wild strawberry *Fragaria vesca*, with the aggregation pheromone of the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi* improves attraction. *Crop Protection* 64: 122-128.

CONCLUSIONES GENERALES

Este es el primer trabajo que compara la composición química volátil de frutos inmaduros de aguacate de cultivares con relevancia comercial: Hass, Fuerte y Mexicano. Se encontró que el estragol es un compuesto que caracteriza al cv. Mexicano, mientras que en frutos de aguacate Fuerte y Hass estuvo casi o completamente ausente. Sin embargo, aunque Hass es un híbrido mexicano-guatemalteco y la raza mexicana predomina en Fuerte, en estos cultivares también se detectaron compuestos como linalool, ylangeno y (*E*)- α -bergamoteno, que no se encontraron en frutos de aguacate Mexicano.

En los registros de electroantenograma (EAG), el linalool figuró como el compuesto que desencadenó las mayores respuestas en machos y hembras de *C. perseae*. En las pruebas de comportamiento, los machos fueron atraídos hacia β -pineno, estragol, linalool y ocimeno, mientras que, las hembras respondieron de manera positiva sólo a linalool y ocimeno. En los ensayos en jaulas, los insectos respondieron de manera positiva a β -pineno, linalool y estragol. Se sugiere que linalool, β -pineno y estragol podrían considerarse para ser incluidos en un sistema de trapeo.

Este trabajo proporciona información básica para desarrollar atrayentes sintéticos de origen natural, que se puedan emplear para el monitoreo con trampas del barrenador pequeño de la semilla del aguacate, como parte de un programa de manejo integrado; sin embargo, se necesitan más estudios sobre la respuesta de *C. perseae* cuando es expuesto a compuestos volátiles de su hospedero de manera individual, en mezcla y en diferentes proporciones en experimentos de laboratorio y campo.