



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**EVALUACIÓN DE ATRAYENTES PARA
LA CAPTURA DE *Anthonomus eugenii*
CANO (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE) EN CAMPO**

CARLOS FERNANDO BAUTISTA HERNÁNDEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

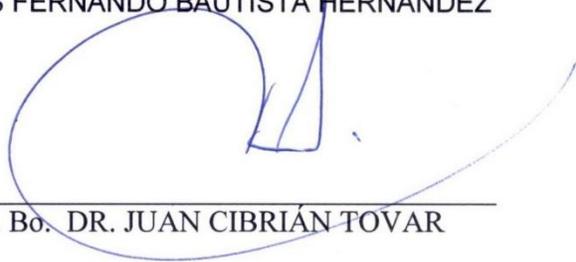
**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y
DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe **CARLOS FERNANDO BAUTISTA HERNÁNDEZ**, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor **DR. JUAN CIBRIÁN TOVAR**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **EVALUACIÓN DE ATRAYENTES PARA LA CAPTURA DE *Anthonomus eugenii* CANO (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN CAMPO** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 18 de noviembre de 2019



CARLOS FERNANDO BAUTISTA HERNÁNDEZ



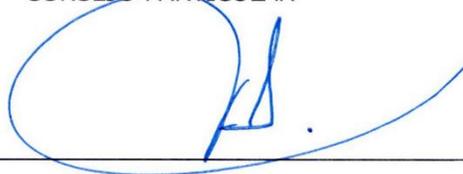
Vo. Bó. DR. JUAN CIBRIÁN TOVAR

La presente tesis titulada: Evaluación de atrayentes para la captura de *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en campo realizada por el alumno: Carlos Fernando Bautista Hernández bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Juan Cibrián Tovar

ASESOR



Dr. Julio César Velázquez González

ASESORA



Dra. María del Pilar Rodríguez Guzmán

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2019

EVALUACIÓN DE ATRAYENTES PARA LA CAPTURA DE *Anthonomus eugenii* CANO (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN CAMPO

Carlos Fernando Bautista-Hernández, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

El picudo de chile *Anthonomus eugenii* Cano es la principal plaga del chile tanto en el territorio mexicano como en otras partes del continente americano en donde se produce este cultivo. Este insecto se orienta por medio de los volátiles liberados por flores y frutos del chile para ubicar a su hospedero. Los estudios han sido enfocados en la evaluación del comportamiento del insecto mediante técnicas de olfatometría o electroantenografía, destacando la importancia de algunas sustancias. A pesar que se tienen identificados los compuestos no se han realizado estudios en campo para determinar su eficacia de atracción, lo cual es esencial para diseñar estrategias de control. En este trabajo se estudió la dinámica de liberación de una mezcla sintética con Z-3-hexenil-acetato, E- α -ocimeno, Z- α -oimeno, Terpinoleno y 2-Isobutil-3-metoxipirazina en bolsas de polietileno y tubos de microcentrífuga, además de la feromona de agregación. Los compuestos se capturaron por aireación dinámica y se identificaron mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID). En una segunda fase, se evaluó el rango de atracción de compuestos sintéticos derivados de flores, frutos y botones florales del chile, así como de la feromona de agregación del picudo del chile. Las bolsas de polietileno retuvieron los compuestos durante 21 días, mientras que los tubos de microcentrífuga hasta 28 días. Las trampas con la mezcla sintética y el aceite esencial registraron adultos hasta 10 m de distancia ($P > 0.05$). La combinación entre la feromona comercial con la mezcla sintética o el aceite esencial de botones florales presentaron adultos a 60 m, así como la feromona individual ($P < 0.05$). La mezcla sintética evaluada podría mejorar con la adición de otros compuestos del chile.

Palabras clave: Liberador, picudo del chile, feromona de agregación, kairomona, plaga.

EVALUACIÓN DE ATTRACTANTS FOR THE CAPTURE OF *Anthonomus eugenii* CANO (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) IN FIELD

Carlos Fernando Bautista-Hernández, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

Pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano is the main plague of pepper both in the Mexican territory and in other parts of the American continent where this crop is produced. This insect is oriented by means of the volatiles released by flowers and fruits of the pepper to locate its host. Studies have been focused on the evaluation of insect behavior by olfactometry or electroantennography techniques, highlighting the importance of some substances. Although the compounds have been identified, no field studies have been conducted to determine their attractiveness, which is essential to design control strategies. In this work, the dynamics of release of a synthetic mixture with Z-3-hexenyl-acetate, E- α -ocimeno, Z- α -ocimeno, terpinolene and 2-isobutyl-3-methoxypyrazine in polyethylene bags and microcentrifuge tubes, in addition to the aggregation pheromone. The compounds were captured by dynamic aeration and identified by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). In a second phase, the range of attraction of synthetic compounds derived from flowers, fruits and floral buttons of the pepper was evaluated, as well as the pheromone of aggregation of the weevil of the pepper. Polyethylene bags retained the compounds until 21 days, while the microcentrifuge tubes until 28 days. The traps with the synthetic mixture and the essential oil registered adults up to 10 m away. The combination between the commercial pheromone with the synthetic mixture or the essential oil of flower buds presented adults at 60 m, as well as the individual pheromone. The synthetic mixture evaluated could improve with the addition of other pepper compounds.

Keywords: Releaser, pepper weevil, aggregation pheromone, kairomone, pest.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, quienes mediante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con la beca número 638598 financiaron mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por darme un espacio para mi formación profesional a través del posgrado de Fitosanidad: Entomología y Acarología.

Al Dr. Juan Cibrián Tovar, por sus sugerencias, disponibilidad de tiempo y aportaciones a este trabajo.

Al Dr. Julio César Velázquez González por su orientación en los análisis estadísticos, sugerencias y apoyo brindados durante la investigación.

A la Dra. María del Pilar Rodríguez Guzmán por sus observaciones a la investigación para la mejora del documento.

A los profesores investigadores del Colegio de Postgraduados, quienes fueron parte importante en mi formación académica durante mis estudios de maestría.

A la Junta Local de Sanidad Vegetal del Altiplano Centro de San Luis Potosí (JLSVAC), en particular a los ingenieros J. Guillermo Moreno Chávez, Hugo Moreno Monsiváis, así como a los productores del altiplano potosino por el apoyo para la obtención de frutos infestados con picudos.

DEDICATORIA

A mi madre **Abelina Hernández**: Por su motivación, su apoyo y sus consejos. Gracias por estar siempre ahí y enseñarme a nunca rendirme a pesar de las adversidades.

A mis abuelos, **Dominga Santos y Fortino Ramírez**: Por tanto cariño hacia mí, siempre los tengo presente.

A mis hermanos, **Salvador y Angel**: Por su apoyo en todo momento, por sus consejos. Gracias.

Este trabajo también es de ustedes....

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Planteamiento del problema	1
OBJETIVOS	3
General.....	3
Específicos	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Biología y hábitos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano	4
Distribución de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano	6
Importancia económica del cultivo de Chile.....	8
Muestreo y monitoreo del picudo de Chile en campo	9
Atracción de <i>Anthonomus eugenii</i> a compuestos volátiles de sus hospederos.....	12
LITERATURA CITADA	14
CAPITULO 1. LIBERADORES PARA LA EMISIÓN DE ATRAYENTES PARA <i>Anthonomus eugenii</i> Cano	20
RESUMEN.....	20
ABSTRACT.....	21
1.1. INTRODUCCIÓN.....	22
1.2. MATERIALES Y METODOS	23
1.2.1 Atrayentes	23
1.2.2 Liberadores	23
1.2.3 Experimento en campo.....	24
1.2.4 Colección de compuestos por aireación dinámica.....	24
1.2.5 Análisis cromatográfico de la muestra	25
1.2.6 Análisis estadístico.....	25
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
1.4. CONCLUSIONES.....	33
1.5. LITERATURA CITADA.....	34

CAPITULO 2. RANGO DE ATRACCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES PARA <i>Anthonomus eugenii</i> CANO	36
RESUMEN.....	36
ABSTRACT.....	37
2.1. INTRODUCCIÓN.....	38
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.2.1 Insectos.....	39
2.2.2 Compuestos	39
2.2.3 Experimentos en campo.....	41
2.2.4 Análisis estadístico.....	42
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
2.3.1 Experimento en campo durante el periodo septiembre-diciembre, 2018.....	43
2.3.2 Experimento en campo durante el periodo agosto-octubre, 2019.	49
2.4. CONCLUSIONES.....	53
2.5. LITERATURA CITADA.....	54
CONCLUSIONES GENERALES	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Adulto del picudo del chile <i>Anthonomus eugenii</i> Cano..	6
Figura 2. Adultos del picudo del chile (<i>Anthonomus eugenii</i>).....	9
Figura 3. Interacción entre <i>Anthonomus eugenii</i> y compuestos volátiles.....	13
Figura 4. Liberadores utilizados para determinar la volatilidad de los compuestos.....	23
Figura 5. Compuestos identificados en los liberadores BP después de 21 días de exposición en campo.....	26
Figura 6. Compuestos identificados en los liberadores TE después de 28 días de exposición en campo.....	27
Figura 7. Área de los compuestos obtenidos en el tratamiento BP durante 21 días de exposición en campo.....	28
Figura 8. Área de los compuestos obtenidos en el tratamiento TE durante 28 días de exposición en campo.....	29
Figura 9. Concentración de los compuestos en liberadores BP durante su exposición en campo.....	30
Figura 10. Concentración de los compuestos en liberadores TE durante su exposición en campo.....	31
Figura 11. Área de los compuestos de la feromona de agregación durante 28 días de exposición en campo.....	32
Figura 12. Sistema de arrastre de vapor para extracción del aceite esencial de botones florales del chile.	40
Figura 13. Promedio de picudos recapturados a cinco metros de distancia en 2018..	44
Figura 14. Promedio de picudos recapturados a 10 m de distancia en 2018.....	45
Figura 15. Promedio de picudos recapturados a 15 m de distancia en 2018.....	46
Figura 16. Promedio de picudos recapturados a 30 m de distancia en 2018.....	48
Figura 17. Promedio de picudos recapturados a 60 m de distancia en 2018.....	49
Figura 18. Promedio de picudos recapturados a cinco metros de distancia en 2019..	50
Figura 19. Promedio de picudos recapturados a 10 metros de distancia en 2019.....	51
Figura 20. Picudos recapturados a 15 metros de distancia en 2019.....	52

INTRODUCCIÓN GENERAL

Planteamiento del problema

Anthonomus eugenii es una de las plagas más importantes en el cultivo de chile (Daksina y Cliff, 2016; Labbé *et al.* 2018), por su amplia distribución y por qué genera los mayores gastos dentro del manejo fitosanitario. Los adultos se alimentan de yemas florales y frutos en desarrollo (Addesso *et al.* 2011), sin embargo, el daño es poco significativo comparado con el de las larvas, ya que estas, se desarrollan de manera endofítica, alimentándose de la placenta y semillas, lo que deriva en un daño severo al fruto. Al emerger, los adultos dañan las estructuras reproductivas de la planta provocando su abscisión y reducción en campo que varían entre 30 y 90 % de la producción si no se implementan medidas de acción oportunas (Campbell, 1924; Velazco, 1969; Seal y Martin, 2017).

Para su control se han utilizado métodos etológicos, biológicos y culturales (Riley y Schuster, 1994; Schuster, 2007; Addesso *et al.* 2014). Desafortunadamente el uso de insecticidas se ha empleado como la forma más efectiva para reducir las poblaciones de insectos (García-Nevárez *et al.* 2012; Avendaño-Meza, 2017). Además, el control se dificulta, debido a que los picudos se encuentran protegidos dentro del fruto, lo que les permite evadir cualquier aplicación química (Riley *et al.* 1992a; Labeé *et al.* 2018), logrando de esta forma sobrevivir para reinfestar el siguiente ciclo del cultivo. Derivado de la dificultad en el manejo de esta plaga, en México se realizan hasta 15 aplicaciones de insecticida por temporada en campo abierto (Avendaño-Meza *et al.* 2015; Avendaño-Meza, 2017), lo que sin duda genera efectos negativos para otros organismos como parasitoides, depredadores, polinizadores y para el ambiente.

Ante la problemática para el control de esta plaga se han buscado otras alternativas más efectivas y con un impacto mínimo al ambiente, como el uso de semioquímicos. Esta herramienta se ha utilizado para el monitoreo de diferentes especies del género *Anthonomus* como *A. musculus*, *A. grandis* y *A. rubi* (Szendrei *et al.* 2011; Magalhães *et al.* 2012; Wibe *et al.* 2014). Para el monitoreo del picudo del chile únicamente se ha utilizado la feromona de agregación; sin embargo, su efectividad en campo disminuye

conforme aparecen las primeras yemas, flores y frutos (Eller *et al.* 1994). Esto se debe a que los volátiles emitidos por las estructuras naturales atraen al insecto y por lo tanto compiten con la feromona de agregación colocada en las trampas.

En diferentes trabajos se han reportado compuestos sintéticos derivados de flores y frutos de Chile que atraen al insecto (Velázquez-González, 2011; Adesso *et al.* 2011; Muñiz-Merino *et al.* 2014), los cuales podrían ser empleados junto con la feromona para monitorear adultos de *A. eugenii* antes de la floración, después de la cosecha y cuando no hay cultivo. Se han estudiado diferentes dispositivos para la emisión de estos compuestos en laboratorio o invernadero, sin embargo no se han realizado evaluaciones en campo para estudiar la volatilidad de estas sustancias. Es por ello que en este trabajo se evaluaron en campo dos tipos de liberadores para la emisión de compuestos volátiles derivados de flores, botones florales y frutos. También se evaluaron diferentes atrayentes para estudiar el efecto de estas sustancias en la atracción de *A. eugenii*, lo que podría proporcionar información importante para mejorar el sistema actual de monitoreo y captura de esta plaga.

OBJETIVOS

General

Evaluar atrayentes sintéticos derivados de flores, botones florales y frutos de chile para la captura de *Anthonomus eugenii* en campo.

Específicos

1. Estudiar la liberación en campo de una mezcla de compuestos sintéticos en bolsas de polietileno y tubos de microcentrífuga.
2. Estudiar la liberación en campo de la feromona de agregación del picudo del chile en liberadores comerciales.
3. Evaluar el efecto de una mezcla sintética de compuestos del chile, aceite esencial de botones florales del chile y feromona de agregación para la atracción de *Anthonomus eugenii* en campo.
4. Evaluar el efecto de la feromona de agregación combinado con la mezcla sintética o aceite esencial para la atracción del picudo de chile hacia trampas.

HIPÓTESIS

Al menos uno de los tratamientos evaluados en campo provocará un efecto significativamente mayor sobre el número de adultos capturados de *Anthonomus eugenii*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Biología y hábitos de *Anthonomus eugenii* Cano

La biología y hábitos del picudo de Chile han sido ampliamente estudiados por diversos investigadores, es un insecto multivoltino ya que presenta múltiples generaciones por año, determinados principalmente por la disponibilidad de hospederos y las condiciones de temperatura. En algunos trabajos se reportan variaciones en el tiempo por generación, con las diferencias más grandes entre verano y otoño cuando las temperaturas son más variables. Bajo condiciones templadas, el picudo de Chile puede completar su ciclo durante tres semanas y en bajas temperaturas hasta seis semanas, mientras que en climas cálidos se presenta la generación más corta de aproximadamente 13 días (Elmore *et al.* 1934; Riley *et al.* 1992).

Este insecto tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas bajas por encima de cero, incluso puede vivir varias semanas sin alimento (Costello y Gillespie, 1993). El barrenillo de Chile, como también es conocido, conserva muchas características de otros miembros del género *Anthonomus*, tiene un desarrollo holometábolo debido a que presenta las etapas de huevo, larva, pupa y adulto. Las plantas hospederas utilizadas por esta plaga incluyen el género *Capsicum* y *Solanum*, ambas pertenecientes a la familia solanácea, sin embargo solo representan un problema en *Capsicum* spp. (Patrock *et al.* 1992). En ausencia de alimento, en parcelas de Chile en el altiplano potosino se han observado en plantas de tomatillo (*Physalis* spp), malezas de la especie trompillo (*Solanum nigrum*), hierba mora (*Solanum nigrum*) y malva (*Malva parviflora*), usadas como sitios de reproducción, alimentación o refugio, los cuales le permiten subsistir hasta el siguiente ciclo del cultivo de Chile.

Los huevos del picudo de Chile son depositados en yemas florales y frutos tiernos de entre 1.3 a 5.0 cm de diámetro, reportados como los preferidos por las hembras para la oviposición (Riley *et al.* 1992). La hembra realiza un orificio con el rostrum para depositar los huevos, después los cubren con una secreción anal de color marrón claro, el cual se oscurece y endurece después; solo necesitan copular una vez para quedar fértiles el resto de su vida, llegando a ovipositar entre 5 y 7 huevecillos por día, abarcando un

periodo de 5 a 7 días para la eclosión (Riley, 1995; Capinera, 2014). Los huevos son ovalados, pero pueden tomar la forma de la cavidad en que están situados, su superficie es lisa, correosa y flexible; de color blanco aperlado cuando están recién ovipositados, tornándose después de una tonalidad amarillenta; miden aproximadamente 0.5 mm de longitud y 0.4 mm de diámetro (Elmore *et al.* 1934).

Este insecto puede completar su desarrollo larval dentro del fruto, de la mayoría de los tipos y variedades de Chile, y al igual que *A. grandis*, el picudo de Chile también presenta tres instares larvales. Las larvas son ápodas, robustas y curvadas; recién eclosionadas miden de 0.8 a 1.5 mm de longitud (Riley, 1995; Capinera, 2005). Su cuerpo es de color blanco brillante, la cabeza es grande, de color blanco, con el extremo negro y las mandíbulas de color café (Elmore *et al.* 1934). Después de la muda, la larva mide de 1.3 a 2.6 mm de longitud, con la cabeza amarillo claro y las mandíbulas de color café o negro; el tercer estadio larval mide de 2.2 a 5.0 mm de longitud con un promedio de 3.3 mm, de color gris blancuzco, con la cabeza café y las mandíbulas negras (Capinera, 2005).

La etapa pupal comienza cuando la larva hace una cavidad ovalada dentro del fruto y su cuerpo comienza a acortarse y ensancharse, en este momento su color es blanco brillante. Pocas horas después, la pupa desecha su piel larval y sufre cambios de apariencia, los ojos se manchan y comienzan a mostrar un tinte amarillo. A los dos o tres días los ojos se oscurecen, el pico toma una coloración café amarillenta con el extremo negro y las antenas y élitros adquieren un color gris (Capinera, 2005; Ostojá-Starzewski y Anderson, 2016). La duración media de la etapa pupal es de 4.7 días, es decir un rango de tres a seis días (Capinera, 2014).

Recién emergidos los adultos son de color café claro, tornándose café oscuro y negro-grisáceo en dos o tres días (Wantuch y Kuhar, 2014), tienen el cuerpo ovalado y cubierto con pubescencia de color amarillo claro, principalmente sobre el pronoto y élitros (Figura 1). Miden de 2.0 a 3.5 mm de longitud, dos tercios del extremo de la tibia tiene una coloración anaranjada amarillenta. Los adultos tienen el pico característico de los picudos, las antenas son largas, delgadas y la clava oblonga, los élitros tienen surcos de punturas (Wantuch y Kuhar, 2014; Ostojá-Starzewski y Anderson, 2016). Una

característica de los adultos, es tirarse al suelo, simulando estar muertos, un comportamiento conocido como tanatosis, utilizada como estrategia defensiva cuando se sienten en situación de peligro.



Figura 1. Adulto del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano. Créditos: Jorge Valdez Carrasco, Colegio de Postgraduados (2018).

Distribución de *Anthonomus eugenii* Cano

El picudo de Chile es una de las principales plagas en Norteamérica, fue descrito por primera vez en Guanajuato, México (Cano y Alcacio, 1894), país al que se atribuye su procedencia por el origen del género *Capsicum* y al número de parasitoides presentes (Hernández-Verdugo, 1999; Rodríguez-Leyva *et al.* 2007; Van de Vossenbergh *et al.* 2019). Esta plaga es la principal causa de la utilización de insecticidas enfocadas a reducir las poblaciones de picudos para evitar pérdidas. En el territorio mexicano se encuentra presente en casi todas las regiones productoras de Chile, pero los mayores daños los causa en Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas, San Luis Potosí, Sonora, Guanajuato, Jalisco, Durango, Nayarit, Oaxaca y Veracruz (Gastélum-Luque *et al.* 2011).

El insecto se dispersó de México al estado de Texas en Estados Unidos, posteriormente a California, Florida, Nuevo México y Georgia (Riley *et al.* 1992), actualmente se encuentra en todo el sur de Estados Unidos, incluso dispersándose más al norte como en los estado de Virginia (Schultz y Kuhar, 2008) o Nueva Jersey (Ingerson-Mahar *et al.* 2015). La fuente de infestación al estado de Virginia es incierto, sin embargo su dispersión podría estar relacionado con los envíos de trasplantes de pimientos desde los estados del sur como Florida o California, mientras que la causa en Nueva Jersey aún se desconoce. En América Central se encuentra presente en Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá; en el caribe se ha reportado en Puerto Rico, República Dominicana y Jamaica (Abreu y Cruz, 1985; Andrews *et al.* 1986; Schuster, 2007), así como en la Polinesia Francesa (Hammes & Putoa, 1986).

Es muy difícil que este insecto se pueda encontrar en latitudes mayores, aunque con el desequilibrio en la temperatura global por efecto del cambio climático, se puede facilitar el establecimiento de especies que anteriormente no podían sobrevivir en climas invernales. En Canadá se registraron brotes de picudos en invernaderos de Columbia Británica en 1993 (Costello y Gillespie, 1993), así como en Ontario en 2010 (Ameen, 2010); sin embargo estos insectos fueron erradicados mediante una serie de medidas de higiene, modificación de las condiciones ambientales y aplicaciones químicas. Esta plaga se dispersó probablemente en frutos provenientes de importaciones de otros países como México o Estados Unidos, donde la plaga se encuentra presente.

En Europa, en los Países Bajos su presencia fue reportada por primera vez en 2012 (Van Der Gaag y Loomans, 2013), mientras que en el 2013 se encontraron infestaciones de *A. eugenii* atacando invernaderos y campos de la zona costera de Lazio, Italia (Speranza *et al.* 2014; Anonimo, 2018). Otro caso sucedió en Reino Unido, donde la plaga fue interceptada por primera vez en 2014. En esta ocasión, se encontró una larva y dos pupas en frutos frescos provenientes de Republica Dominicana; en 2015 se encontraron adultos vivos en frutos procedentes del mismo país (Ostojá-Starzewski y Anderson, 2016). A raíz de esto se han tomado una serie de medidas ante la posible introducción de la plaga al país, principalmente en los embarques de frutos procedentes

de países de Norteamérica y Centroamérica. Esta plaga también se puede encontrar en otras regiones productoras de pimiento como Australia, África y Asia (Seal y Martin, 2016).

Importancia económica del cultivo de chile

En México se cultivan alrededor de 157, 540 ha de chile distribuidas en la mayor parte del país, principalmente en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas y San Luis Potosí donde se producen las mayores superficies; en conjunto, estos estados contribuyen con más de la mitad del volumen nacional (SIAP, 2018). El picudo de chile es una de las plagas más devastadoras en este cultivo, se encuentra presente en cualquier zona donde se produce esta hortaliza. El daño primario es causado por las larvas, al alimentarse del interior del fruto, lo que provoca la disminución del rendimiento como resultado de la abscisión prematura de los frutos infestados, llegando a ocasionar pérdidas superiores al 50 % si no se realiza un control oportuno.

Los daños por esta plaga, generan anualmente pérdidas millonarias en el sur de Estados Unidos, México, Centroamérica, Hawaii y varias islas del Caribe (Rodríguez-Leyva *et al.* 2007). En nuestro país, las pérdidas ocasionadas por este insecto se estimaron entre 70 a 80 millones de pesos anuales (E. R. L., datos no publicados). En trabajos experimentales realizados en el valle de Culiacán, Sinaloa durante 2007 y 2008 se obtuvo 100% de pérdidas de frutos de chile serrano en parcelas sin tratar con insecticidas (Gastellum-Luque *et al.* 2011). En el mismo estado, durante 2008-2009 los daños ocasionados por el picudo del chile generaron pérdidas totales en 130 hectáreas, principalmente de chile bell. Aunado a esto, se presentaron daños entre 20 y 25% en una superficie de dos mil hectáreas de chiles y berenjenas, lo que significó una pérdida estimada en más de 50 millones de pesos.



Figura 2. Adultos del picudo del chile (*Anthonomus eugenii*). A) Adulto perforando frutos, B) Picudo sobre flores de chile.

Esta hortaliza se ubica dentro de los principales alimentos en la gastronomía mexicana, con un consumo anual per cápita de 18.1 kg; alrededor del 75 % es destinado al consumo en fresco y el 25 % restante es aplicado a deshidratación o al mercado en proceso (SIAP, 2018; SAGARPA, 2018). Su producción genera importantes fuentes de empleo, además aporta ingresos a productores por su comercialización. En la actualidad, México se sitúa como líder mundial en la exportación de chiles y pimientos, para el 2030 se estima un aumento en la demanda mundial de 6.30 a 8.10 mil millones de toneladas (Caro-Encalada *et al.* 2014; SAGARPA, 2018). Ante tal escenario es esencial buscar alternativas para mitigar los daños ocasionados por *A. eugenii*, ya que su control se realiza mediante aplicaciones químicas, lo cual conlleva severos daños a la salud de productores, consumidores, fauna benéfica y al ambiente.

Muestreo y monitoreo del picudo de chile en campo

Diferentes estrategias de muestreo han sido exploradas para determinar los niveles de infestación de *A. eugenii* en cultivares de chile. En investigaciones realizadas por Andrews *et al.* 1986 se menciona que la inspección de yemas terminales para la detección de adultos de barrenillo del chile fue una herramienta eficaz para la predicción de las infestaciones posteriores. El mismo autor reportó que el conteo de frutos caídos

resulta inaceptable para estimar las poblaciones de adultos de *A. eugenii*. Por su parte, Cartwright *et al.* 1990 propusieron el conteo de frutos dañados por alimentación u oviposición como un método para determinar la presencia del picudo en campo, sin embargo, resulta complicado y confuso por que se podría contabilizar daños en frutos viejos.

La utilización de charolas de agua con detergente o redes entomológicas de barrido se han empleado dentro de estas estrategias, el primero demostró ser ineficiente para el muestreo de adultos del picudo de chile, mientras que el segundo resultó extremadamente dañino para las plantas de chile (Segarra-Carmona y Pantoja, 1988). La observación directa en yemas terminales es un método eficaz para la predicción de daños (Andrews *et al.* 1986), no obstante resulta laborioso debido a que consume mucho tiempo, además implica tomar en cuenta la hora de muestreo ya que algunos investigadores han documentado mayor presencia de adultos en la mañana que por la tarde.

Las primeras investigaciones sobre métodos de trampeo para *A. eugenii* se realizaron por Segarra-Carmona y Pantoja (1988), quienes demostraron la efectividad de trampas amarillas pegajosas en la estimación de los niveles de densidad del picudo del chile. Los resultados de Riley y Schuster (1994) también mostraron una mayor atracción del picudo de chile por el color amarillo; en su investigación encontraron mejores resultados con trampas colocadas entre 10 y 60 cm por encima del suelo. Estos autores indican que una trampa de 375 cm² captura tantos adultos como los detectados por la inspección de 50 brotes de chile. De acuerdo a estas investigaciones, resultó más eficiente y económico la utilización de trampas amarillas como alternativa para el monitoreo del picudo de chile.

Basados en observaciones de laboratorio y campo, Coudriet y Kishaba (1988) sugirieron que los machos de *A. eugenii* podrían producir una sustancia atractiva para las hembras, como ocurre en otros curculionidos. Al evaluar trampas con insectos de *A. eugenii*, flores y frutos de chile en campo, Patrock *et al.* (1992) observaron mayores capturas de adultos de la misma especie en las trampas con machos que con hembras o el testigo. El primer reporte sobre la identificación de la feromona fue realizado por Eller

et al. (1994), quienes informaron la composición de este atrayente. Cuatro de los seis compuestos son compartidos con la feromona de *A. musculus* (Szendrei *et al.* 2011), tres con la de *A. grandis* (Tumlinson *et al.* 1969; Tumlinson *et al.* 1971; Dickens y Prestwich, 1989) y uno con la de *A. rubi* (Innocenzi *et al.* 2001), sin embargo la concentración emitida es diferente.

La liberación de la feromona del picudo del chile aumenta con la edad del adulto hasta alrededor de los 15 días de edad y luego disminuye (Eller y Palmquist, 2014). Esta liberación está influenciada por factores ambientales y mecanismos fisiológicos del insecto, tales como el ritmo circadiano, la temperatura, la presencia de fuentes de alimento y la edad de los insectos (Piñero y Ruiz-Montiel, 2012). Los machos de *A. eugenii* liberan alrededor de 8 µg/día, mientras que para *A. grandis* se han reportado liberaciones de 4.2 µg/ día (Eller *et al.* 1994; Eller y Palmquist, 2014). La eficiencia de la feromona es alta debido a que ejerce un efecto a distancias muy lejanas de donde son producidos, sin embargo, la distancia máxima sobre la cual los insectos pueden detectar esta sustancia no se ha reportado para la mayoría de los curculionidos.

Debido a los altos costos de producción y duración limitada en campo, nuevas formulaciones de la feromona del picudo de chile han sido evaluadas. Bottenberg y Lingren, 1998 reportaron una proporción con mayor duración en campo que la feromona previamente comercializada. Dentro de las estrategias de monitoreo, el uso de trampas amarillas con la feromona de agregación ha demostrado ser eficiente para la captura de insectos (Eller *et al.* 1994; Riley y Schuster, 1994; Sunil *et al.* 2014); sin embargo, su efectividad en campo disminuye con la presencia de flores y frutos de chile (Patrock *et al.* 1992; Eller *et al.* 1994). Estas observaciones sugirieron que la feromona de agregación del picudo de chile no era el único semioquímico responsable en la interacción con las plantas de chile, tal como sucede en otros insectos; esto abrió las puertas para el estudio de la ecología química de las plantas hospederas de esta plaga.

Atracción de *Anthonomus eugenii* a compuestos volátiles de sus hospederos

El picudo de Chile puede detectar y orientarse hacia su planta huésped utilizando los volátiles que estas emiten (Osorio, 2006; Adesso y McAuslane, 2009; Velázquez-González, 2011). En particular, el insecto responde a los olores liberados por Chile serrano (*C. annuum*), hierbamora (*S. americanum*), y berenjena (*S. melongena*) (Adesso y McAuslane, 2009). Al menos 14 compuestos son liberados por estas plantas durante la floración y fructificación (Adesso *et al.* 2011), etapas en las que son más atractivas para los adultos de este insecto. Entre los compuestos principales destacan el E- β -ocimeno, Z- β -ocimeno y Z-3-hexenil acetato; sin embargo en la atracción, además del estímulo químico, la percepción visual podría estar involucrada en la atracción de esta plaga.

Existen algunos ejemplos que ilustran el papel de los estímulos en la interacción entre plantas e insectos, en el caso de curculionidos la información sobre la ecología visual es escasa (Hausmann *et al.* 2004; Reddy y Raman, 2011; Mayfield y Brownie, 2012). Algunos insectos localizan a su hospedero por los compuestos volátiles que se liberan y por la feromona emitida por otros insectos a larga distancia (Reeves, 2011). En *Hylobius warreni* la atracción se debe a los volátiles liberados por la planta hospedera, pero la selección específica es determinada por la silueta vertical del árbol (Machial *et al.* 2012). Para *A. grandis*, el color cobra importancia a corta distancia en un rango de 500-525 nm (Mitchell y Hardee, 1976), mientras que para *A. musculus* la reflectancia abarca entre 530-700 nm (Silva *et al.* 2018). Estos resultados son una clara evidencia de que las señales visuales dentro de la familia Curculionidae podrían ser un factor importante para la ubicación del huésped, por lo que sería esencial su integración en futuros estudios de comportamiento de insectos.

Es posible que los adultos de *A. eugenii* ubiquen inicialmente las plantas de Chile por los volátiles desprendidos de las plantas, como sucede con *A. grandis* (Tumlinson *et al.* 1969; Magalhães *et al.* 2012), los cuales al combinarse con la feromona liberada por los adultos al alimentarse de las estructuras reproductivas de la planta faciliten la llegada de otros picudos. En experimentos de laboratorio, se han evaluado mediante olfatometría diversas mezclas de compuestos sintéticos liberados por flores y frutos de Chile con

adultos de *A. eugenii*, con la finalidad de identificar un atrayente que permita mejorar el sistema de monitoreo. Los resultados de este trabajo demostraron que la combinación entre los compuestos sintéticos y la feromona de agregación mejoran la atracción del insecto (Muñiz-Merino *et al.* 2014). Esto significa que, al usar una mezcla de estos tratamientos, se atraen más gorgojos que la suma de los tratamientos individuales. Este sinergismo se ha documentado en otros curculiónidos (Borden *et al.* 2008; Etxebeste *et al.* 2012), en donde se ha obtenido un aumento en la atracción de los insectos.

En diferentes trabajos se han reportado atrayentes de curculiónidos a base de compuestos aislados de plantas hospederas, de feromonas de agregación o de combinaciones de ambos. Estas estrategias se han empleado con éxito para el monitoreo de diferentes insectos (Szendrei *et al.* 2011; Wibe *et al.* 2014; Figueroa-Castro *et al.* 2016). En el caso de *A. grandis*, también se ha reportado una atracción hacia los volátiles de los aceites extraídos de las plantas hospederas (Thompson *et al.* 1970; McKibben *et al.* 1977). Para *A. eugenii*, únicamente se ha utilizado la feromona de agregación junto con trampas amarillas para la captura de adultos en campo, por lo que la combinación entre los volátiles de sus hospederos y la feromona de agregación podrían mejorar las capturas de esta plaga. En la figura 3, se muestra la interacción entre *A. eugenii* y sus plantas hospederas.

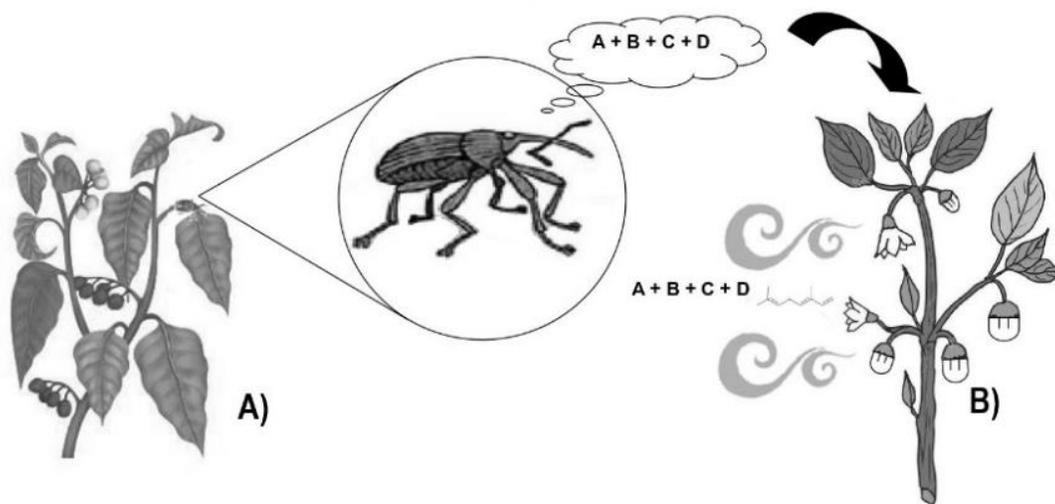


Figura 3. Interacción entre *Anthonomus eugenii* y compuestos volátiles. A) Hospedero alternativo (*Solanum americanum*), B) hospedero principal (*Capsicum annuum*). a) E-□-ocimeno, b) Z-□-ocimeno, c) Z-3-hexenil-acetato, d) 2-isobutil-3-metoxipirazina.

LITERATURA CITADA

- Abreu E. and C. Cruz. 1985. The occurrence of the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 62 (2): 223- 224.
- Andrews K. L., A. Rueda, G. Gandini, S. Evans, A. Arango and M. Avedillo. 1986. A supervised control programme for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano, in Honduras, Central America. Tropical Pest Management 32: 1-4.
- Addesso K. M. and H. J. McAuslane. 2009. Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. Environmental Entomology 38 (1): 216-224.
- Ameen, A. 2010. Pest Categorization, *Anthonomus eugenii*, pepper weevil. Plant health risk assessment unit, Canadian Food Inspection Agency.
- Addesso K. M., H. J. McAuslane and H. T. Alborn. 2011. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 138 (1): 1-11.
- Addesso K. M., P. A. Stansly, B. C. Kostyk and H. G. McAuslane. 2014. Organic treatments for control of pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). Florida Entomologist 97 (3):1148-1156.
- Avendaño-Meza F., S. Parra-Terraza, J. L. Corrales-Madrid y P. Sánchez-Peña. 2015. Resistencia a insecticidas en tres poblaciones de picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano) en el estado de Sinaloa, México. Fitosanidad. 19 (3): 193-199.
- Avendaño-Meza, F. 2017. Efectividad biológica de insecticidas para el manejo de la resistencia del picudo del chile. Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias 6 (11): 23-38.
- Anonimo, 2018. Relazione sull'infestazione da *Anthonomus eugenii* (Cano) nel territorio Laziale (2013–2018). Disponibile en: http://www.agricoltura.regione.lazio.it/binary/prtl_sfr/tbl_misure/ANTHEU_REL_2013_2018.pdf.
- Bottenger, H. and B. Lingren. 1998. Field performance of a new pepper weevil pheromone formulation. Proceeding of the Florida State Horticultural Society 111:48-50.
- Borden J. H., D. S. Pureswaran and J. P. Lafontaine. 2008. Synergistic blends of monoterpenes for aggregation pheromones of the mountain pine beetle (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economic Entomology 101 (4): 1266-1275.
- Coudriet D. L. and A. N. Kishabah. 1988. Bioassay procedure for an attractant of the pepper weevil, (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economic Entomology 81: 1499- 1502.

- Costello, R. A. and D. R. Gillespie. 1993. The pepper weevil, *Anthonomus eugenii* as a greenhouse pest in Canada. Bull. SROP 16: 31-34.
- Campbell, R. E. 1924. Injuries to pepper in California by *Anthonomus eugenii* Cano. Journal of Economic Entomology 17: 645-647.
- Cano and D. Alcacio, 1984. El barrenillo. La naturaleza. 2: 377-379.
- Cartwright B., T.G. Teague, L.D. Chandler, J. V. Edelson and G. Bentsen. 1990. An action threshold for the management of the pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) on peppers. Journal of Economic Entomology 83: 2003-2007.
- Capinera, J. L. 2005. Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). IFAS Extension Report EENY278. University of Florida. Gainesville, FL.
- Capinera, J. L. 2014. Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). EENY-278, Featured Creatures, Entomology and Nematology Dept., Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 6 Oct 2014. (<http://edis.ifas.ufl.edu/in555>).
- Caro-Encalada, M., C. Leyva-Morales y J. Ríos-Santana. 2014. Competitividad mundial de la producción de chile verde de México. Revista de Economía 21 (83): 95-128.
- Dickens, J. C. and G. C. Prestwich. 1989b. Differential recognition of geometric isomers by the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae): evidence for only three essential components in aggregation pheromone. Journal of Chemical Ecology 15: 529-540.
- Daksina, R. S. and G. M. Cliff. 2016. Pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) preferences for specific pepper cultivars, plants parts, fruit colors, fruit sizes and timing. Insects 7(1): 1-19.
- Elmore, J. C., A. C. Davis and R. E. Campell. 1934. The pepper weevil. Washington D. C. United States Department of Agriculture, No. 447. 28 pp.
- Eller F. J., R. J. Bartelt, B. S. Shasha, D. J. Schuster, D. G. Riley, P. A. Stansly, T. F. Mueller, K. D. Shuler, B. Johnson, J. H. Davis and C. A. Sutherland. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): Identification and field activity. Journal of Chemical Ecology 20 (7): 1537-1555.
- Etxebeste I., G. Álvarez, G. Pérez and J. A. Pajares. 2012. Field response of the six-toothed pine bark beetle, *Ips sexdentatus* (Col.: Curculionidae, Scolytinae), to pheromonal blend candidates. Journal of Applied Entomology 136: 431-444.
- Eller F. J. and D. E. Palmquist. 2014. Factors affecting pheromone production by the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) and collection efficiency. Insects 5 (4): 909-920.

- Figuroa-Castro P., H. Rodríguez-Rebollar, H. González-Hernández, J. F. Solís-Aguilar, J. I. Del Real-Laborde, J. L. Carrillo-Sánchez and J. C. Rojas. 2016. Attraction range and inter-trap distance of pheromone baited traps for monitoring *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Dryophthoridae) on blue agave. *Florida Entomologist* 99 (1): 94-99.
- Gastélum-Luque R., M. López-Meza, T. P. Godoy-Angulo y P. H. Caro-Macías. 2011. Estrategias para el manejo del picudo o barrenillo del chile. *Revista digital. Editorial Agro Cultivos S.C. de R.L. de C.V.*
- García-Nevárez G., M. Campos-Figueroa, N. Chávez-Sánchez and F. J. Quiñones-Pando. 2012. Efficacy and of biorational and conventional insecticides against the Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) in the South Central Chihuahua. *Southwestern Entomologist* 37 (3): 391-401.
- Hammes, C and R. Putoa. 1986. Catalogue des insectes et acariens d'interet agricole de Polynesie Francaise. *Notes et documents Entomologie Agricole* 2, 24.
- Hernández-Verdugo S., A. P. Dávila y K. Oyama. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del genero *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 65–84.
- Hausmann, C., J. Samietz and S. Dorn. 2004. Visual orientation of overwintering *Anthonomus pomorum* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 33 (5): 1410-1415.
- Innocenzi, P. J., D. R. Hall and J. V. Cross. 2001. Components of male aggregation pheromone of strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* Herbst. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology* 27:1203-1218.
- Ingerson-Mahar, J., B. Eichinger and K. Holmstrom. 2015. How does pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) become an important pepper pest in New Jersey. *Journal of Integrated Pest Management* 6 (1): 23.
- Labeé, R. M., R. Hilker, D. Gagnier, C. McCreary, G. A. P. Gibson, J. Fernández-Triana, P. G. Mason and T. D. Gariepy. 2018. Natural enemies of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) in Canada. *Canadian Entomologist* 150: 404–411.
- Mitchell, E. B. and D. D. Hardee. 1976. Boll weevils: attractancy to pheromone in relation to distance and wind direction. *Journal of the Georgia Entomological Society* 1: 113-117.
- McKibben G. H., E. B. Mitchell, W. P. Scott and P. A. Hedin. 1977. Boll weevils are attracted to volatile oils from cotton plants. *Environmental Entomology* 6 (6): 804-806.
- Magalhães D. M., M. Borges, R. A. Laumann, E. R. Sujii, P. Mayon, J. C. Caulfield, C. A. Midega, Z. R. Khan, J. A. Pickett, M. A. Birkett and M. C. Blassioli-Moraes. 2012. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Journal of Chemical Ecology* 38 (12):1528-1538.

- Machial, L. A., B. S. Lindgren and H. Aukema. 2012. The role of vision in the host orientation behaviour of *Hylobius warreni*. *Agricultural and Forest Entomology* 14: 286–294.
- Mayfield, A. E. and C. Brownie. 2012. The redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) uses stem silhouette diameter as a visual host-finding cue. *Environmental Entomology* 42 (4): 743–750.
- Muñiz-Merino M., J. Cibrián-Tovar, C. Hidalgo-Moreno, N. Bautista-Martínez, H. Vaquera-Huerta y C. Aldama-Aguilera. 2014. Compuestos volátiles atraen al picudo (*Anthonomus eugenii* Cano) del chile (*Capsicum* spp.) y presentan sinergia con su feromona de agregación. *Agrociencia* 48 (8): 819-832.
- Osorio, C. J. 2006. Comportamiento y respuesta hacia atrayentes de adultos del picudo de chile, *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae). Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México, p. 57.
- Ostojá-Starzewski, J. C. and H. Anderson. 2016. Pepper weevil: *Anthonomus eugenii*. Plant Pest Factsheet. Department for Environment Food & Rural Affairs.
- Patrock, R. J., D. J. Schuster and E. R. Mitchell. 1992. Field evidence for an attractant produced by the male pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 75: 138-144.
- Piñero, J. y C. Ruiz-Montiel. 2012. Temas selectos en Ecología Química de Insectos. J. Rojas and E. Malo. Chap. Ecología Química y Manejo de Picudos (Coleóptera: Curculionidae) de Importancia Económica, pp. 361–400.
- Riley, D. G., D. J. Schuster and C.S. Barfield. 1992a. Sampling and dispersion of pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) adults. *Environmental Entomology* 21 (5): 1013–1021.
- Riley D. G. and D. J. Schuster. 1994. Pepper weevil adult response to colored sticky traps in pepper fields. *Southwestern Entomologist* 19: 93-107.
- Riley, D. G. 1995. The pepper weevil and its management. Texas Agricultural Extension. The Texas A & M University System. College Station, Texas. 5 pp.
- Rodriguez-Leyva, E., P. A. Stansly, D. J. Schuster and E. Bravo-Mosqueda. 2007. Diversity and distribution of parasitoids of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) from México and prospects for biological control. *Florida Entomologist* 90 (4): 693-702.
- Reeves, J. L. 2011. Vision should not be overlooked as an important sensory modality for finding host plants. *Environmental Entomology* 40 (4): 855-863.
- Reddy, G. V. P. and A. Raman. 2011. Visual cues are relevant in behavioral control Measures for *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 104 (2): 436- 442.
- Schultz, P. B. and T. P. Kuhar. 2008. First record of pepper weevil infestation in Virginia. Plant Management Network, Plant Health Progress, 0118-01.

- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México (SIAP). 2018. Anuario estadístico de la producción agrícola. Recuperado el 27 de Abril de 2018 de www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado.
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2018. Planeación agrícola nacional 2017-2030. Recuperado el 16 de Octubre de 2018 de www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257072/Potencial-Chiles_y_Pimientos_parte_uno.pdf.
- Segarra-Carmona, A. E. and A. Pantoja. 1988. Evaluation of relative sampling methods for population estimation of the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Agriculture, University of Puerto Rico* 72: 387-393.
- Schuster, D. J. 2007. Suppression of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) pepper fruit infestation with releases of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Biocontrol Science and Technology* 17 (4): 345-351.
- Szendrei, Z., A. Averill, H. Alborn and C. Rodriguez-Saona. 2011. Identification and field evaluation of attractants for the cranberry weevil, *Anthonomus musculus* Say. *Journal of Chemical Ecology* 37 (4): 387-397.
- Speranza, S., E. Colonnelli, A. P. Garonna and S. Laudonia. 2014. First record of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) in Italy. *Florida Entomologist* 97: 844–845.
- Sunil, T., T. C. Leskey, A. L. Nielsen, J. C. Piñero and C. R. Rodriguez-Saona. 2014. Chapter 9 - Use of Pheromones in Insect Pest Management, with Special Attention to Weevil Pheromones. in *Integrated Pest Management*, ed. D.P. Abrol, Academic Press, San Diego, pp. 141-168.
- Seal, D. R. and C. G. Martin. 2016. Pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) preferences for specific pepper cultivars, plant parts, fruit colors, fruit sizes, and timing. *Insects* 7 (1): 9.
- Seal, D. R. and C. G. Martin. 2017. Laboratory rearing of pepper weevils (Coleoptera: Curculionidae) using artificial leaf balls and a boll weevil diet. *Journal of Entomological Science* 52 (4): 395-410.
- Silva, D., J. Salamanca, V. Kyryczenko-Roth y C. Rodriguez-Saona. 2018. Comparison of trap types, placement, and colors for monitoring *Anthonomus musculus* (Coleoptera: Curculionidae) adults in highbush blueberries. *Journal of Insect Science* 18 (2): 1-9.
- Tumlinson, J. H., D. D. Hardee, R. C. Gueldner, A. C. Thompson, P. A. Hedin and J. P. Minyard. 1969. Sex pheromones produced by male boll weevil: Isolation, identification and synthesis. *Science* 166 (3908): 1010-1012.

- Thompson, A. C., B. J. Wright, D. D. Hardee, R. C. Gueldner and P. A. Hedin. 1970. The attractancy response of the boll weevil to the essential oils of a group of host and nonhost plants. *Journal of Economic Entomology* 63 (3): 751–753.
- Tumlinson, J. H., R. C. Gueldner, D. D. Hardee, A. C. Thompson, P. A. Hedin and J. P. Minyard. 1971. Identification and synthesis of the four compounds comprising the boll weevil sex attractant. *Journal of Organic Chemistry* 36: 2616-2621.
- Velasco, P. H. 1969. Evaluación de pérdidas, preferencia de oviposición del picudo barrenillo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano). Efectividad de varios insecticidas y reacción de diferentes variedades a su ataque. *Agricultura Técnica en México* 2 (11): 449-567.
- Velázquez-González, J. C. 2011. Compuestos volátiles que median la interacción entre *Anthonomus eugenii* Cano y *Capsicum annum*, Tesis de doctorado en ciencias en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. pp. 1-59.
- Van Der Gaag, D. J. and A. Looman. 2013. Pest risk analysis for *Anthonomus eugenii*. Version 3.0. Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority, Utrecht, 64 pp.
- Van de Vossenbergh, B. T. L. H, T. Warbroek, J. Ingerson-Mahar, C. Waalwijk, L. P. Van der Gouw, B. Eichinger and A. J. M. Loomans. 2019. Tracking outbreak populations of the pepper weevil *Anthonomus eugenii* (Coleoptera; Curculionidae) using complete mitochondrial genomes. *Plos One* 14 (8): 1-15.
- Wibe, A., A. K. Borg-Karlon, J. Cross, H. Bichao, M. Fountain, I. Liblikas and L. Sigsgaard. 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.
- Wantuch, H. and T. Kuhar. 2014. Pepper weevil. Virginia Cooperative Extension. Department of Entomology, Virginia State University.

CAPITULO 1. LIBERADORES PARA LA EMISIÓN DE ATRAYENTES PARA *Anthonomus eugenii* Cano

RESUMEN

El uso de compuestos volátiles del chile podría mejorar las prácticas de control del picudo de chile, principal plaga en este cultivo. Diferentes sustancias han sido identificadas en flores, botones florales y frutos; estas se han evaluado en experimentos de laboratorio, donde han mostrado potencial de atracción para *Anthonomus eugenii*; sin embargo no se cuenta con un dispersor efectivo para la liberación de estas moléculas. El objetivo de este apartado fue estudiar la liberación de una mezcla sintética del chile en bolsas de polietileno y tubos de microcentrífuga, así como la liberación de la feromona de agregación de *A. eugenii* en dispersores comerciales. Para la mezcla sintética, cada dispositivo se cargó con 500 mg de Z-3-hexenil-acetato (25 %), E- β -Ocimeno (53 %), Z- α -ocimeno (6 %), Terpinoleno (13 %) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (3 %) diluidos en aceite mineral. La liberación de los componentes se determinó a partir del análisis cromatográfico de los compuestos extraídos por aireación dinámica cada semana durante 28 días. Las bolsas de polietileno presentaron las áreas más altas reteniendo los compuestos por 21 días, mientras que en los tubos de microcentrífuga los compuestos permanecieron por 28 días o más. Cinco de los componentes de la feromona de agregación permanecieron durante 28 días de exposición, mientras que el ácido geránico llegó a niveles no detectables a partir de los 15 días. Los tubos de microcentrífuga podrían funcionar como dispersores para la mezcla sintética en evaluaciones de campo para estudiar la atracción del picudo del chile.

Palabras clave: Volátiles, mezcla sintética, aireación dinámica, solvente.

ABSTRACT

The use of volatile compounds of pepper could improve the control practices of pepper weevil, the main pest in this crop. Different substances have been identified in flowers, flower buds and fruits; these have been evaluated in laboratory experiments, where they have shown potential for attraction to *Anthonomus eugenii*; however, there is no effective disperser for the release of these molecules. The objective of this section was to study the release of a synthetic mixture of pepper in polyethylene bags and microcentrifuge tubes, as well as the release of the aggregation pheromone of *A. eugenii* in commercial dispersers. For the synthetic mixture, each device was loaded with 500 mg of Z-3-hexenyl acetate, E- β -Ocimene (53%), Z- α -ocimene (6%), Terpinolene (13%) and 2-Isobutyl -3-methoxypyrazine (3%) diluted in mineral oil. The release of the components was determined from the chromatographic analysis of the compounds extracted by dynamic aeration every week for 28 days. Polyethylene bags had the highest areas retaining the compounds for 21 days, while in the microcentrifuge tubes the compounds remained for 28 days or more. Five of the aggregation pheromone components remained for 28 days of exposure, while geranic acid reached levels not detectable after 15 days. Microcentrifuge tubes could function as dispersers for synthetic mixing in field evaluations to study the attraction of pepper weevil.

Key words: Volatile, synthetic blend, dynamic aeration, solvent.

1.1. INTRODUCCIÓN

El picudo de chile afecta tanto a chile dulce como picante, generando importantes pérdidas de producción en las zonas donde el insecto se encuentra presente. Esta plaga se distribuye en todo el territorio mexicano y otras partes del continente americano (EPPO, 2019); para su control se han utilizado diferentes estrategias, las cuales no han logrado controlar los daños ocasionados por el insecto. En la actualidad, el uso de semioquímicos se ha empleado como una alternativa enfocada al manejo del comportamiento de insectos plaga. Estos compuestos al ser emitidos por un organismo inducen una respuesta conductual o fisiológica en individuos de su propia especie o de alguna otra (El-Shafie y Faleiro, 2017). Debido a su modo de acción, estas sustancias han adquirido importancia en el monitoreo y control de plagas agrícolas.

En las plantas hospederas de *A. eugenii* se han identificado una serie de compuestos volátiles, tanto en *Capsicum* spp. como en *Solanum americanum* (Addesso *et al.* 2009; Muñoz-Merino *et al.* 2014), las cuales tienen potencial para ser utilizadas como atrayentes para este insecto. Estos compuestos han sido evaluados en pruebas de laboratorio con adultos de *A. eugenii*; estos resultados podrían ser empleados para diseñar algún método de control basado en el uso de semioquímicos. Para la implementación de esta estrategia, es necesario contar con un dispositivo que permita una liberación controlada de las sustancias de interés durante un largo periodo de tiempo (Heuskin *et al.* 2011; Metter-Cecilie *et al.* 2019).

Diferentes tipos de liberadores se han evaluado para el picudo del chile, sin embargo, como las moléculas involucradas en la comunicación química son tan diversas, con frecuencia es necesario la búsqueda de nuevos dispersores o la evaluación de los dispositivos disponibles (Muñoz-Merino, 2013). Los materiales utilizados incluyen, bolsas y tubos de polietileno, septos de caucho y viales de diversos tipos. Materiales similares podrían ser empleados para la emisión de atrayentes del picudo del chile, si permiten liberar los compuestos durante un mayor tiempo. En este trabajo se estudió la liberación en campo de una mezcla de compuestos sintéticos del chile en bolsas de polietileno y tubos de microcentrífuga, así como la liberación de la feromona de agregación del picudo del chile en dispersores comerciales.

1.2. MATERIALES Y METODOS

1.2.1 Atrayentes

Se emplearon los compuestos Z-3-hexenil-acetato (25 %), E- β -ocimeno (53 %), Z- α -ocimeno (6 %), Terpinoleno (13 %) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (3 %); como solvente se utilizó aceite mineral (Herschi Trading®). El E- β -ocimeno se adquirió en la empresa CHEMOS (Regenstauf, Alemania) y el resto de los compuestos en Sigma-Aldrich (Toluca, Estado de México, México). Los componentes de la feromona de agregación: (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (48 %), (E)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (32 %), (Z)-(3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldehído (3 %), (E)-3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldehído (2 %) y (E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol (2 %) y (E)-ácido 3,7-dimetil-2,6-octadienoico (13 %), fueron adquiridos en Bedoukian Research In®.

1.2.2 Liberadores

Para la mezcla sintética se utilizaron dos tipos de liberadores (Figura 4): bolsas de polietileno de 1000 μ m de espesor de 10.5 x 4 cm, además de tubos de microcentrífuga (Sigma aldrich®) de 1.5 ml con un orificio en la tapa de 1 mm. Cada liberador fue cargado con 500 mg de la mezcla de los cinco compuestos sintéticos, diluidos en aceite mineral hasta completar un volumen final de 1 ml. Los tubos de microcentrífuga se cerraron con sus respectivas tapas y las aberturas de las bolsas de polietileno fueron selladas con calor después de introducir los compuestos. Para la feromona de agregación se emplearon tubos de microcentrífuga (atrayerente alimenticio) y septos de caucho (feromona de agregación) utilizadas comercialmente.



Figura 4. Liberadores utilizados para determinar la volatilidad de los compuestos. A) tubos de microcentrífuga, B) bolsas de polietileno, C) tubos de microcentrífuga (atrayerente alimenticio) y D) septos de caucho (feromona de agregación).

1.2.3 Experimento en campo

El experimento se estableció en una parcela ubicada en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, municipio de Texcoco, México (19.462460; -98. 902115), entre agosto y septiembre de 2018. Como tratamientos se utilizaron: a) bolsas de polietileno (mezcla sintética), b) tubos de microcentrífuga (mezcla sintética), c) septos de caucho (feromona de agregación) y d) tubos de microcentrífuga (atrayente alimenticio). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Cada liberador quedó suspendido a través de un alambre sobre estacas a una altura de 1.5 m, distribuidas a 20 m de distancia entre cada tratamiento. Durante este tiempo se registraron los datos de temperatura, precipitación y velocidad del viento obtenidas de la estación automática GroWeather del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. En los días 1, 7, 14, 21 y 28 días, los volátiles de cada liberador se colectaron mediante aireación dinámica.

1.2.4 Colección de compuestos por aireación dinámica

Cada liberador se colocó en un frasco cilíndrico de vidrio con cuello esmerilado 29/42 de 21 cm de alto, 6 cm de diámetro interno y 500 mL de capacidad (Pyrex®). El frasco tenía un tapón esmerilado (2942), con dos tubos de cristal a los cuales se les colocó una manguera Nalgene (3/16 ID), por donde se hizo pasar aire con una bomba Elite 802 con un flujo de 60 mL/min, regulado con un flujómetro (Gilmont®). Tres frascos se colocaron a un mismo tiempo para cada liberador, en cada punto de ingreso del aire se colocó una pipeta pasteur de 150 mm (Brand®) empacado con 50 mg de adsorbente Tenax TA 60/80 (Sigma Aldrich®), el cual fungió como filtro. Otro cartucho con Tenax, se colocó en línea, a la salida de cada frasco, para la colecta de los compuestos provenientes del dispersor, con un tiempo de captura de 3 horas (Muñiz-Merino, 2013). Los volátiles capturados en cada cartucho se eluyeron con 4 mL de hexano grado HPLC y se llevaron a una concentración de 100 µl mediante una corriente suave de nitrógeno. La solución resultante se colocó en viales color ambar de 3 mL (Agilent-Technologies®) y se almacenó a - 4 ° C hasta su análisis por cromatografía de gases.

1.2.5 Análisis cromatográfico de la muestra

De cada muestra concentrada (obtenidas por aireación dinámica) se inyectó 1 μL a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard (5890) con detector de ionización de llama (GC-FID). Las condiciones de Cromatografía de Gases fueron: nitrógeno como gas acarreador, con un flujo de 1 mL min^{-1} , la temperatura del detector y del inyector fue de 250°C . Las condiciones de corrida fueron: temperatura inicial de 40°C estable por 5 min, luego aumentó $5^\circ \text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar 100°C , después aumentó $10^\circ \text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar 210°C manteniéndolo por 5 min, con un tiempo de total de corrida de 33 min. La identificación y confirmación de los compuestos se obtuvieron mediante comparación con los tiempos de retención de los estándares comerciales. La cuantificación se realizó por el método del estándar externo, mediante curvas de calibración a 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ppm, todas las curvas tuvieron valores superiores a 0.99.

1.2.6 Análisis estadístico

Las áreas de los compuestos obtenidos del análisis cromatográfico se sometieron a un análisis de varianza y a una comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS ver. 9.0 (SAS Institute Inc, 2002) para determinar si existía diferencia significativa entre los liberadores evaluados.

1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a las áreas obtenidas en los compuestos, se encontró que el tipo de liberador influye en las tasas de liberación, presentando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos utilizados. De acuerdo al análisis cromatográfico, las bolsas de polietileno (BP) permanecieron liberando Z-3-hexenil-acetato (HEXAz), E- α -ocimeno (OCIMe), Z- α -ocimeno (OCIMz), Terpinoleno (TERP) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (MPIR) hasta los 21 días de exposición (Figura 5), mientras que en los tubos de microcentrífuga (TE), todos los compuestos estuvieron presentes por 28 o más días de exposición en campo (Figura 6).

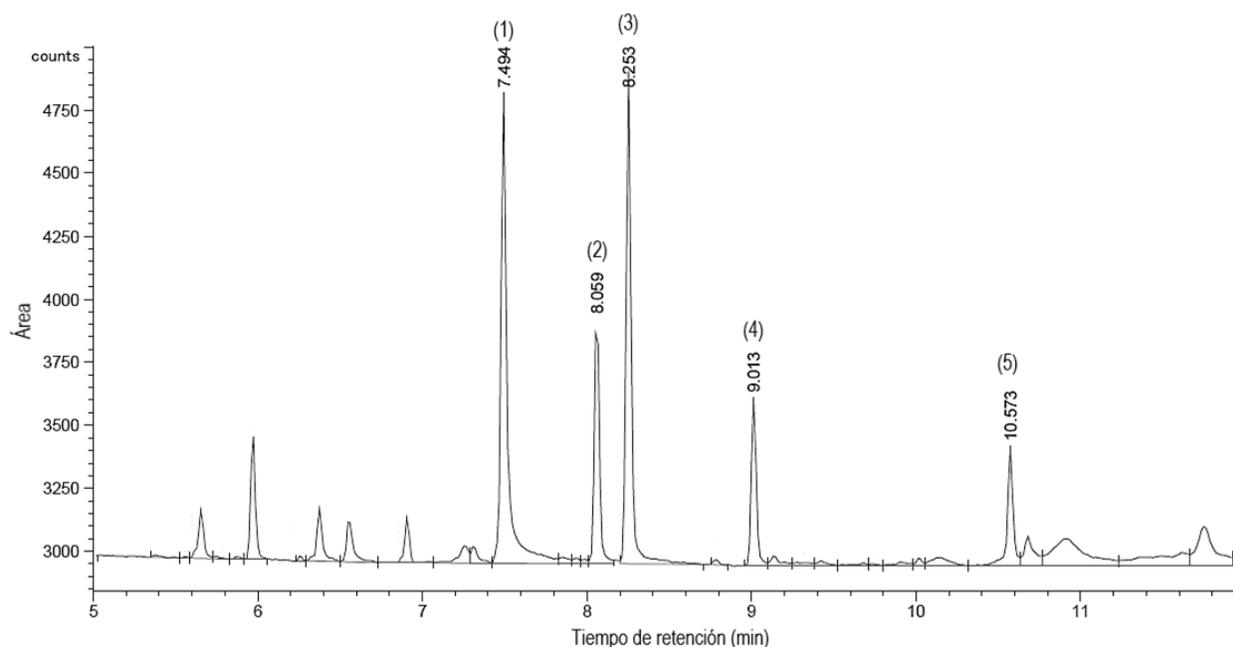


Figura 5. Compuestos identificados en los liberadores BP después de 21 días de exposición en campo. Cromatograma de la mezcla con (1) Z-3-hexenil acetato, (2) E- α -ocimeno, (3) Z- α -ocimeno, (4) Terpinoleno y (5) 2-Isobutil-3-metoxipirazina.

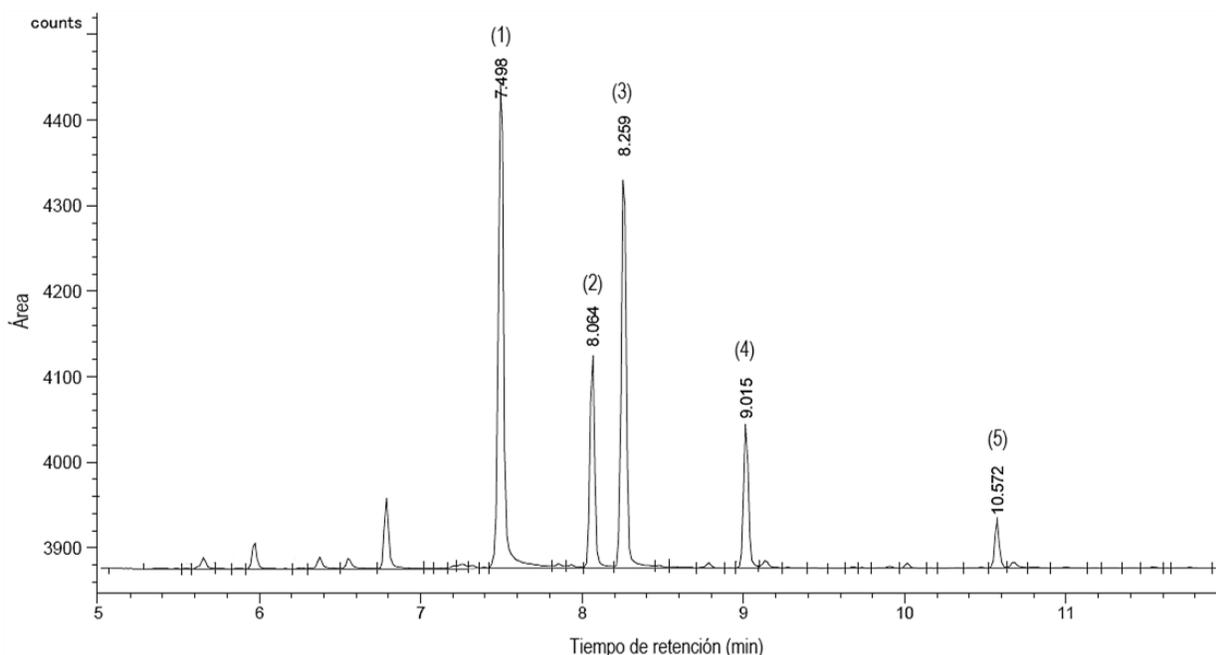


Figura 6. Compuestos identificados en los liberadores TE después de 28 días de exposición en campo. Cromatograma de la mezcla con (1) Z-3-hexenil acetato, (2) E- α -ocimeno, (3) Z- α -ocimeno, (4) Terpinoleno y (5) 2-Isobutil-3-metoxipirazina.

En los dispersores BP, el HEXAz presentó el área más alta, en comparación con el resto de los compuestos (Figura 7). Probablemente, la mayor liberación se deba a su presión de vapor, que comparativamente con el resto de los compuestos es más volátil; al respecto Mette-Cecilie *et al.* 2019 mencionan que a una temperatura dada, una sustancia con una presión de vapor más alta, se evapora más fácilmente que una sustancia con una presión de vapor más baja. El HEXAz, es un componente importante que se encuentra en estructuras reproductivas del chile, su combinación con terpinoleno en experimentos de laboratorio propició un aumento en la respuesta de machos y hembras de *A. eugenii* respectivamente (Muñiz-Merino *et al.* 2014); varias especies de *Anthonomus*, también han respondido a este compuesto en experimentos de campo (Zsendrei *et al.* 2009; Magalhães *et al.* 2012). Por lo tanto, es indispensable que el dispositivo permita la permanencia de los compuestos más importantes durante un periodo prolongado de tiempo para asegurar una atracción efectiva.

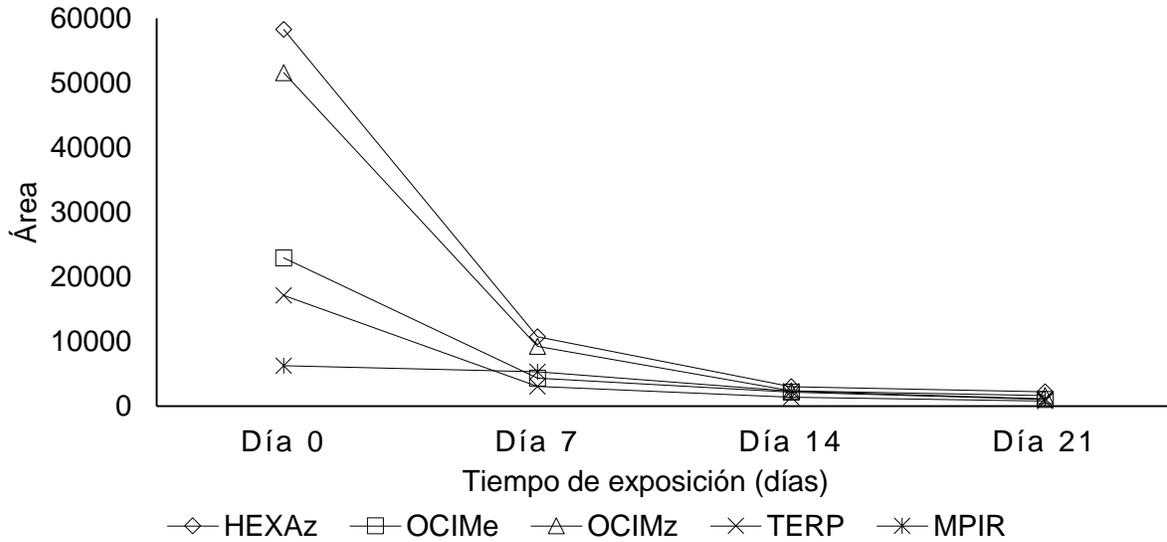


Figura 7. Área de los compuestos obtenidos en el tratamiento BP durante 21 días de exposición en campo. Mezcla con Z-3-hexenil acetato (HEXAz), E-□-Ocimeno (OCIMe), Z-□-Ocimeno (OCIMz), terpinoleno (TERP) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (MPIR) diluidos en aceite mineral, obtenidos por cromatografía.

En los dispersores TE, los compuestos HEXAz y OCIMe presentaron las áreas más altas (Figura 8), sin embargo, se mantuvieron presentes durante un periodo de tiempo mayor en comparación con los dispositivos BP. Por su parte, el MPIR presentó el área más baja, tanto en los tratamientos BP como TE durante el periodo de exposición, esto es explicable debido a que fue el compuesto con mayor peso molecular. Esta sustancia es la responsable del aroma característico de los frutos, su abundancia es mayor en frutos verdes y disminuye significativamente a medida que maduran (Forero *et al.* 2009; Antonio *et al.* 2018). El E-□-ocimeno es el principal compuesto liberado por las plantas de chile durante la floración y fructificación (Addesso *et al.* 2011; Muñoz-Merino *et al.* 2014), etapas en las que los insectos son mayormente atraídos hacia su hospedero; posiblemente, tanto MPIR como OCIMe contribuyen para que los adultos de *A. eugenii* localicen a su hospedero.

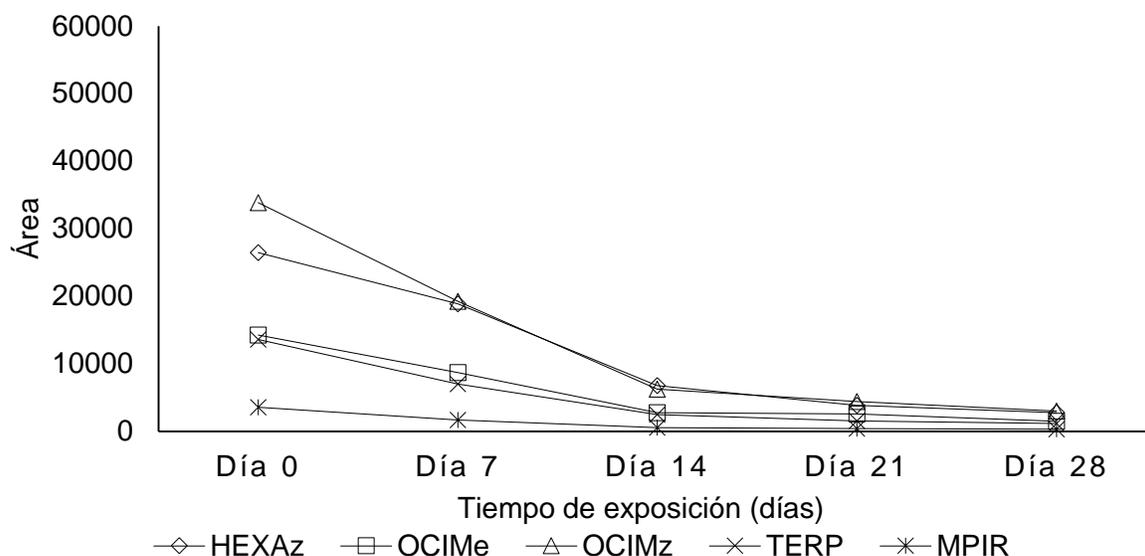


Figura 8. Área de los compuestos obtenidos en el tratamiento TE durante 28 días de exposición en campo. Mezcla con Z-3-hexenil acetato (HEXAz), E-□-ocimeno (OCIMe), Z-□-ocimeno (OCIMz), Terpinoleno (TERP) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (MPIR) diluidos en aceite mineral, obtenidos por cromatografía.

Para lograr la efectividad de un semioquímico, es necesario asegurar que los compuestos de interés para el insecto sean emitidos a la atmósfera en dosis que aseguren una concentración detectable para este. La concentración de los compuestos en los dispersores BP fueron más altas que en TE (Figura 9); tal dificultad para mantener liberaciones estables es una característica común de los dispersores de matriz sólida, ya que sólo son eficientes para atraer insectos a corta distancia (Zhu *et al.* 2015). La velocidad de liberación, está influenciada por diferentes características asociadas con el liberador, como el tipo, tamaño y forma de la matriz junto con la distribución del semioquímico en la matriz (Heuskin *et al.* 2011; Mette-Cecilie *et al.* 2019), además, los factores ambientales influyen en la liberación. Durante el experimento, la temperatura osciló entre 13 y 25 ° C, condiciones que pudieron aumentar la liberación de los compuestos, tal como lo ha reportado Mette-Cecilie *et al.* 2019, quienes al evaluar diferentes tipos de dispersores observaron un aumento de liberación con temperaturas de 15 a 35 ° C.

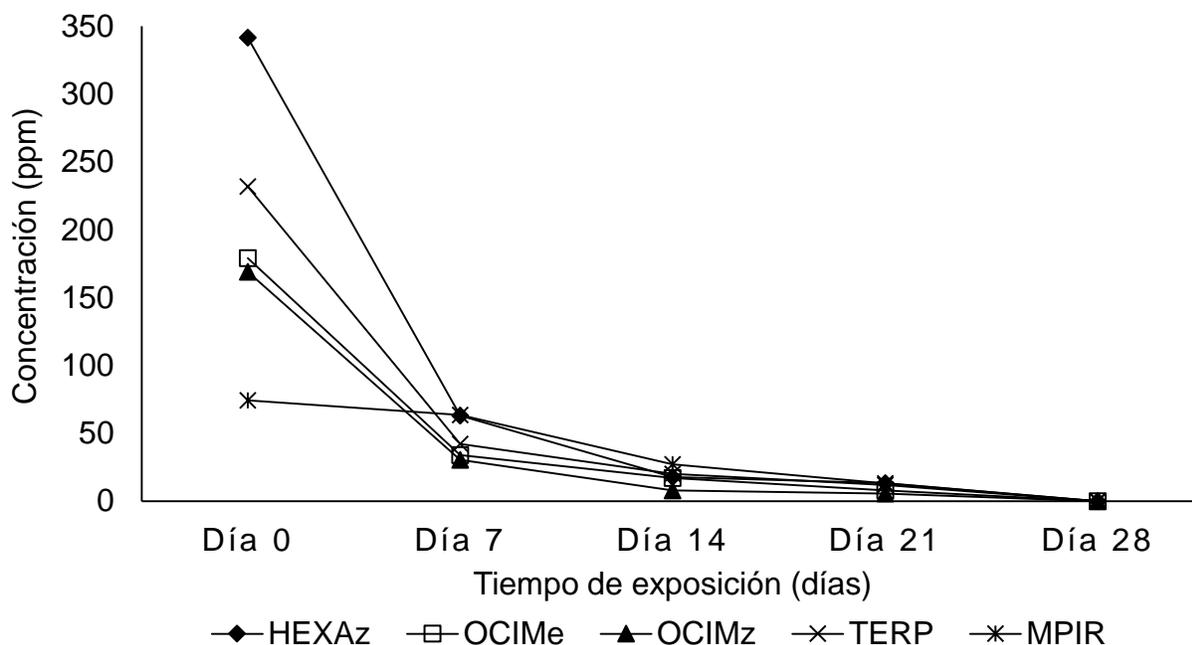


Figura 9. Concentración de los compuestos en liberadores BP durante su exposición en campo. Compuestos: Z-3-hexenil acetato (HEXAz), E-□-ocimeno (OCIMe), Z-□-ocimeno (OCIMz), Terpinoleno (TERP) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (MPIR). Las concentraciones se obtuvieron por curvas de calibración a 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ppm.

Los compuestos en los liberadores TE presentaron las emisiones más estables comparadas con BP durante el periodo de exposición en campo (Figura 10), estos resultados concuerdan con lo expuesto por Funes *et al.* (2011) quienes afirman que los dispositivos tipo reservorio son los más adecuados para conseguir liberaciones controladas. Lo anterior pudo conseguirse por el tipo de solvente utilizado, ya que el aceite mineral es menos volátil que otros solventes como el hexano. La liberación del atrayente en concentraciones bajas sería favorable para mantener emisiones constantes; sin embargo representan un problema, ya que el atrayente podría no ser detectado por el insecto, debido a que un compuesto se puede comportar como atrayente o repelente dependiendo de la dosis liberada (Hock *et al.* 2015; Zhu *et al.* 2015). Lo anterior, depende de una serie de factores, que son importantes tomar en cuenta para predecir la eficacia de los compuestos en campo.

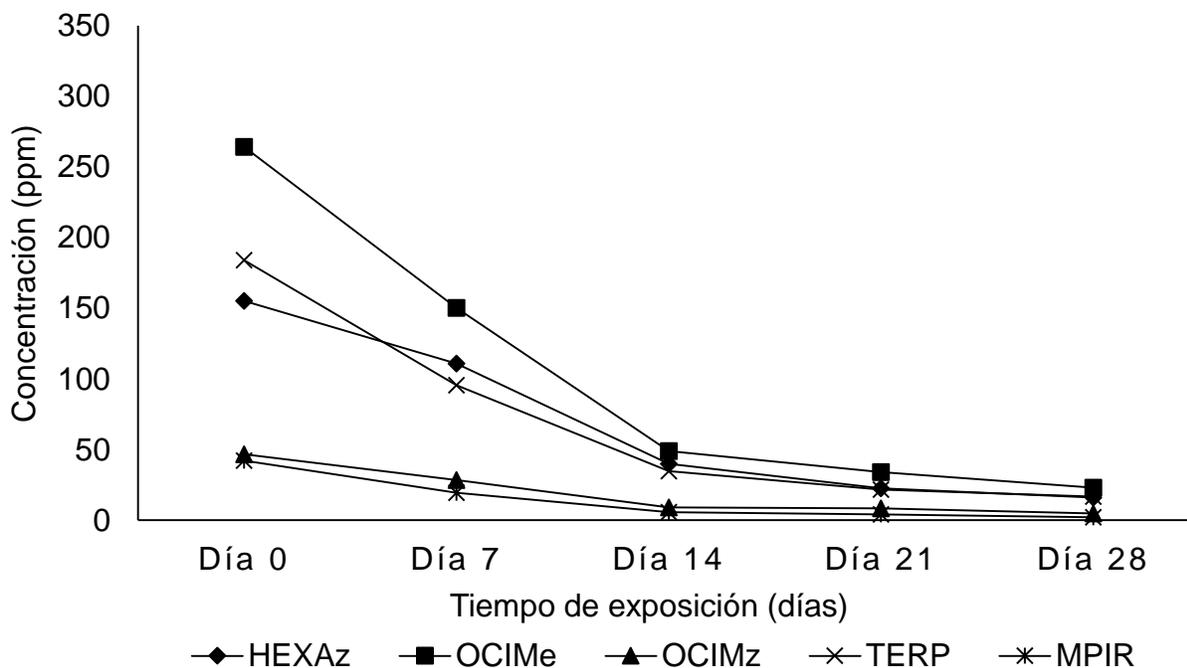


Figura 10. Concentración de los compuestos en liberadores TE durante su exposición en campo. Compuestos: Z-3-hexenil acetato (HEXAz), E- α -Ocimeno (OCIME), Z- α -ocimeno (OCIMz), Terpinoleno (TERP) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (MPIR). Las cocentraciones se obtuvieron por curvas de calibración a 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ppm.

De acuerdo al análisis cromatográfico de la feromona comercial de *A. eugenii*, los compuestos (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (PW I), (E)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (PW II) y (E)-ácido 3,7-dimetil-2,6-octadienoico (GERAc) presentaron las áreas más altas. Cinco de los compuestos permanecieron hasta 28 días de exposición en campo, mientras que el atrayente alimenticio (E)-ácido 3,7-dimetil-2,6-octadienoico (GERAc) sólo permaneció en el dispersor hasta 14 días. El GERAc es un componente importante producido por los machos de *A. eugenii*, se ha comprobado que la mezcla de seis componentes es mucho más atractiva que la de cinco compuestos (Eller *et al.* 1994; Eller y Palmquist, 2014), por lo que una tasa de liberación duradera de GERAc podría mejorar la captura de picudos en las trampas.

La comparación entre las áreas de los compuestos sintéticos y la feromona de agregación fueron diferentes. Esta liberación, depende de varias características, tanto de los compuestos como de los dispersores (Heuskin *et al.* 2011; Daems *et al.* 2016; Mette-Cecilie *et al.* 2019). Los pesos moleculares de la feromona de agregación fueron más altas que los de la mezcla sintética, lo cual se vio reflejado en las áreas obtenidas (Figura 11). En el caso de E- α -ocimeno a pesar del bajo peso molecular, permaneció en los dispersores durante 28 días, esto posiblemente tenga que ver con la cantidad utilizada, ya que este compuesto se preparó en mayor porcentaje en la mezcla sintética en comparación con los compuestos restantes.

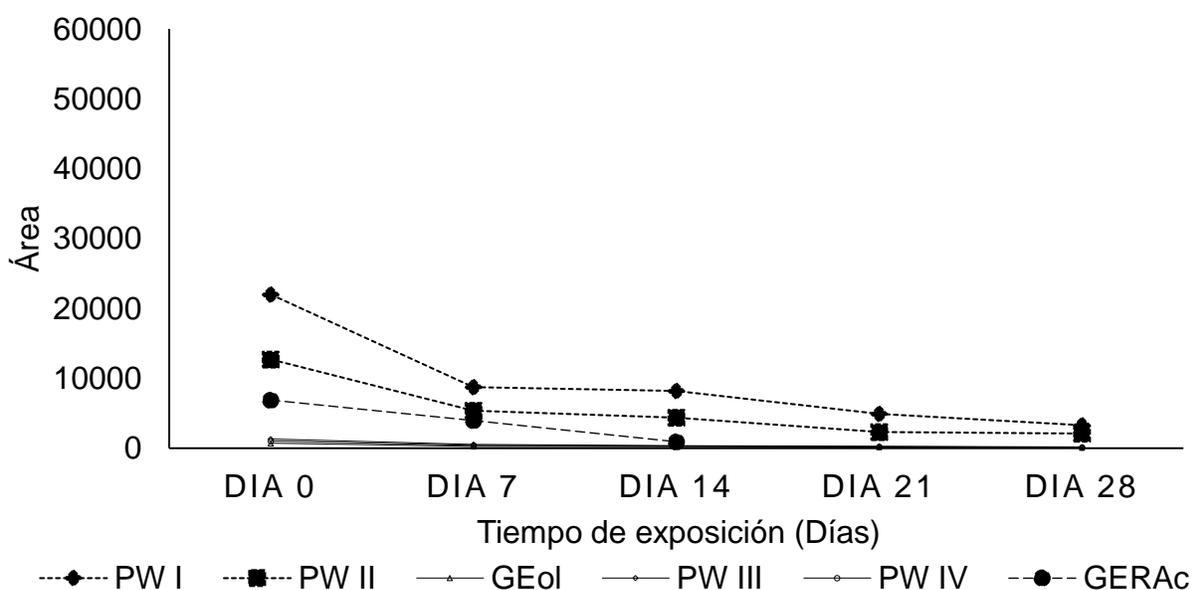


Figura 11. Área de los compuestos de la feromona de agregación durante 28 días de exposición en campo. Componentes: (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (PW I), (E)-2-(3,3- dimetilciclohexilideno) etanol (PW II), (E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol (GEol), (E)-(3,3- dimetilciclohexilideno) acetaldehido (PW III), (Z)-(3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldehido (PW IV) y (E)-ácido 3,7-dimetil-2,6-octadienoico (GERAc).

1.4. CONCLUSIONES

Las bolsas de polietileno permanecieron liberando los compuestos hasta 21 días de exposición en campo, mientras que en los tubos de microcentrífuga los compuestos se mantuvieron presentes hasta 28 o más días de exposición en campo.

Los tubos de microcentrífuga diluidos en aceite mineral con Z-3-hexenil acetato, E- β -ocimeno, Z- β -ocimeno, Terpinoleno y 2-Isobutil-3-metoxipirazina se mantuvieron por más tiempo en los dispersores; estos dispositivos podrían funcionar como liberadores para evaluar la mezcla en campo.

Las áreas de los componentes de la feromona de agregación fueron más bajas comparadas con las de la mezcla sintética en las bolsas de polietileno y tubos de microcentrífuga. No todos los dispositivos pueden ser usados para liberar semioquímicos, la elección de estos está en función de las propiedades químicas de cada compuesto, como la presión de vapor, además de la porosidad del tipo de liberador.

1.5. LITERATURA CITADA

- Addesso K. M. and H. J. McAuslane. 2009. Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. *Environmental Entomology* 38 (1): 216-224.
- Addesso K. M., H. J. McAuslane and H. T. Alborn. 2011. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 138 (1): 1-11.
- Antonio A. S, L. S. M. Wiedemanna and V. F. Veiga Junior. 2018. The genus *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. *The Royal Society of Chemistry* 25767-25784.
- Daems F., F. Béra, S. Lorge, C. Fischer, Y. Brostaux, F. Francis, G. Lognay and S. Heuskin. 2016. Impact of climatic factors on the release of E- β -caryophyllene from alginate beads. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 20 (2):130-142.
- Eller F. J., R. J. Bartelt, B. S. Shasha, D. J. Schuster, D. G. Riley, P. A. Stansly, T. F. Mueller, K. D. Shuler, B. Johnson, J. H. Davis and C. A. Sutherland. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): Identification and field activity. *Journal of Chemical Ecology* 20 (7): 1537-1555.
- Eller F. J. and D. E. Palmquist. 2014. Factors affecting pheromone production by the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) and collection efficiency. *Insects* 5 (4): 909-920.
- El-Shafie H. A. F. and J. R. Faleiro. 2017. Chapter 1. Semiochemicals and their potential use in pest management. Shields, Vonnie D. C. (editors). In *Biological control of pest and vector insects*. 347 pp.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Abril 05, 2019. EPPO Global Database, *Anthonomus eugenii*. Fecha de consulta: Abril 10, 2019. Sitio web: <https://gd.eppo.int/taxon/ANTHEU/distribution>.
- Forero M. D., C. E. Quijano and J. A. Pino. 2009. Volatile compounds of chile pepper (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) at two ripening stages. *Flavour and Fragrance Journal* 24: 25-30.
- Funes, H., E. Zerba and P. González-Audino. 2011. Mating disruption of the ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus* in poplar and hazelnut plantations using reservoir systems for pheromones. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 139: 226– 234.
- Heuskin S., F. J. Verheggen, E. Haubruge, J. P. Wathelet and G. Lognay. 2011. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15 (3): 459-470.

- Hock V., G. Chouinard, E. Lucas, D. Cormier, T. C. Leskey, S. E. Wright, A. Zhang and A. Pichette. 2015. Behavioral responses of plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) to different enantiomer concentrations and blends of the synthetic aggregation pheromone grandisoic acid. *Journal of Economic Entomology* 108 (2): 549-558.
- Muñiz-Merino, M. 2013. Atracción del picudo del chile a compuestos volátiles de sus hospederos. Tesis de maestría en ciencias en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. pp. 1-73.
- Magalhaes D. M., M. Borges, R. A. Laumann, E. R. Sujii, P. Mayon, J. C. Caulfield, C. A. Midega, Z. R. Khan, J. A. Pickett, M. A. Birkett and M. C. Blassioli-Moraes. 2012. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Journal of Chemical Ecology* 38 (12):1528-1538.
- Muñiz-Merino M., J. Cibrián-Tovar, C. Hidalgo-Moreno, N. Bautista-Martínez, H. Vaquera-Huerta y C. Aldama-Aguilera. 2014. Compuestos volátiles atraen al picudo (*Anthonomus eugenii* Cano) del chile (*Capsicum* spp.) y presentan sinergia con su feromona de agregación. *Agrociencia* 48 (8): 819-832.
- Mette-Cecilie N., C. E. Sansom., L. Larsen, S. P. Worner., M. Rostás., R. B. Chapman., R. C. Butler., W. J. de Kogel., M. M. Davidson., N. B. Perry and D. A. J. Teulon. 2019. Volatile compounds as insect lures: factors affecting release from passive dispenser systems. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 1175-8783.
- SAS Institute Inc. 2002. SAS 9.0 Help and Documentation, pp. 2002–2004. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Szendrei Z., E. Malo, L. Stelinski and C. Rodríguez-Saona. 2009. Response of cranberry weevil (Coleoptera: Curculionidae) to host plant volatiles. *Environmental Entomology* 38 (3): 861-869.
- Zhu H., H. W. Thistle, C. M. Ranger, H. Zhou and B. L. Strom. 2015. Measurement of semiochemical release rates with a dedicated environmental control system. *Biosystems Engineering* 129: 277-287.

CAPITULO 2. RANGO DE ATRACCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES PARA *Anthonomus eugenii* CANO

RESUMEN

El picudo del chile, *Anthonomus eugenii* Cano es la plaga de mayor importancia en el cultivo de chile en México y otras partes del continente americano. Las estructuras reproductivas de esta planta, liberan compuestos volátiles que atraen a *A. eugenii*, estos compuestos volátiles se han identificado y evaluado en experimentos de laboratorio, no obstante para emplear estas sustancias en el monitoreo del picudo de chile, es necesario realizar pruebas en campo. En este trabajo se evaluaron atrayentes sintéticos derivados de flores, botones florales y frutos del chile, solos o combinados con la feromona de agregación con la liberación y recaptura de adultos del picudo del chile. Durante el 2018 se liberaron insectos a 5, 10, 15, 30 y 60 m, mientras que en el 2019 se realizaron otras evaluaciones a 5, 10 y 15 m de distancia. Las trampas con la mezcla sintética y el aceite esencial capturaron adultos hasta 10 m de distancia, mientras que las trampas con la feromona atraparon insectos sólo hasta 60 m. La combinación entre la feromona y la mezcla sintética o aceite esencial de botones florales atrajeron cantidades similares de adultos que las trampas con la feromona individual ($P>0.05$). La eliminación del ácido geránico de la feromona de agregación redujo el número de insectos capturados ($P<0.05$). Las trampas con la mezcla sintética podrían mejorar aumentando la concentración o adicionando otros compuestos.

Palabras clave: Kairomona, feromona de agregación, Z- α -ocimeno, Z-3-hexetil acetato, *Capsicum annum*.

ABSTRACT

Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano is the most important pest in the cultivation of pepper in Mexico and other parts of the American continent. The reproductive structures of this plant, release volatile compounds that attract *A. eugenii*, these volatile compounds have been identified and evaluated in laboratory experiments, however to use these substances in the monitoring of pepper weevil, field tests are necessary. In this work, synthetic attractants derived from flowers, flower buds and fruits of pepper were evaluated, alone or in combination with the pheromone aggregation with the release and recapture of adults of the pepper weevil. During 2018, insects were released at 5, 10, 15, 30 and 60 m, while in 2019 another evaluations were carried out at 5, 10 and 15 m away. The traps with the synthetic mixture and the essential oil captured adults up to 10 m away, while the traps with the pheromone trapped insects up to 60 m. The combination between pheromone and the synthetic blend or essential oil of flower buds attracted similar amounts of adults as traps with the individual pheromone ($P > 0.05$). The elimination of geranic acid from the aggregation pheromone reduced the number of insects captured ($P < 0.05$). Traps with the synthetic mixture could be improved by increasing the concentration or adding other compounds.

Key words: Kairomone, aggregation pheromone, Z- β -ocimeno, Z-3-hexenil acetato, *Capsicum annuum*.

2.1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile es afectado por diversas plagas insectiles, entre los que destaca *Anthonomus eugenii* como el principal problema fitosanitario debido a que genera los mayores daños en el cultivo. Este insecto afecta a todas las especies de chile (*Capsicum* spp.), aunque también utiliza otros hospederos como hierbamora (*Solanum* spp.) y berenjena (*Solanum melongena* L.) para reproducirse, mientras que otras solanáceas solo le sirven como alimento (Patrock y Schuster, 1992). A pesar de ser originaria de México, esta plaga se distribuye en gran parte del continente americano (Dakshina y Cliff, 2016).

Los daños directos son ocasionados por las larvas, las cuales se alimentan del interior del fruto, en donde completan su desarrollo hasta emerger como adultos. El control se basa en aplicaciones químicas con el fin de disminuir las poblaciones e impedir la oviposición en frutos, aunque con este tipo de control, sólo el 1 % del compuesto químico llega al insecto de manera directa (Metckalf y Luckmann, 1990), ya que una vez que el picudo ingresa dentro del fruto es difícil de controlar. Desde el hallazgo de la feromona de agregación, ésta ha sido empleada de manera efectiva para el monitoreo del insecto en campo, sin embargo su eficiencia disminuye durante algunas etapas fenológicas del cultivo (Eller *et al.* 1994).

En la búsqueda de alternativas para el manejo del picudo del chile se han realizado varios estudios sobre la ecología química de las plantas hospederas de esta plaga. Se ha reportado que el picudo de chile responde a los olores liberados por las estructuras reproductivas de *Capsicum* spp. (Addesso *et al.* 2011; Velázquez-González, 2011; Muñiz-Merino *et al.* 2014), así como a la de otras plantas hospederas (Addesso *et al.* 2009), principalmente durante la floración y fructificación. En pruebas de olfatometría se observó que el insecto responde a mezclas compuestas por al menos 12 compuestos volátiles de 23, identificados en flores y botones florales de chile (Muñiz-Merino *et al.* 2014). A pesar de los avances realizados, aún es de relevancia estudiar el efecto de estos compuestos en campo. En este trabajo se realizaron experimentos para estudiar la atracción de compuestos sintéticos derivados de flores, botones florales, frutos y la feromona de agregación para la captura de adultos del picudo del chile.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Insectos

Se colectaron frutos de chile infestados con larvas de *A. eugenii* en el ejido Vallejo (23.118245 ° N, -100.545644 ° W), municipio de Villa de Guadalupe, San Luis Potosí, México, en cultivares de chile serrano durante Agosto de 2018. Los frutos se trasladaron al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo y se colocaron en recipientes de 3 L de capacidad bajo condiciones controladas de temperatura (26±2) y fotoperiodo (13: 11 h luz: oscuridad). Cada tercer día se retiraron los adultos emergidos y se trasladaron a nuevos recipientes, donde permanecieron hasta su uso, alimentados continuamente con frutos en desarrollo de chile jalapeño (≤ 30 mm de longitud). En todos los experimentos se utilizaron adultos con más de 10 días de edad, separados por sexo de acuerdo a las características descritos por Eller *et al.* (1995) y en particular por la forma de la abertura genital. Los insectos se dejaron 12 horas sin alimento y agua antes de las pruebas en campo.

2.2.2 Compuestos

Se utilizaron los compuestos sintéticos (Z)-3-hexenil acetato (25 %), (E)- β -ocimeno (53 %), (Z)- β -ocimeno (6 %), terpinoleno (13 %) y 2-Isobutil-3-metoxipirazina (3 %). El (E)- β -ocimeno fue adquirido en la empresa CHEMOS (Regenstauf, Alemania); el resto de los compuestos en Sigma-Aldrich (Toluca, Estado de México, México). Se colocaron 500 mg de la mezcla de los compuestos sintéticos, diluidos en aceite mineral (Herschi Trading ®) con un volumen final de 1 ml en tubos de microcentrífuga empleadas como dispersores. Los compuestos de la feromona del picudo de chile: (Z)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (48 %), (E)-2-(3,3-dimetilciclohexilideno) etanol (32 %), (Z)-(3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldehído (3 %), (E)-3,3-dimetilciclohexilideno) acetaldehído (2 %) y (E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol (2 %) y (E)-ácido 3,7-dimetil-2,6-octadienoico (13 %) fueron adquiridos en Bedoukian Research In® y preparados en el laboratorio de acuerdo a las concentraciones reportadas por Eller *et al.* (1994).

El aceite esencial se obtuvo mediante la técnica de arrastre de vapor bajo la siguiente metodología (Figura 12). Se colocó un matraz erlenmeyer con 500 mL de agua sobre una parrilla eléctrica (Thomas Scientific®) y se llevó a punto de ebullición durante 2.5 horas contabilizadas a partir de la ebullición. En un matraz de tres cavidades se agregaron 100 g de botones florales, el cual recibió el vapor proveniente del primer matraz. Al condensarse, el vapor circuló por un refrigerante (Kimax®) formando una mezcla de agua y aceite en donde se enfrió regresando nuevamente al estado líquido en un matraz colector de 250 mL. Transcurrido el tiempo de extracción se recuperó la emulsión de agua con aceite con tres lavados de hexano. Posteriormente se concentró en un rotavapor büchi B-480® a 50 ° C, hasta evaporar la mayor cantidad de disolvente. El aceite obtenido en el matraz se transfirió a un vial color ambar (Agilent Technology®) de 1.5 mL con una pipeta pasteur y se almacenó a - 4 ° C hasta su utilización. En cada liberador (tubos de microcentrífuga), se agregaron 500 mg de aceite extraído, para su evaluación en campo.

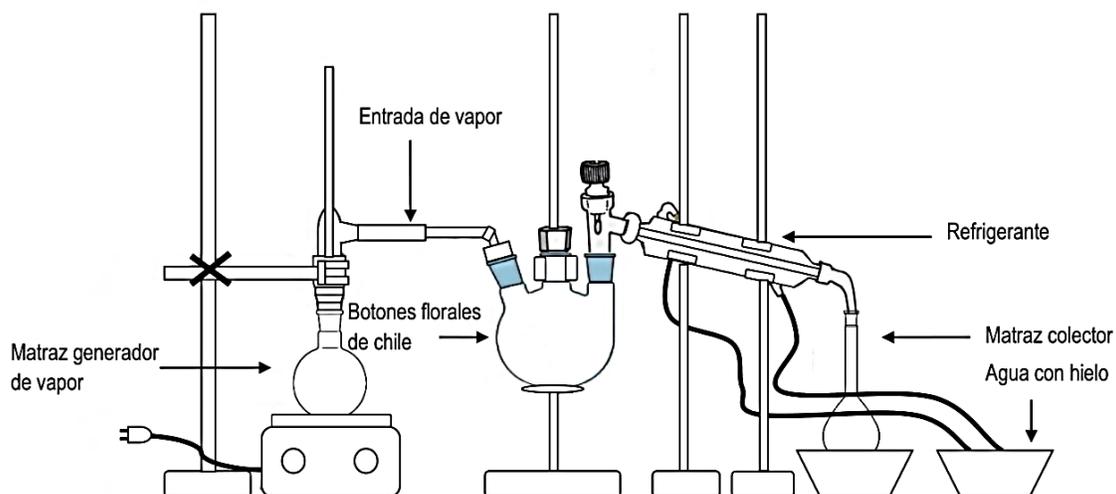


Figura 12. Sistema de arrastre de vapor para extracción del aceite esencial de botones florales del Chile.

2.2.3 Experimentos en campo

Los experimentos se establecieron en un terreno ubicado en el Colegio de Postgraduados (19.464825 ° N, -98.914565 ° W), municipio de Texcoco, Estado de México, México. El terreno tenía una topografía plana, sin presencia de cultivo de chile para evitar interferencia de picudos provenientes de campo (antes de establecer los experimentos, se realizaron monitoreos con la feromona de agregación para asegurar la ausencia de picudos del chile en el área). Se utilizaron trampas amarillas (30.5 cm de largo por 15 cm de ancho), impregnadas con pegamento (Adhequim®), donde se colocaron los tratamientos; estos se instalaron un día antes de iniciar el experimento a una altura de 0.30 m en dirección a los vientos predominantes.

Durante septiembre-diciembre del 2018, se evaluaron como tratamientos: a) una mezcla de compuestos sintéticos del chile (MS), b) aceite esencial de botones florales del chile (AE), c) feromona de agregación (FA), d) mezcla sintética y feromona de agregación (MS:FA), e) aceite esencial y feromona de agregación (AE:FA) y f) trampas sin atrayente como testigo (CO). Los tratamientos se evaluaron a 5, 10, 15, 30 y 60 m de distancia en experimentos separados. La cantidad de insectos utilizados estuvo sujeta a la disponibilidad de estos en la colonia establecida. En la primera evaluación se utilizaron 720 picudos, se liberaron 10 insectos (5 hembras y 5 machos) desde 5 m de distancia en los cuatro puntos cardinales del punto de ubicación de cada tratamiento. Para la segunda evaluación se liberó la misma cantidad de insectos desde 10 m de distancia en los cuatro puntos cardinales. En la tercera evaluación se utilizaron 864 picudos, se liberaron 12 insectos (6 hembras y 6 machos) desde una distancia de 15 m en los cuatro puntos cardinales. En la cuarta evaluación se emplearon 1008 picudos, se liberaron 14 insectos (7 hembras y 7 machos) desde una distancia de 30 m en los cuatro puntos cardinales. En la quinta evaluación, se usaron 1296 picudos, de los cuales se liberaron 18 insectos desde 60 m de distancia en los cuatro puntos cardinales.

Entre agosto-octubre del 2019 en el mismo sitio descrito anteriormente se evaluaron como tratamientos: a) una mezcla sintética y ácido geránico (MS:AG), b) feromona de agregación sin ácido geránico (SC), c) ácido geránico (TC), d) feromona de agregación completa (FA) y e) trampas sin atrayente como testigo (CO). Se utilizaron trampas

amarillas con las mismas características detalladas anteriormente. Los tratamientos se evaluaron a 5, 10 y 15 m de distancia, en cada evaluación se utilizaron 600 picudos y se liberaron 10 picudos (5 hembras y 5 machos) en los cuatro puntos cardinales de las trampas por repetición, con una duración de 15 días en cada evaluación. Todas las liberaciones se realizaron durante las 13:00 a 17:00 horas de la tarde, de acuerdo al periodo de mayor actividad de hembras y machos (Riley y Schuster, 1994; Muñiz-Merino *et al.* 2014). Los experimentos se distribuyeron en un diseño bloques completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento con una separación de 100 m entre repeticiones y tratamientos. Las trampas se revisaron una vez por semana, durante 15 días que duró cada prueba en la distancia evaluada, mientras que el nivel del volumen del dispersor se revisó cada tercer día.

2.2.4 Análisis estadístico

Los datos de los experimentos en campo durante 2018 y 2019 se analizaron mediante modelos lineales mixtos, los tratamientos se utilizaron como factor fijo y las repeticiones anidadas en semanas como factor aleatorio. Se realizó un análisis post hoc con la corrección de Bonferroni con una probabilidad de 0.05 para comprobar si existían diferencias significativas dentro de cada grupo de medias. Todos los análisis se realizaron con el programa SPSS v. 25.0 para Windows (IBM Corp. 2019).

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 Experimento en campo durante el periodo septiembre-diciembre, 2018

Las trampas ubicadas a cinco metros de distancia del punto de liberación registraron diferencia significativa en el número promedio de picudos recapturados entre los tratamientos evaluados ($F=31.558$; $df= 5, 48$; $P < 0.05$). La feromona de agregación (FA), feromona de agregación:mezcla sintética (FA:MS) y feromona de agregación:aceite esencial (FA:AE) resultaron con las medias más altas, mientras que la mezcla sintética (MS) y aceite esencial (AE) presentaron valores muy inferiores; pero mayores en comparación con el control (Figura 13). Los niveles de recapturas fueron de MS (2.66), AE (2.88), FA: MS (9.55), FA: AE (9.55) y FA (10.77).

De acuerdo a la comparación post hoc, la diferencia de medias entre FA comparada con MS (8.11 ± 1.02), AE (7.88 ± 1.02) y CO (8.55 ± 1.02) se observaron diferencias de medias significativamente mayores ($P < 0.05$); mientras que FA: MS y FA: AE presentaron diferencias de medias similares comparada con MS (6.88 ± 1.02), AE (6.66 ± 1.02) y CO (7.33 ± 1.02). El número de recaptura se vio afectado por la distancia de liberación, ya que el mayor número de insectos se obtuvieron en las trampas colocadas a 5 m, similarmente Figueroa-Castro *et al.* 2016 reportaron mayores capturas de *Scyphophorus acupunctatus* en trampas con feromona ubicadas a distancias menores del punto de liberación. Por su parte Hicks y Blackshaw (2008), también obtuvieron capturas superiores de *Agriotes lineatus* en trampas ubicadas a 4 m; esto probablemente se deba a que a medida que aumenta la distancia, la concentración del compuesto disminuye, reduciendo la atracción de los insectos.

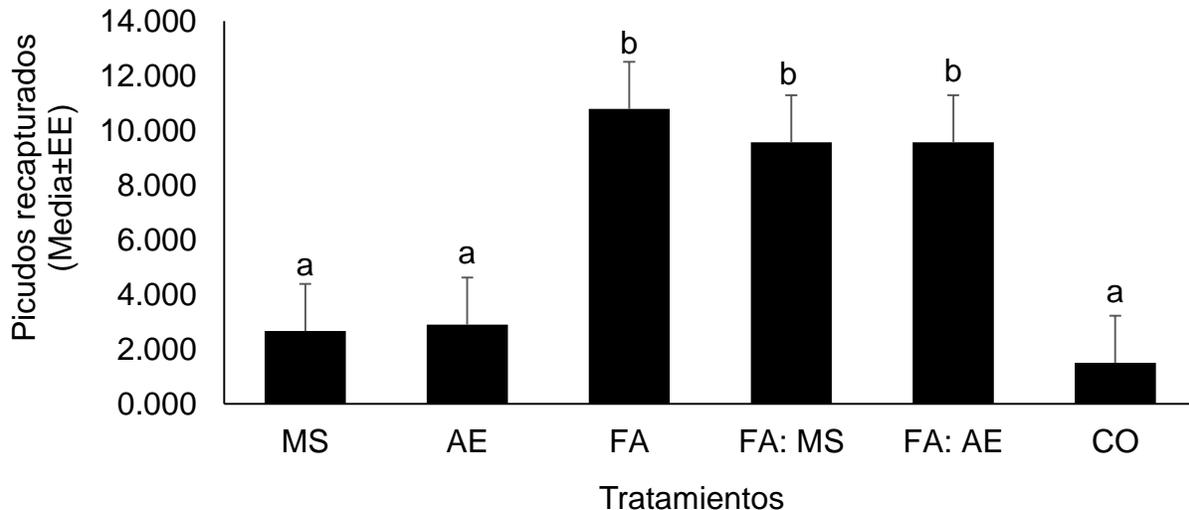


Figura 13. Promedio de picudos recapturados a cinco metros de distancia en 2018. Donde MS (Mezcla sintética), AE (Aceite esencial), FA (feromona de agregación), FA: MS (feromona de agregación: mezcla sintética), FA: AE (feromona de agregación: aceite esencial) y CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

En la evaluación a 10 m de distancia también se presentó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados ($F=52.509$; $df= 5, 40$; $P < 0.05$). El tratamiento CO presentó valores inferiores que MS y AE, mientras que FA, FA: MS y FA: AE presentaron las medias más altas (Figura 14). Los niveles de recapturas fueron de AE (1.77), MS (2.11), FA: MS (8.11), FA: AE (8.33) y FA (10.00). En las pruebas post hoc, las diferencias de medias entre FA con MS (7.88 ± 0.78), AE (8.22 ± 0.78) y CO (9.00 ± 0.78); FA:MS con MS (6.00 ± 0.78), AE (6.33 ± 0.78) y CO (7.11 ± 0.78); así como FA:AE con MS (6.22 ± 0.78), AE (6.55 ± 0.78) y CO (7.33 ± 0.78) fueron significativamente mayores ($P < 0.05$). Las pruebas univariadas, mostraron diferencia significativa, lo que indica que el modelo propuesto para esta distancia, fue aceptable ($P < 0.05$).

Las trampas con MS y AE registraron adultos del picudo del chile hasta 10 m de distancia, aunque no fue significativo, comparadas con el control. De manera similar, Cha *et al.* 2008 no lograron encontrar un cambio significativo en el número de machos de *Paralobesia viteana* entre trampas con señuelos sintéticos basados en volátiles de plantas huésped y trampas de control. Estudios previos (Muñiz-Merino *et al.* 2014; Bautista-San Juan *et al.* 2019), demostraron por olfatómetria en laboratorio que la respuesta de machos

y hembras fue inequívoca hacia los volátiles de la mezcla evaluada. Tal vez, la cantidad de volátiles liberados por la mezcla, podría haber estado debajo del umbral de recepción de los insectos, como se observó en el análisis cromatográfico de la mezcla sintética, que comparativamente con las áreas de los componentes de la feromona de agregación fueron más volátiles. Esto quizá ocasionó la pérdida de atracción de los compuestos durante el tiempo de exposición en campo. El aumento de la concentración o la adición de otros compuestos liberados durante la alimentación de *A. eugenii* a la mezcla evaluada podría mejorar la respuesta del insecto.

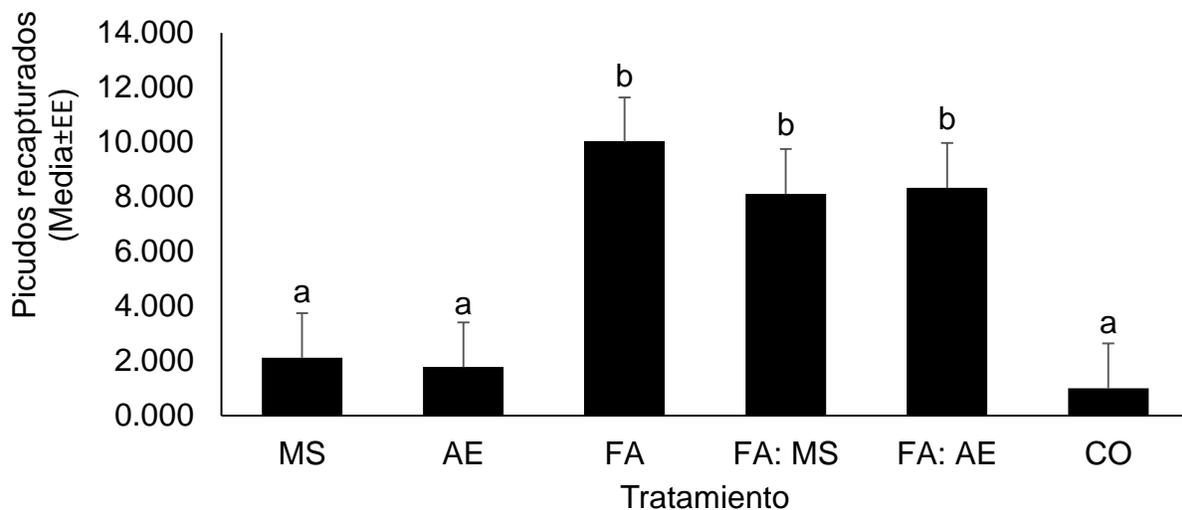


Figura 14. Promedio de picudos recapturados a 10 m de distancia en 2018. Donde MS (Mezcla sintética), AE (Aceite esencial), FA (feromona de agregación), FA: MS (feromona de agregación: mezcla sintética), FA: AE (feromona de agregación: aceite esencial) y CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

Los resultados a 15 m de distancia, indicaron que hubo un efecto debido a los tratamientos, los cuales se diferenciaron estadísticamente en el número promedio de recapturas ($F=124.310$; $df= 5, 40$; $P < 0.05$). Las medias en los tratamientos MS, AE y CO resultaron similares, ya que estos, no presentaron capturas, mientras que FA, FA:MS y FA:AE presentaron las medias más altas (Figura 15). Los niveles de recapturas fueron de CO, MS, AE (0.70), FA: MS (2.70), FA: AE (2.87) y FA (3.04). En las comparaciones post hoc, la diferencia de medias para los tratamientos FA (2.33 ± 0.51), FA:MS (2.00 ± 0.51) y

FA:AE (2.16 ± 0.51) fueron significativamente mayores comparativamente que MS, AE y CO ($P < 0.05$). En contraste, en las comparaciones entre MS, AE y CO comparada con FA, FA:MS y FA:AE se obtuvieron los mismos valores con diferencia de medias negativas ($P < 0.05$). Las pruebas univariadas, mostraron diferencia significativa, lo que indica que el modelo propuesto para esta distancia, fue aceptable ($P < 0.05$).

En este experimento, las trampas con FA, FA:MS y FA:AE registraron mayor cantidad de picudos. Posiblemente los compuestos en los tratamientos MS y AE no se liberaron en las dosis adecuadas para atraer a los picudos, como se observó en las áreas de los componentes de la feromona de agregación y de la mezcla sintética obtenidas del análisis mediante cromatografía de gases en la primera fase, seguramente esta variación tiene que ver con los resultados obtenidos. Al respecto Magalhães *et al.* (2018), demostraron que la respuesta de *A. grandis* a varios semioquímicos dependía de la dosis utilizada, por lo tanto, la cantidad liberada en los dispersores es crítica, sin embargo la liberación también depende de las propiedades fisicoquímicas de los compuesto y los factores ambientales (Heuskin *et al.* 2011; Mette-Cecilie *et al.* 2019).

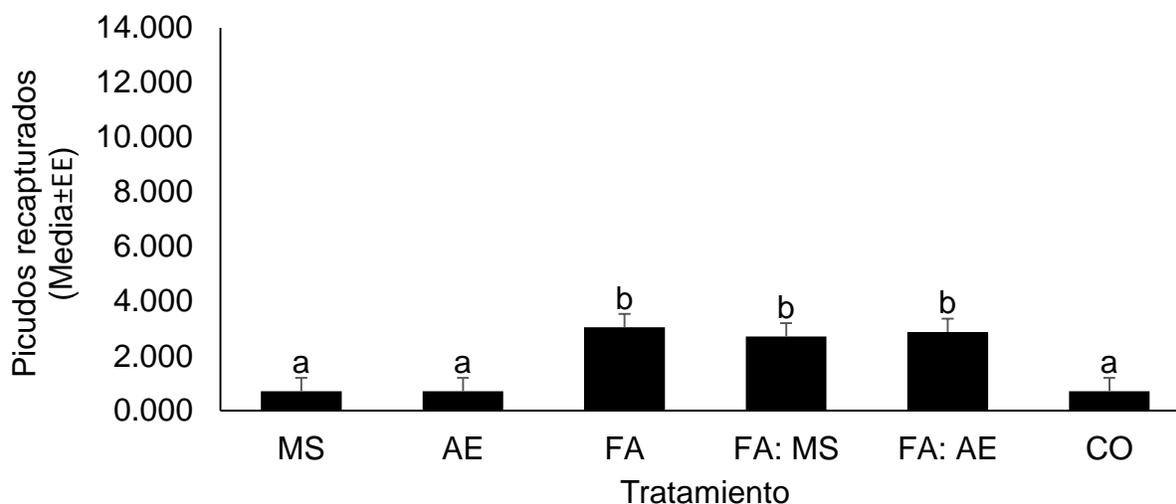


Figura 15. Promedio de picudos recapturados a 15 m de distancia en 2018. Donde MS (Mezcla sintética), AE (Aceite esencial), FA (feromona de agregación), FA: MS (feromona de agregación: mezcla sintética), FA: AE (feromona de agregación: aceite esencial) y CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

En la cuarta evaluación a 30 m de distancia, los resultados registraron influencia significativa en el número de insectos recapturados ($F= 137.277$; $df=5, 40$; $P < 0.05$). Las medias entre los tratamientos MS, AE y CO fueron similares, mientras que FA, FA:MS y FA:AE presentaron las medias altas (Figura 16). Los niveles de medias fueron de MS, AE y CO (0.70), FA:AE (2.49), FA:MS (2.55) y FA (2.77). Los resultados de las comparaciones post hoc en los tratamientos MS, AE y CO resultaron significativamente negativas que FA (-2.07 ± 0.12), FA:MS (-1.84 ± 0.12) y FA:AE (-1.79 ± 0.12); mientras que las comparaciones entre FA con MS, AE y CO (2.07 ± 0.12), así como de FA:MS con MS, AE y CO (1.84 ± 0.12) y de FA:AE con MS, AE y CO (1.79 ± 0.12) arrojaron diferencia de medias significativamente mayores ($P < 0.05$). El modelo propuesto para esta distancia fue aceptable, de acuerdo a las pruebas univariadas ($P < 0.05$).

Las capturas disminuyeron significativamente, cuando se liberaron adultos a distancias mayores del punto de liberación; de manera similar Reddy *et al.* (2014) observaron una clara disminución del porcentaje de recaptura al aumentar la distancia de liberación de *Cylas formicarius*. Las proporciones en las que se libera una mezcla representa la información clave para que el insecto pueda localizar a su huésped en un ambiente saturado de diversos compuestos, como se indica en *A. grandis* (Dickens, 1990; Magalhães *et al.* 2018). El tipo de liberador utilizado, pudo haber ocasionado una liberación deficiente, provocando que las trampas con FA:MS y FA:AE no aumentaran el número de recapturas, como sucedió con FA, ya que en ambos casos los tubos de microcentrífuga se emplearon como dispersores.

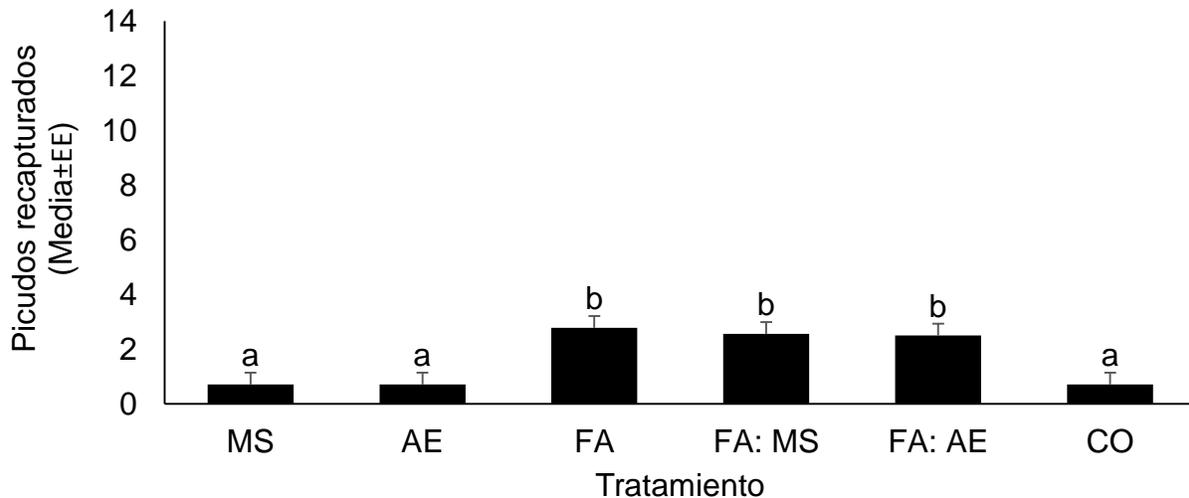


Figura 16. Promedio de picudos recapturados a 30 m de distancia en 2018. Donde MS (Mezcla sintética), AE (Aceite esencial), FA (feromona de agregación), FA:MS (feromona de agregación: mezcla sintética), FA:AE (feromona de agregación: aceite esencial) y CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

Los tratamientos evaluados en campo a 60 m presentaron diferencia significativa en el número de recapturas ($F=41.353$; $df=5, 40$; $P < 0.05$). Los niveles de recapturas fueron similares en MS, AE, CO (0.70), mientras que FA:AE (1.77), FA:MS (1.91) y FA (2.06) fueron más altas (Figura 17). En las comparaciones post hoc, los tratamientos MS, AE y CO resultaron menores ($P < 0.05$), comparadas con FA (-1.35 ± 0.14), FA:MS (-1.20 ± 0.14) y FA:AE (-1.07 ± 0.14). Por su parte, FA con MS, AE y CO (1.35 ± 0.14); FA:MS con MS, AE y CO (1.20 ± 0.14); así como FA:AE con MS, AE y CO (1.07 ± 0.14) resultaron con las diferencias de medias más altas ($P < 0.05$). El modelo resultó aceptable en esta distancia, de acuerdo a los resultados de las pruebas univariadas ($P < 0.05$).

Las trampas con FA:MS y FA:AE recapturaron adultos a la misma distancia que las trampas con FA, sin embargo no se observó un aumento en el número de insectos recapturados. Szendrei *et al.* 2011, en experimentos de campo, observaron que la adición de los principales volátiles del arándano, Z-3-hexenil-acetato y hexil acetato, con componentes de la feromona de *A. musculus* no mejoraron la atracción. Una explicación posible de nuestros resultados, podría ser que la relación de la liberación de los componentes en la mezcla utilizada no fue suficiente para atraer al picudo y provocar un

sinergismo, como sucedió con *A. rubí*, donde la adición de 1,4-dimethoxybenzene, compuesto volátil principal de la fresa, junto con la feromona de agregación causó capturas mayores que con la feromona individual (Wibe *et al.* 2014).

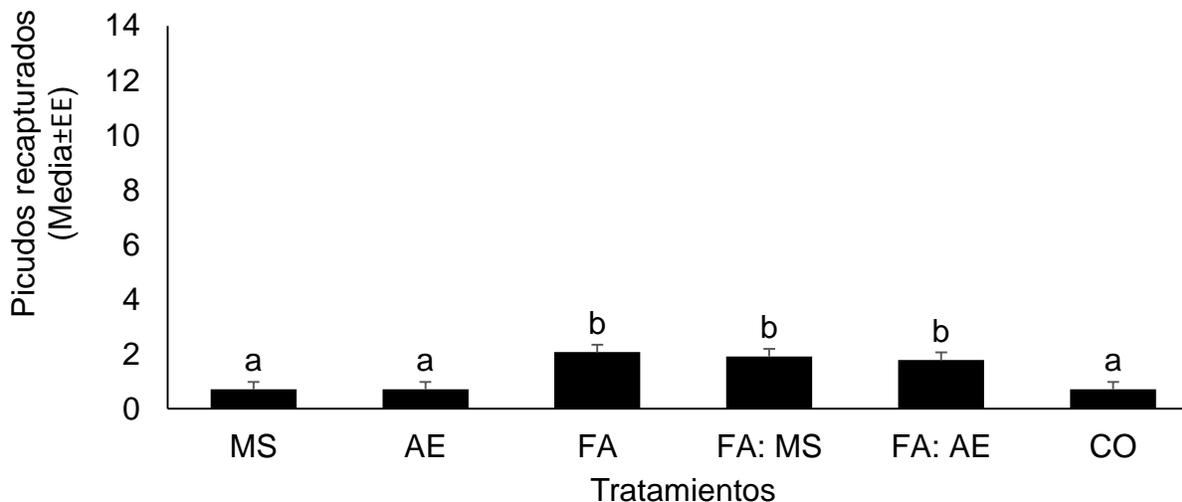


Figura 17. Promedio de picudos recapturados a 60 m de distancia en 2018. Donde MS (Mezcla sintética), AE (Aceite esencial), FA (feromona de agregación), FA:MS (feromona de agregación: mezcla sintética), FA:AE (feromona de agregación: aceite esencial) y CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

2.3.2 Experimento en campo durante el periodo agosto-octubre, 2019.

El número de adultos de *Anthonomus eugenii* recapturados a cinco metros de distancia presentaron diferencia significativa entre los tratamientos evaluados ($F = 23.024$; $df = 5, 40$; $P < 0.05$). Las trampas con FA recapturaron más picudos que cualquiera de los otros tratamientos (figura 18). Los niveles de recapturas fueron del control CO (1.17), ácido geránico [TC (1.28)], mezcla sintética y ácido geránico [MS:AG (1.91)], feromona de agregación sin ácido geránico [SC (1.99)] y feromona de agregación completa [FA (2.48)]. Los tratamientos MS:AG con TC (0.62), FA (-0.57) y CO (0.74); SC con TC (0.70), FA (-0.49) y CO (0.81); TC con MS:AG (-0.62), SC (-0.70) y FA (-1.19); FA con MS:AG (0.57), SC (0.49), TC (1.19) y CO (1.31); así como CO con MS:AG (-0.74), SC (-0.81), FA (-1.31) registraron diferencia significativa de acuerdo a las comparaciones post hoc ($P < 0.05$). Las pruebas univariadas también indicaron influencia significativa, lo que reveló que el modelo propuesto para esta distancia fue aceptable ($P < 0.05$).

Las recapturas en las trampas con FA fueron mayores, seguidas por MS:AG, mientras que la feromona sin ácido geránico (SC) fue inferior, comparada con la feromona completa (FA). El ácido geránico por sí mismo resulta inactivo, sin embargo la mezcla de los seis compuestos ha mostrado una mejor atracción para adultos de *Anthonomus eugenii* (Eller *et al.* 1994; Eller y Palmquist, 2014); esto se observó en las trampas donde únicamente se utilizó el ácido geránico (TC), ya que en éstas, se obtuvieron las capturas más bajas comparadas con el control; el color de la trampa pudo haber influido en estas capturas, ya que en investigaciones anteriores se ha reportado que las trampas amarillas no cebadas son atractivas para los adultos *A. eugenii* (Riley y Schuster, 1994; Segarra-Carmona y Pantoja, 1998) y *A. musculus* (Silva *et al.* 2018).

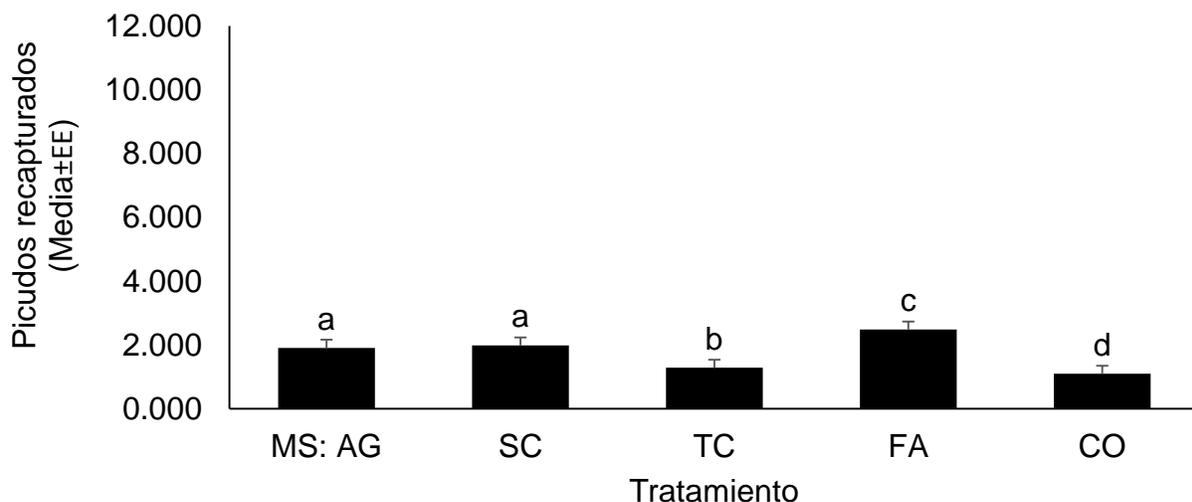


Figura 18. Promedio de picudos recapturados a cinco metros de distancia en 2019. Donde MS:AG (Mezcla sintética: ácido geránico), SC (feromona de agregación sin ácido geránico), TC (Ácido geránico), FA (feromona de agregación completa), CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

Los tratamientos evaluados a 10 m de distancia registraron diferencia significativa en los promedios de picudos obtenidos ($F = 8.895$; $df = 5, 40$; $P < 0.05$). Las medias entre FA (1.61) y MS:AG (1.31) fueron más altas, comparadas con CO (0.86) utilizada como control (Figura 19). En las pruebas post hoc de Bonferroni, los tratamientos SC (-0.48 ± 0.12) y TC (-0.63 ± 0.12) resultaron significativamente menores que FA ($P < 0.05$), así como en CO comparada con MS: AG (-0.45 ± 0.12) y FA (-0.75 ± 0.12); mientras que FA

fue mayor comparada con SC (0.48 ± 0.12), TC (0.63 ± 0.12) y CO (0.75 ± 0.12). Por su parte, MS: AG resultó significativamente mayor que CO (0.45 ± 0.12). Las pruebas univariadas indicaron que el modelo propuesto en esta distancia fue aceptable ($P < 0.05$). Las trampas con SC disminuyeron significativamente el número de recapturas al eliminar el ácido geránico ($P < 0.05$) comparada con FA (feromona completa), al respecto, Eller *et al.* (1994) determinaron que además de los compuestos liberados por los machos, el ácido geránico era necesario para la atracción de los adultos de *A. eugenii*.

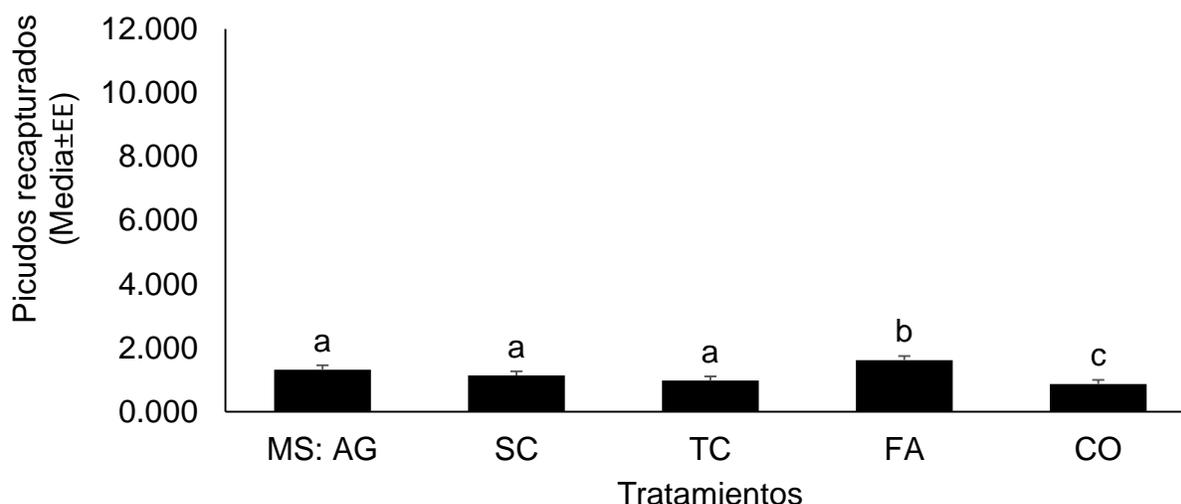


Figura 19. Promedio de picudos recapturados a 10 metros de distancia en 2019. Donde MS:AG (Mezcla sintética: ácido geránico), SC (feromona de agregación sin ácido geránico), TC (Ácido geránico), FA (feromona de agregación completa), CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

A 15 m de distancia, los resultados presentaron diferencia significativa entre los tratamientos sobre el número de insectos recapturados ($F = 10.612$; $df = 5, 40$; $P < 0.05$). Los niveles de medias fueron de SC, TC, CO (0.70), MS: AG (0.82) y FA (1.18) como se muestra en la figura 20. La prueba post hoc en MS:AG (-0.36 ± 0.08), SC (-0.48 ± 0.08), TC (-0.48 ± 0.08) y CO (-0.48 ± 0.08) resultaron significativamente menores, comparadas con FA ($P < 0.05$). En FA se presentaron diferencia de medias significativamente más altas que MS: AG (0.36 ± 0.08), SC (0.48 ± 0.08), TC (0.48 ± 0.08) y CO (0.48 ± 0.08). Las pruebas

univariadas, mostraron diferencia significativa, lo que indica que el modelo propuesto, resultó aceptable ($P < 0.05$).

Las trampas con FA y MS:AG recapturaron picudos del chile. La mezcla sintética combinado con ácido geránico, componente de la feromona del picudo de chile capturó insectos, aunque no se presentó diferencia significativa comparada con el control. Similarmente, la adición de la feromona de agregación de *A. rubi* a la combinación de la feromona sexual de *L. rugulipennis* + fenilacetaldéhidó no causaron cambios significativos en las tasas de captura de *L. rugulipennis* (Baroffio *et al.* 2018). En futuros estudios, se podría optimizar la mezcla de la feromona de *A. eugenii* y los volátiles del chile para mejorar la atracción de este insecto.

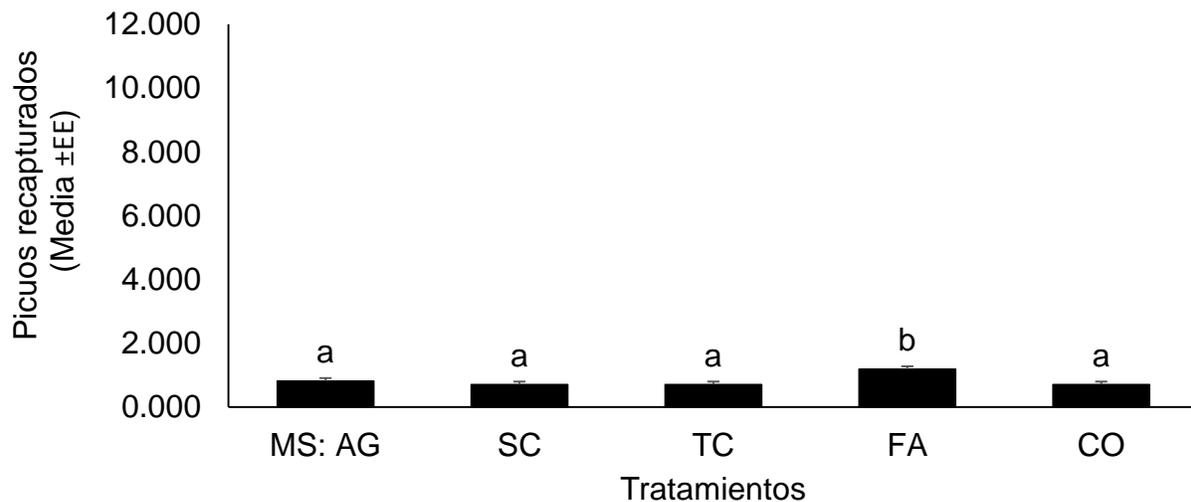


Figura 20. Picudos recapturados a 15 metros de distancia en 2019. Donde MS:AG (Mezcla sintética: ácido geránico), SC (feromona de agregación sin ácido geránico), TC (Ácido geránico), FA (feromona de agregación completa), CO (trampas sin atrayente como control). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Prueba de Bonferroni.

2.4. CONCLUSIONES

Las trampas con (E)- β -ocimeno, (Z)- β -ocimeno, 2-Isobutil-3-metoxipirazina, (Z)-3-hexenil acetato y terpinoleno registraron insectos a 5 y 10 m, similar al aceite esencial. Esta mezcla podría mejorar, quizá aumentando la concentración o adicionando otros compuestos que se producen en mayor cantidad durante la alimentación de *A. eugenii*.

La feromona de agregación ofrece una gran alternativa para la captura masiva del picudo del chile, siempre y cuando su colocación sea antes de la floración y después de la cosecha, para atraer y capturar la mayor cantidad de adultos que se pudieran encontrar en hospederos alternos.

Las trampas con el ácido geránico evaluado de manera individual, no presentaron diferencia significativa comparadas con el control, mientras que su eliminación dentro de la feromona de agregación redujo significativamente el número de insectos capturados, por lo que fue evidente la importancia de este compuesto en la feromona.

2.5. LITERATURA CITADA

- Addesso K. M. and H. J. McAuslane. 2009. Pepper weevil attraction to volatiles from host and nonhost plants. *Environmental Entomology* 38 (1): 216-224.
- Addesso K. M., H. J. McAuslane and H. T. Alborn. 2011. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 138 (1): 1-11.
- Baroffio, C. A., L. Sigsgaard, E. J. Ahrenfeldt, A. K. Borg-Karlson, S. A. Bruun, J. V. Cross, M. T. Fountain, D. Hall, R. Mozuraitis, B. Ralle, N. Trandem and A. Wibe. 2018. Combining plant volátiles and pheromones to catch two insect pests in the same trap: Examples from two berry crops. *Crop Protection* 109: 1-8.
- Bautista-San Juan A., J. Cibrián-Tovar, R. M. López-Romero, N. Bautista-Martínez y N. S. Gómez-Domínguez. 2019. Atracción de *Anthonomus eugenii* (Cano) a mezclas de compuestos volátiles sintéticos. *Southwestern Entomologist* 44 (3) 743-754.
- Cha D. H., S. Nojima, S. P. Hseler, A. Zhang, C. E. Linn, W. L. Jr, Roelofs and G. M. Loeb. 2008. Identification and field evaluation of grape shoot volatiles attractive to female grape berry moth (*Paralobesia viteana*). *Journal of Chemical Ecology* 34:1180–1189.
- Dickens, J. C. 1990. Specialized receptor neurons for pheromones and host plant odours in the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). *Chemical Senses* 15: 311–331.
- Daksina R. S. and G. M. Cliff. 2016. Pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) preferences for specific pepper cultivars, plants parts, fruit colors, fruit sizes and timing. *Insects* 7 (1): 1-19.
- Eller F. J., R. J. Bartelt, B. S. Shasha, D. J. Schuster, D. G. Riley, P. A. Stansly, T. F. Mueller, K. D. Shuler, B. Johnson, J. H. Davis and C. A. Sutherland. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): Identification and field activity. *Journal of Chemical Ecology* 20 (7): 1537-1555.
- Eller, F. J. 1995. A previously unknown sexual character for the pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 78 (1): 180-183.
- Eller F. J. and D. E. Palmquist. 2014. Factors affecting pheromone production by the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) and collection efficiency. *Insects* 5 (4): 909-920.
- Figuroa-Castro P., H. Rodríguez-Rebollar, H. González-Hernández, J. F. Solís-Aguilar, J. I. Del Real-Laborde, J. L. Carrillo-Sánchez and J. C. Rojas. 2016. Attraction range and inter-trap distance of pheromone baited traps for monitoring *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Dryophthoridae) on blue agave. *Florida Entomologist* 99 (1): 94-99.

- Hicks. H. and R. P. Blackshaw. 2008. Differential responses of three Agriotes click beetle species to pheromone traps. *Agricultural and Forest Entomology* 10 (4): 443-44.
- Heuskin S., F. J. Verheggen, E. Haubruge, J. P. Wathelet and G. Lognay. 2011. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 15 (3): 459-470.
- Metckalf, R. L. and W. H. Luckman. 1990. *Introducción al manejo integrado de plagas de insectos*. J. Wiley & Sons. Inc. 710 pág.
- Muñiz-Merino M., J. Cibrián-Tovar, C. Hidalgo-Moreno, N. Bautista-Martínez, H. Vaquera-Huerta and C. Aldama-Aguilera. 2014. Compuestos volátiles atraen al picudo (*Anthonomus eugenii* Cano) del chile (*Capsicum* spp.) y presentan sinergia con su feromona de agregación. *Agrociencia* 48 (8): 819-832.
- Magalhães D. M., M. Borges, R. A. Laumann, C. M. Woodcock, D. M. Withall, J. A. Pickett, M. A. Birkett and M. C. Blassioli-Moraes. 2018. Identification of volatile compounds involved in host location by *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). *Frontiers in Ecology and Evolution* 6 (98): 1-12.
- Mette-Cecilie N., C. E. Sansom, L. Larsen, S. P. Worner, M. Rostás, R. B. Chapman, R. C. Butler, W. J. De Kogel, M. M. Davidson, N. B. Perry and D. A. J. Teulon. 2019. Volatile compounds as insect lures: factors affecting release from passive dispenser systems. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 1175-8783.
- Patrock R. J., D. J. Schuster and E. R. Mitchell. 1992. Field evidence for an attractant produced by the male pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 75 (1): 138-144.
- Riley D. G. and D. J. Schuster. 1994. Pepper weevil adult response to colored sticky traps in pepper fields. *Southwestern Entomologist* 19 (2): 93-107.
- Reddy G. V. P., S. Wu, R. C. Mendi and R. H. Miller. 2014. Efficacy of pheromone trapping of the Sweetpotato weevil (Coleoptera: Brentidae): based on dose, septum age, attractive radius, and mass trapping. *Environmental Entomology* 43 (3): 767-773.
- Segarra-Carmona A. E. and A. Pantoja. 1988. Evaluation of relative sampling methods for population estimation of the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Agriculture, University of Puerto Rico* 72: 387-393.
- Szendrei Z, A. Averill, H. Alborn and C. Rodriguez-Saona. 2011. Identification and field evaluation of attractants for the Cranberry weevil, *Anthonomus musculus* Say. *Journal of Chemical Ecology* 37 (4): 387-397.
- Silva D., J. Salamanca, V. Kyryczenko-Roth and C. Rodriguez-Saona. 2018. Comparison of trap types, placement, and colors for monitoring *Anthonomus musculus* (Coleoptera: Curculionidae) adults in highbush blueberries. *Journal of Insect Science* 18 (2): 1-9.

- Velázquez-González, J. C. 2011, Compuestos volátiles que median la interacción entre *Anthonomus eugenii* Cano y *Capsicum annuum*, Tesis de doctorado ciencias en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. pp. 1-59.
- Wibe A., A. K. Borg-Karlon, J. Cross, H. Bichao, M. Fountain, I. Liblikas and L. Sigsgaard. 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

Los tubos eppendorf retuvieron los compuestos hasta por 28 días de exposición en campo, mientras que en las bolsas de polietileno únicamente se identificaron los compuestos hasta 21 días. Las áreas de los compuestos sintéticos del chile comparadas con las áreas de los componentes de la feromona de agregación obtenidos por cromatografía de gases, fueron diferentes, esto posiblemente tenga que ver con los dispositivos utilizados para la mezcla sintética.

Las trampas con Z-3-hexenil acetato, Z- α -ocimeno, E- α -ocimeno, terpinoleno y 2 isobutil-3-metoxipirazina, así como el aceite esencial de botones flores del chile registraron insectos hasta 10 m, sin embargo, es necesario mejorar la mezcla con otros compuestos. La feromona de agregación con los compuestos sintéticos o aceite esencial, no aumentaron las recapturas, comparadas con las trampas con la feromona individual.

La feromona de agregación es una herramienta efectiva para la captura de adultos del picudo del chile, y se recomienda utilizarla antes de la floración, después de la cosecha y cuando no hay cultivo para eficientizar la captura de los insectos.