

EMISORES DE LOS VOLÁTILES DE ATRACCIÓN DE *Trichobaris championi* BARBER

EMITTERS OF ATTRACTION VOLATILES OF *Trichobaris championi* BARBER

Humberta G. Calyecac-Cortero¹, Juan Cibrián-Tovar¹, José López-Collado² y Rómulo García-Velasco³

¹Entomología y Acarología, ³Fitopatología. Campus Montecillo Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México (hcalyecac@colpos.mx). ²Campus Veracruz. Colegio de Postgraduados. Rancho Tepetates. 91690. Municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, Veracruz.

RESUMEN

La finalidad de este trabajo fue identificar al emisor de los compuestos de atracción de *Trichobaris championi* Barber. En ensayos con olfatómetro de dos vías, se observó que los machos atrajeron más que las hembras ($p \leq 0.029$), que los machos atrajeron a más machos que hembras ($p \leq 0.046$), y que *Physalis ixocarpa* Brot. fue atractivo para machos y hembras ($p \leq 0.001$). En trampas de caída, colocadas en invernadero, se capturaron más hembras en trampas con tomate, en comparación con las que tenían machos ($p \leq 0.066$); se capturaron más machos en trampas con tomate que en trampas con machos ($p \leq 0.011$) y la combinación de los volátiles atrayentes liberados por el macho, más los liberados por su hospedero proporcionó el mejor estímulo de atracción para el picudo del tomate de cáscara ($p \leq 0.008$).

Palabras clave: *Physalis ixocarpa*, aleloquímicos, feromona, picudo del tomate de cáscara.

INTRODUCCIÓN

El picudo del tomate de cáscara (PTC) *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae) ha adquirido gran importancia en los últimos diez años por el daño que causa al cultivo de tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* Brot. en diferentes Estados de la República Mexicana (Bautista y Morales, 2000); en la zona hortícola del Altiplano Poblano es la principal plaga del tomate de cáscara (Huerta-Paniagua *et al.*, 2004). En cultivos de siembra directa las primeras infestaciones ocurren en plántulas que tienen alrededor de 5 mm de diámetro, mientras que en cultivos de trasplante la infestación comienza desde pocas horas de establecido el cultivo (Bautista *et al.*, 2003) hasta 3 a 7 d después del trasplante. Los adultos que llegan al cultivo se alimentan, se aparean e inician la oviposición (Huerta *et al.*, 2003). En este y otros insectos, la emisión y detección de sustancias químicas tiene una función vital en la búsqueda de alimento, sitios de

ABSTRACT

The purpose of the present study was to identify the emitter of the attraction compounds of *Trichobaris championi* Barber. In assays with two way olfactometer, it was observed that the males attracted more than the females ($p \leq 0.029$), that the males attracted more males than females ($p \leq 0.046$), and that *Physalis ixocarpa* Brot. was attractive to males and females ($p \leq 0.001$). In pitfall traps, placed in the greenhouse, more females were captured in traps with tomato, compared with those that had males ($p \leq 0.011$) and the combination of the attracting volatiles released by the male, plus those released by the host provided the best attraction stimulus for the husk tomato weevil ($p \leq 0.008$).

Key words: *Physalis ixocarpa*, allelochemicals, pheromone, husk tomato weevil.

INTRODUCTION

The husk tomato weevil (PTC) *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae) has acquired great importance in the last ten years because of the damage that it causes to the husk tomato *Physalis ixocarpa* Brot. in different States of the Mexican Republic (Bautista and Morales, 2000); in the horticultural zone of the Puebla Highlands it is the principal pest of husk tomato (Huerta-Paniagua *et al.*, 2004). In crops of direct planting the first infestations occur in seedlings that have a diameter of approximately 5 mm, whereas in transplanted crops the infestation begins from a few hours after the crop has been established (Bautista *et al.*, 2003) to 3 to 7 d after transplanting. The adults that reach the crop feed, mate and initiate oviposition (Huerta *et al.*, 2003). In this species and in other insects, the emission and detection of chemical substances has a vital function in the search for food, and sites for oviposition, mating and refuge, among other things. The study of this phenomenon has made it possible to obtain information of the substances that mediate the plant-insect interaction and to utilize them to achieve the management and control of the insect pests (García and Osorio, 2000).

Recibido: Septiembre, 2005. Aprobado: Mayo, 2006.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 40: 655-663. 2006.

oviposición, apareamiento y refugio, entre otros. El estudio de este fenómeno ha permitido obtener información sobre las sustancias que median la interacción planta-insecto y aprovecharlas para lograr el manejo y control de las plagas insectiles (García y Osorio, 2000).

Las feromonas y aleloquímicos son herramientas potenciales para el control de plagas insectiles. Específicamente, en curculiónidos, la mayoría de las feromonas detectadas, incluso a grandes distancias, son producidas por los machos y usualmente atraen ambos sexos; sin embargo, también se han reportado feromonas de hembras, que incluyen feromonas sexuales de amplio alcance que atraen generalmente a machos, feromonas de corto rango y feromonas de marcaje (Bartelt, 1999). Los aleloquímicos volátiles de la planta hospedera atraen machos y hembras (Bernays, 2001) y tienen un factor sinérgico de atracción en combinación con la feromona del insecto (Jaffé *et al.*, 1993). En la mayoría de los casos donde se ha identificado la fuente responsable de liberar feromonas o aleloquímicos y se ha determinado el tipo de respuesta (Baker y Cardé, 1984), se ha utilizado ensayos de comportamiento o bioensayos (Bell y Tobin, 1982), considerando que el comportamiento es el resultado de la interacción entre los estímulos externos y el estado fisiológico interno del insecto (Kuenen y Baker, 1981, Bell *et al.*, 1995). Sin embargo, es escasa la información sobre las sustancias que intervienen en la interacción de *T. championi* y *P. ixocarpa*, y se requiere investigar la existencia de semioquímicos en esta interacción, para su posterior identificación y aprovechamiento. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar a los organismos responsables de generar los compuestos volátiles de atracción de *T. championi* mediante ensayos en laboratorio e invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayos en laboratorio

Durante mayo de 2003, en parcelas comerciales ubicadas en Acatzingo, Puebla, se recolectaron plantas de tomate de cáscara infestadas con PTC y se llevaron al Laboratorio de Ecología Química de Insectos del Colegio de Postgraduados. Se retiraron hojas y raíces y los tallos se colocaron en charolas que se mantuvieron a 25 °C \pm 2 y humedad relativa de 60% \pm 4 con un fotoperíodo de 12:12 h luz:oscuridad. En junio del mismo año se extrajeron los adultos recién emergidos y se separaron por sexo. En cajas de Petri (Kimax®) de 14 cm de diámetro se colocaron σ y φ por separado, sin alimento (grupo 1); y σ y φ juntos colocando tallos y hojas de tomate de cáscara (grupo 2).

Los ensayos de atracción se realizaron en un olfatómetro de doble vía que consistió de un compartimiento principal (matraz

Pheromones and allelochemicals are potential tools for the control of insect pests. Specifically, in Curculionidae, most of the pheromones detected are produced by the males and usually attract both sexes, these are detected at great distances; however, pheromones of females have also been reported, which include wide range sexual pheromones which generally attract males, short range pheromones and marking pheromones (Bartelt, 1999). The volatile allelochemicals of the host plant attract males and females (Bernays, 2001) and have a synergistic factor of attraction in combination with the pheromone of the insect (Jaffé *et al.*, 1993). In most of the cases in which the source responsible for releasing pheromones or allelochemicals has been identified, and the type of response has been determined (Baker and Cardé, 1984), behavior assays or bioassays have been used (Bell and Tobin, 1982), taking into account that the behavior is the result of the interaction between the external stimuli and the internal physiological state of the insect (Kuenen and Baker, 1981; Bell *et al.*, 1995). However, there is little information on the substances that intervene in the interaction of *T. championi* and *P. ixocarpa*, thus it is necessary to investigate the existence of semiochemicals in this interaction, for their later identification and use. Therefore, the objective of the present study was to identify the organisms responsible for generating the volatile compounds of attraction of *T. championi* by means of assays in the laboratory and the greenhouse.

MATERIALS AND METHODS

Laboratory assays

During May of 2003, in commercial plots located in Acatzingo, Puebla, husk tomato plants infested with PTC were collected and then taken to the Insect Chemical Ecology Laboratory of the Colegio de Postgraduados. Leaves and roots were removed and the stems were placed in trays that were maintained at 25 °C \pm 2 and relative humidity at 60% \pm 4 with a photoperiod of 12:12 h light:darkness. In June of the same year the recently emerged adults were extracted and were separated by sex. In Petri dishes (Kimax®) with a diameter of 14 cm, σ and φ were placed separately, without food (group 1); and σ and φ together placing stems and leaves of husk tomato (group 2).

The attraction assays were carried out in a two way olfactometer which consisted of a main compartment (4 L Erlenmeyer flask), in which the adult insects were introduced. For each treatment 125 L Kitasato flasks (Kimax®) were used and they were coupled at the base of the main chamber with rubber stoppers. In the upper part of the main chamber, a rubber stopper was placed with a central orifice with which the olfactometer was connected to a vacuum pump by means of a glass tube and hose (Tygon®) without volatiles. The air flow was 1.5 L min⁻¹, from the small matrasses to the main chamber.

Erlenmeyer, 4 L), en el que se introdujeron los insectos adultos. Para cada tratamiento se usaron matraces Kitasato de 125 mL (Kimax®) acoplados a la base de la cámara principal con tapones de goma. En la parte superior de la cámara principal se colocó un tapón de goma con un orificio central con el que se conectó el olfatómetro a una bomba de vacío mediante un tubo de vidrio y manguera (Tygon®) sin volátiles. El flujo de aire fue 1.5 L min^{-1} , desde los matraces pequeños al compartimiento principal. El olfatómetro se colocó sobre una estructura metálica con base de cristal corrugado; ésta se instaló sobre una lámpara tipo luz de día con doble tubo circular (22 y 32 W) (Figura 1).

Todo el sistema se ubicó en el interior de un túnel de viento, de acrílico ($80 \times 180 \times 80 \text{ cm}$), con iluminación de luz de día proveniente de dos lámparas de 50 W y una velocidad de aire de 0.3 m s^{-1} , el cual se corría después de cada prueba individual por 10 min.

En cada prueba la fuente de volátiles se colocó en uno de los matraces pequeños, mientras que el otro matraz estuvo vacío (testigo). La posición del tratamiento y el testigo en el olfatómetro se alternó en cada repetición para disminuir el efecto de la posición. Los adultos a responder fueron 20 machos, 20 hembras o 10 machos y 10 hembras de 15 a 20 d de edad, que se ubicaron por separado y se aclimataron a las condiciones del cuarto donde estaba el olfatómetro 3 h antes de iniciar de la prueba. Los insectos a responder se introdujeron por la parte superior del compartimiento principal; luego se colocó el tapón de goma para sellar la abertura y se encendió la bomba de vacío. Antes de cada prueba, el olfatómetro se lavó con jabón líquido libre de fosfatos (Extran®), agua, acetona y hexano grado reactivo. Los insectos no se utilizaron más de dos ocasiones. Los factores fueron: 1) sexo de los picudos (machos, hembras, machos+hembras y testigo) colocados para producir atracción (emisor); 2) tomate de cáscara (presencia y ausencia); 3) insectos receptores (macho o hembra); 4) condición en que se mantuvieron los insectos después de ser extraídos de los tallos del tomate de cáscara (separados por sexo y sin alimentar, y macho y hembra juntos más alimento). El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial $4 \times 2 \times 2 \times 2$ con cuatro repeticiones. La variable respuesta fue la atracción neta, que se calculó como la diferencia entre el número de insectos que entraron al matraz con el tratamiento (fuente de volátiles) y el número de insectos que entraron al matraz vacío (testigo).

Ensayos en invernadero

Durante julio de 2004, en Acatzingo, Puebla, se recolectaron nuevamente plantas de tomate de cáscara infestadas con *T. championi* y se manejaron de manera similar y en las mismas condiciones que las plantas recolectadas en mayo de 2003. Los insectos se mantuvieron separados por sexo, y en los primeros 8 d se colocaron tallos y hojas de tomate de cáscara como alimento, y después sólo algodón con agua azucarada. En octubre del mismo año, cuando los insectos salieron del periodo de hibernación y tuvieron su sistema reproductivo maduro (Calyecac y Cibrián, 2004), se iniciaron los ensayos en un invernadero. En una jaula ($2.0 \times 1.5 \times 1.0 \text{ m}$) cubierta con manta, se colocaron trampas de caída (pitfall traps) que consistieron de frascos

The olfactometer was placed on a metal structure with a corrugated crystal base; this was installed on a daylight type lamp with double circular tube (22 and 32 W) (Figure 1).

The entire system was placed in the inside of a wind tunnel, made of acrylic ($80 \times 180 \times 80 \text{ cm}$), with daylight illumination coming from two 50 W lamps and an air velocity of 0.3 m s^{-1} , which ran after each individual test during 10 min.

In each test, the source of volatiles was placed in one of the small flasks, while the other flask remained empty (control). The position of the treatment and the control in the olfactometer was alternated in each replicate to reduce the effect of the position. The adults to respond were 20 males, 20 females or 10 males and 10 females from 15 to 20 d of age, which were placed separately and were acclimated to the conditions of the room where the olfactometer was located 3 h before the start of the test. The insects to respond were introduced through the upper part of the main chamber; then the rubber stopper was placed to seal the opening and the vacuum pump was turned on. Before each test, the olfactometer was washed with liquid soap free of phosphates (Extran®), water, acetone and reactive grade hexane. The insects were not utilized more than two occasions. The factors were: 1) sex of the weevils (males, females, males+females and control) placed to produce attraction (emitter); 2) husk tomato (presence and absence); 3) receptor insects (male or female); 4) condition in which the insects were maintained after being extracted from the husk tomato stems (separated by sex and without food, and male and female together plus food). The experimental design was completely random with a $4 \times 2 \times 2 \times 2$ factorial arrangement with four replicates. The response variable was the net attraction, which was calculated as the difference between the number of insects that entered the flask with the treatment (source of volatiles) and the number of insects that entered the empty flask (control).

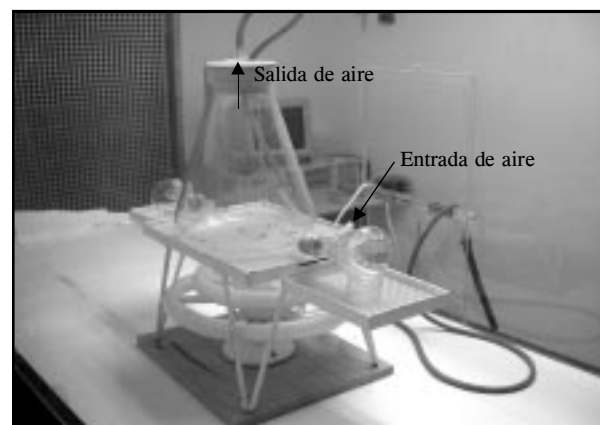


Figura 1. Olfatómetro de doble vía utilizado en los ensayos para identificar la fuente de los volátiles de atracción de adultos de *T. championi*.

Figure 1. Two way olfactometer utilized in the assays to identify the source of the attraction volatiles of adults of *T. championi*.

de plástico transparente (20 cm alto y 8 cm diámetro) en los cuales, a una distancia de 3 cm de la tapa, se realizaron 10 orificios de 0.5 cm de diámetro (Tilles *et al.*, 1986). Las trampas se insertaron en el piso de la jaula de manta con los orificios a 1 cm de distancia del piso, para facilitar la entrada de los picudos atraídos. Se aplicó vaselina inodora en la pared interior de la trampa para evitar el escape de los insectos capturados. En vasos pequeños de plástico cubiertos con tela de tul, se colocaron: 1) 20 machos más tres plántulas de tomate de cáscara, o 2) 20 hembras más tres plántulas de tomate de cáscara, según el tratamiento a evaluarse. En el eje central longitudinal de cada jaula se colocaron dos trampas a una distancia de 1.5 m entre trampa. Se liberaron 1) 50 machos, o 2) 50 hembras en el centro de la jaula y los adultos capturados se contabilizaron y retiraron tres veces al día durante 48 h.

Para los ensayos en invernadero las variables fueron captura neta y captura por trampa. La captura neta se calculó restando el número de insectos que entraron a la trampa vacía (testigo) al número de insectos que entraron a la trampa con el tratamiento (fuente de volátiles). Hubo tres factores: 1) sexo de los picudos, denominado emisor (machos o hembras); 2) plántulas de tomate de cáscara de 15 a 30 d de emergidas, denominado tomate (presente, ausente y testigo); 3) sexo a responder, denominado receptor (macho o hembra); así resultaron 12 tratamientos. En cada prueba los tratamientos se colocaron en una de las trampas, mientras que la otra se mantuvo vacía (testigo). La posición del tratamiento y el testigo en la jaula se alternó en cada repetición para eliminar sesgo por posición. Se realizaron cuatro repeticiones y los insectos no se utilizaron más de dos ocasiones.

En los ensayos donde la variable fue captura por trampa, se evaluó la atracción de machos y hembras hacia dos tratamientos: 20 machos contra 20 machos más tres plántulas de tomate de cáscara, y 20 machos contra tres plántulas de tomate de cáscara. Hubo cuatro repeticiones y los insectos no se usaron más de dos ocasiones.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial. En los ensayos de laboratorio los factores fueron: emisor, tomate, receptor y alimentación ($4 \times 2 \times 2 \times 2$), mientras que en el primer experimento de invernadero los factores fueron: emisor, tomate y receptor ($2 \times 3 \times 2$). Con los datos de los ensayos en laboratorio e invernadero se hizo un análisis de varianza (SAS Institute, 1998) y se realizaron contrastes ortogonales. Para los ensayos de laboratorio los contrastes fueron: en la interacción emisor*receptor 1) atracción de machos (M) hacia M y hembras (H) vs atracción de H hacia M y H, 2) atracción de M hacia M vs atracción de M hacia H; en el factor emisor 1) atracción de M más tomate (T)+M vs atracción de H más T+H, 2) atracción de H+M más T+H+M vs atracción de M más T+M. Para el primer experimento de invernadero los contrastes fueron: en la interacción tomate*emisor 1) atracción T+M vs atracción de M; en el factor emisor 1) atracción de M más tomate (T)+M vs atracción de H más T+H. En el segundo experimento de invernadero, los datos de número de insectos capturados se analizaron con pruebas de t.

Assays in the greenhouse

During July of 2004, in Acatzingo, Puebla, once again husk tomato plants were collected, infested with *T. championi*, and were handled in a similar way and under the same conditions as the plants collected in May of 2003. The insects were maintained separated by sex, and in the first 8 d stems and leaves of husk tomato were placed as food, and afterwards only cotton with sugared water. In October of the same year, when the insects came out of the hibernation period and had a mature reproductive system (Calyecac and Cybrián, 2004), the assays were initiated in the greenhouse. In a cage ($2.0 \times 1.5 \times 1.0$ m) covered with cloth, pitfall traps were placed, consisting of transparent plastic jars (20 cm high and 8 cm diameter) in which, at a distance of 3 cm from the cover, 10 openings of 0.5 cm diameter were made (Tilles *et al.*, 1986). The traps were inserted in the floor of the cloth cage with the openings at a distance of 1 cm from the floor, to facilitate the entrance of the attracted weevils. A layer of odorless Vaseline was applied on the interior wall of the trap to prevent the captured insects from escaping. In small plastic cups covered with mesh cloth, the following were placed: 1) 20 males plus three seedlings of husk tomato, or 2) 20 females plus three seedlings of husk tomato, according to the treatment to be evaluated. In the central longitudinal axis of each cage two traps were placed at a distance of 1.5 m between traps. The following were released: 1) 50 males or 2) 50 females in the center of the cage and the captured adults were counted and removed three times a day during 48 h.

For the assays in the greenhouse, the variables were net capture and capture per trap. The net capture was calculated by subtracting the number of insects that entered the empty trap (control) from the number of insects that entered the trap with the treatment (source of volatiles). There were three factors: 1) sex of the weevils, denominated emitter (males or females); 2) husk tomato seedlings of 15 to 30 d emergence, denominated tomato (present, absent and control); 3) sex to respond, denominated receptor (male or female); thus, there were 12 treatments. In each test the treatments were placed in one of the traps, while the other was maintained empty (control). The position of the treatment and the control in the cage was alternated in each replicate to eliminate bias due to position. Four replicates were carried out and the insects were not utilized more than two occasions.

In the assays where the variable was capture per trap, the attraction of males and females toward the two treatments was evaluated: 20 males against 20 males plus three husk tomato seedlings, and 20 males against three husk tomato seedlings. Four replicates were carried out and the insects were not utilized more than two occasions.

Statistical analysis

A completely randomized design was used with a factorial arrangement. In the laboratory assays the factors were: emitter, tomato, receptor and food ($4 \times 2 \times 2 \times 2$), whereas in the first greenhouse experiment the factors were: emitter, tomato and receptor ($2 \times 3 \times 2$). With the data of the assays in the laboratory and the

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos en laboratorio

El análisis estadístico de los resultados mostró la ausencia de interacciones cuádruples y triples entre alimentación, tomate, emisor y receptor. Sólo hubo una interacción doble entre el emisor y el receptor (Cuadro 1). Para el factor alimento los picudos tuvieron la misma respuesta cuando permanecieron separados por sexo y sin alimentar, como cuando el macho y la hembra estuvieron juntos y con alimento. Al respecto se observó que en *T. championi* jóvenes (15 a 20 d de emergido el adulto) no afectó la respuesta si los individuos del mismo sexo permanecieron juntos o separados. Esto puede deberse a que a esta edad el insecto no se aparea debido a que su genitalia aún no madura, como sucede con *Hylobius pales* (Hoffman y Raffa, 1992). Si *T. championi* se alimentaba o no, tampoco influyó en la atracción del insecto, a diferencia de los machos de *Rhynchophorus palmarum* que necesitan estar en contacto con su planta hospedante para liberar la feromona de agregación y atraer a sus coespecíficos (Jaffé *et al.*, 1993).

Para el factor receptor, tanto machos como hembras respondieron de manera similar a los tratamientos (Cuadro 1), lo que concuerda con lo reportado por Tafoya *et al.* (2003) quienes realizaron ensayos de atracción con *Metamasius spinolae* en un olfatómetro de dos vías.

Para los factores tomate y emisor (Cuadro 1) se observó que la respuesta de los insectos a estas dos fuentes de volátiles mostró una atracción altamente significativa ($p=0.001$ y $p=0.007$).

La interacción emisor*receptor, analizada mediante dos contrastes ortogonales, indicó que los machos atraen a más machos y hembras en comparación con la atracción ejercida por las hembras hacia machos y hembras ($p=0.046$), y que los machos atraen a más machos que a hembras ($p=0.038$) (Figura 2). Estos resultados indican que el macho produce una feromona de agregación, como ocurre en la mayoría de los curculionidos (Howse *et al.*, 1998). Además, lo observado en estos ensayos concuerda con lo mencionado por Hardee *et al.* (1974) en el caso de la feromona de agregación de *A. grandis*, producida por los machos, que provoca una atracción mayor de machos que de hembras.

El factor emisor, analizado por dos contrastes ortogonales, mostró que los machos atraen más que las hembras ($p=0.029$) y que la presencia de las hembras interfirió con la atracción de machos ($p=0.046$) (Figura 2). Tafoya *et al.* (2003) obtuvieron resultados similares con *M. spinolae*.

greenhouse, an analysis of variance was made (SAS Institute, 1998), and orthogonal contrasts were carried out. For the laboratory assays the contrasts were as follows: in the interaction emitter*receptor 1) attraction of males (M) toward M and females (F) vs attraction of F toward M and F, 2) attraction of M toward M vs attraction of M toward F; in the emitter factor 1) attraction of M plus tomato (T)+M vs attraction of F plus T+F, 2) attraction of F+M plus T+F+M vs attraction of M plus T+M. For the first greenhouse experiment the contrasts were: in the interaction tomato*emitter 1) attraction T+M vs attraction of M; in the emitter factor 1) attraction of M plus tomato (T)+M vs attraction of F plus T+F. In the second greenhouse experiment, the data of number of insects captured were analyzed by means of t tests.

RESULTS AND DISCUSSION

Laboratory assays

The statistical analysis of the results showed the absence of quadruple and triple interactions among food, tomato, emitter and receptor. There was only a double interaction between the emitter and the receptor (Table 1). For the food factor, the weevils had the same response when they remained separated by sex and without food, as when the male and the female were together and with food. To this respect it was observed that in young *T. championi* (15 to 20 d after adult emergence), the response was not affected if the individuals of the same sex remained together or separated. This could be due to the fact that at this age the insect does not mate because its genitalia is not yet mature, as is the case with *Hylobius pales* (Hoffman

Cuadro 1. Resultados del análisis factorial de la atracción neta de los adultos de *T. championi* con distintas fuentes de volátiles en laboratorio.

Table 1. Results of the factorial analysis of the net attraction of the adults of *T. championi* with different sources of volatiles in the laboratory.

Fuente de variación	Grados de libertad	F calculada	Significancia
Alimentación (A)	1	0.13	0.719
Tomate (T)	1	81.17	0.001
Emisor (E)	3	4.23	0.007
Receptor (R)	1	2.70	0.104
A*T	1	0.85	0.359
A*E	3	1.68	0.177
A*R	1	0.01	0.905
T*E	3	0.35	0.787
T*R	1	0.00	0.968
E*R	3	5.33	0.002
A*T*E	3	2.36	0.076
A*T*R	1	0.58	0.449
T*E*R	3	2.46	0.067
A*T*E*R	6	0.61	0.719

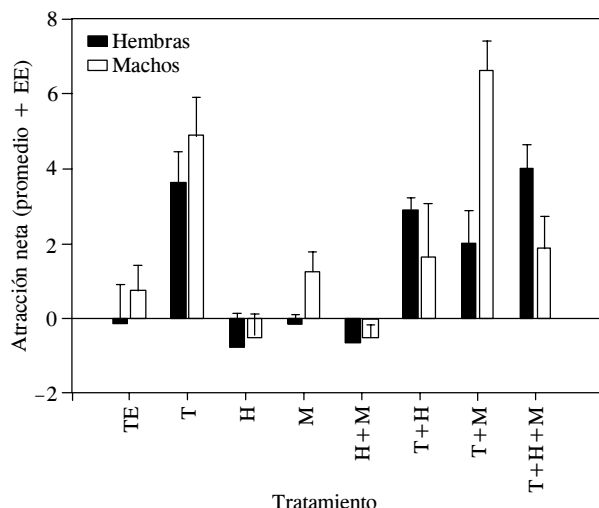


Figura 2. Atracción de adultos del picudo del tomate de cáscara a diferentes tratamientos, utilizando un olfatómetro de doble vía. Testigo (TE), tomate de cáscara (T), hembras (H) y machos (M). EE=Error estándar.

Figure 2. Attraction of adults of the husk tomato weevil to different treatments, utilizing a two way olfactometer. Control (CE), husk tomato (T), females (F) and males (M). SE=Standard error.

Con el factor tomate se observó que su inclusión causó más atracción que cuando no estuvo presente ($p=0.001$) (Figura 2). Esto coincide con lo detectado con *Cosmopolites sordidus*, donde Budenberg *et al.* (1993) reportan gran atracción de este picudo hacia pseudotallo y rizomas de plátano, su planta hospedera.

Ensayos en invernadero

Los resultados de captura neta en invernadero mostraron la ausencia de interacción triple y sólo hubo una interacción doble entre sexo emisor y tomate de cáscara (Cuadro 2).

Para la interacción tomate*emisor se encontró que los machos+tomate atraen más adultos (machos y hembras) en comparación con la atracción ejercida por los machos solos ($p\leq 0.0085$). Ruiz-Montiel *et al.* (2003) investigaron la respuesta olfativa de *Scyphophorus acupunctatus* y obtuvieron resultados similares en ensayos de laboratorio, utilizando un olfatómetro de tubo tipo Y.

Para el factor sexo emisor se encontró que, los machos atraen más que las hembras ($p\leq 0.0001$) (Figura 3). El hecho de que el macho provoque atracción de ambos sexos sugiere la presencia de una feromona de agregación. En 34 especies de curculionidos se ha documentado la presencia de feromonas, usualmente producidas por los machos, que atraen a ambos sexos (Bartelt, 1999).

and Raffa, 1992). Whether or not *T. championi* was fed had no effect on the attraction of the insect either, as opposed to the males of *Rhynchophorus palmarum*, which need to be in contact with its host plant in order to release the aggregation hormone and attract its conspecifics (Jaffé *et al.*, 1993).

For the receptor factor, both males and females responded similarly to the treatments (Table 1), which concurs with what was reported by Tafoya *et al.* (2003), who carried out attraction assays with *Metamasius spinolae* in a two way olfactometer.

For the factors tomato and emitter (Table 1), it was observed that the response of the insects to these two sources of volatiles showed a highly significant attraction ($p=0.001$ and $p=0.007$).

The emitter*receptor interaction, analyzed through two orthogonal contrasts, indicated that the males attract more males and females compared to the attraction exerted by the females toward the males and females ($p=0.046$), and that the males attract more males than females ($p=0.038$) (Figure 2). These results indicate that the male produces an aggregation pheromone, as occurs in most of the Curculionidae (Howse *et al.*, 1998). Furthermore, what was observed in these assays concurs with what was mentioned by Hardee *et al.* (1974) in the case of the aggregation pheromone of *A. grandis*, produced by the males, which provokes a greater attraction of males than of females.

The emitter factor, analyzed through two orthogonal contrasts, showed that the males attract more than the females ($p=0.029$) and that the presence of the females interfered with the attraction of males ($p=0.046$) (Figure 2). Tafoya *et al.* (2003) obtained similar results with *M. spinolae*.

With the tomato factor, it was observed that when included, there was more attraction than where this plant was not present ($p=0.001$) (Figure 2). This coincides with what was detected with *Cosmopolites*

Cuadro 2. Resultados del análisis factorial de la atracción neta de los adultos de *T. championi* a distintas fuentes de volátiles en invernadero.

Table 2. Results of the factorial analysis of the net attraction of the adults of *T. championi* to different sources of volatiles in the greenhouse.

Fuente de variación	Grados de libertad	F calculada	Valor de P
Tomate (T)	1	162.10	0.001
Emisor (E)	2	13.65	0.001
Receptor (R)	1	2.76	0.105
T*E	2	5.46	0.008
T*R	1	0.64	0.429
E*R	2	0.85	0.435
T*E*R	2	0.19	0.832

Para el factor tomate se observó que *P. ixocarpa* ejerce atracción ($p \leq 0.0001$). Huerta-Paniagua *et al.* (2004) mencionan que los adultos de *T. championi* terminan su período de hibernación e infestan a *P. ixocarpa* en estado de plántula, entre el tercer y séptimo día después del trasplante. Esto indica que el picudo del tomate de cáscara se guía por los volátiles emitidos por su hospedero para localizarlo. Este mismo patrón se ha observado en *Conotrachelus nenuphar* (Butkewich y Prokopy, 1993).

En los ensayos en invernadero donde se midió captura por trampa, se capturaron más machos en las trampas cebadas con machos+tomate de cáscara, en comparación con las trampas cebadas sólo con tomate de cáscara o sólo con machos. También se capturaron más hembras en las trampas cebadas con machos+tomate de cáscara, en comparación con las trampas cebadas sólo con tomate de cáscara o sólo con machos (Cuadro 3).

Estos resultados corroboran los obtenidos en los ensayos en laboratorio que indican que los machos de *T. championi* liberan una feromona de agregación, ya que tanto machos como hembras son atraídos a sitios de alimentación y oviposición, como sucede en varios insectos fitófagos (Landolt, 1997). La combinación de los volátiles atrayentes liberados por el macho más aquellos liberados por su hospedante proporcionan el mejor estímulo de atracción para el picudo del tomate de cáscara. Ésto mismo se observa en *C. nenuphar* (Prokopy *et al.*, 1995); *Carpophilus humeralis* (Zilkowski *et al.*, 1999), *Ceutorhynchus assimilis* (Nazzi *et al.*, 2001) y *C. sordidus* (Gold *et al.*, 2002).

Considerando que los resultados de laboratorio y los de invernadero indicaron la liberación de una feromona de agregación en machos, los últimos ensayos de invernadero donde se capturaron más hembras y machos en las trampas con tomate en comparación con las que contenían sólo machos (Cuadro 3), corroboraron lo mencionado por Howse *et al.* (1998). Estos autores describen al sistema de comunicación dual de volátiles de la planta hospedera y feromonas, donde, al salir de un período de hibernación, primero el insecto se orienta hacia los olores de su planta hospedera para encontrarla, alimentarse y, una vez que sus funciones fisiológicas están reestablecidas, realizar actividades para lograr el encuentro sexual, como por ejemplo la liberación de algún tipo de feromona.

CONCLUSIONES

Los ensayos de atracción en laboratorio e invernadero indican que las plantas de tomate de cáscara, en primer lugar, seguido de los machos de *T. championi*, atraen tanto machos como hembras de este insecto y

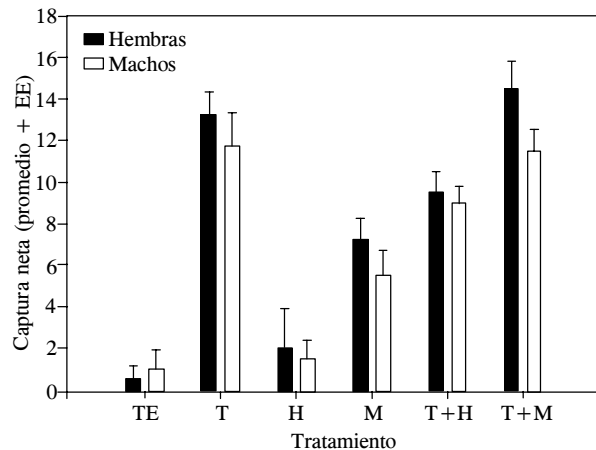


Figura 3. Captura de adultos de picudo del tomate de cáscara, en 48 h, con diferentes tratamientos, utilizando trampas de caída. Testigo (TE), tomate de cáscara (T), hembras (H) y machos (M). EE=Error estándar.

Figure 3. Capture of adults of husk tomato weevil, in 48 h, with different treatments, utilizing pitfall traps. Control (CE), husk tomato (T), females (F) and males (M). SE=Standard error.

sordidus, where Budenberg *et al.* (1993) report great attraction of this weevil toward pseudostems and rhizomes of banana, its host plant.

Greenhouse assays

The results of net capture in the greenhouse indicated the absence of triple interaction, and there was only a double interaction between emitter sex and husk tomato (Table 2).

For the tomato*emitter interaction, it was found out that the males+tomato attract more adults (males and females) compared with the attraction exerted by the males alone ($p \leq 0.0085$). Ruiz-Montiel *et al.* (2003) investigated the olfactory response of *Scyphophorus acupunctatus* and obtained similar results in laboratory assays, utilizing a Y tube olfactometer.

For the emitter sex factor, it was found out that the males attract more than the females ($p \leq 0.0001$) (Figure 3). The fact that the male is provoking attraction of both sexes suggests the presence of an aggregation pheromone. In 34 species of Curculionidae the presence of pheromones has been documented, usually produced by the males, which attracts both sexes (Bartelt, 1999).

For the tomato factor it was observed that *P. ixocarpa* exerts attraction ($p \leq 0.0001$). Huerta-Paniagua *et al.* (2004) mention that the adults of *T. championi* finish their hibernation period and infest *P. ixocarpa* in the seedling stage, between the third and seventh day after transplanting. This indicates that husk tomato weevil is guided by the volatiles emitted by its host to

Cuadro 3. Adultos de *T. championi* capturados durante 48 h, en trampas de caída, en invernadero.
Table 3. Adults of *T. championi* captured during 48 h, in pitfall traps, in the greenhouse.

Insectos a responder	Atracción (promedio \pm EE)		Significancia
	Tomate	vs. Machos + tomate	
Hembra	13 \pm 0.89	16.75 \pm 1.37	0.009
Macho	12.5 \pm 0.65	16.5 \pm 0.95	0.003
	Machos	vs. Machos + tomate	
Hembra	13 \pm 0.91	17 \pm 1.14	0.011
Macho	11.5 \pm 0.64	15.75 \pm 0.47	0.003
	Machos	vs. Tomate	
Hembra	3.42 \pm 1.07	11.25 \pm 1.88	0.066
Macho	4.75 \pm 0.85	12.75 \pm 1.03	0.011

que la combinación de los volátiles atrayentes liberados por el macho más los liberados por su hospedante proporcionan el mejor estímulo de atracción para el picudo del tomate de cáscara.

LITERATURA CITADA

- Baker, T. C., and R. T. Cardé. 1984. Techniques for behavioral bioassays. *In: Techniques in Pheromone Research*. Hummel, H. E. and T. A. Miller (eds). Springer-Verlag, New York. pp: 45-73.
- Bartelt, R. J. 1999. Weevils. *In: Pheromones of Non-Lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants*. Hardie J., and A.K. Minks (eds). CAB Publishing. New York. pp: 91-112.
- Bautista M., N., y O. Morales G. 2000. Insectos defoliadores y barrenadores de mayor importancia en hortalizas. *In: Temas Selectos en Fitosanidad y producción de Hortalizas*. Bautista M., N., A. D. Suárez V., y O. Morales G. (eds). Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad. pp: 1-2.
- Bautista M., N., L. M. Hernández F., y C. Llanderal C. 2003. Insectos de Importancia Agrícola poco Conocidos en México. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 33 p.
- Bell, W. J., and T. R. Tobin. 1982. Chemo-orientation. *Biol. Rev.* 57: 219-260.
- Bell, W. J., L. R. Kipp, and R. D. Collins. 1995. The role of chemo-orientation in search behavior. *In: Chemical Ecology of Insects 2*. Cardé, R. T., and W. J. Bell (eds). Chapman & Hall, New York. pp: 105-153.
- Bernays, E. A. 2001. Especificidad de hospederos en los insectos fitófagos. *In: Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos básicos y perspectivas de su aplicación*. Anaya, A. L., F. Espinosa-García y R. Cruz-Ortega (eds). Plaza y Valdés. México, D. F. pp: 425-458.
- Budenberg, W. J., I. O. Ndiege, F. W. Karago, and B. S. Hansson. 1993. Behavioral and electrophysiological responses of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* to host plant volatiles. *J. Chem. Ecol.* 19: 267-272.

locate it. This same pattern has been observed in *Conotrachelus nenuphar* (Butkewich and Prokopy, 1993).

In the greenhouse assays where capture per trap was measured, more males were captured in the traps baited with males+husk tomato, compared with the traps baited only with husk tomato or only with males. More females were also captured in the traps baited with males+husk tomato, compared with the traps baited only with husk tomato or only with males (Table 3).

These results confirm those obtained in the laboratory assays which indicate that the males of *T. championi* release an aggregation pheromone, given that both males and females are attracted to feeding and oviposition sites, as occurs in various phytophagous insects (Landolt, 1997). The combination of the attracting volatiles released by the male plus those released by its host provide the best attraction stimulus for the husk tomato weevil. This was also observed in *C. nenuphar* (Prokopy *et al.*, 1995); *Carpophilus humeralis* (Zilkowski *et al.*, 1999), *Ceutorhynchus assimilis* (Nazzi *et al.*, 2001) and *C. sordidus* (Gold *et al.*, 2002).

Taking into account that the laboratory results and those of the greenhouse indicated the release of an aggregation pheromone in males, the final greenhouse assays in which more females and males were captured in the traps with tomato compared with those that contained only males (Table 3), corroborated what was mentioned by Howse *et al.* (1998). These authors describe the dual communication system of volatiles of the host plant and pheromones, where, after coming out of a hibernation period, first the insect is oriented toward the odors of its host plant to find it, feed, and once its physiological functions are reestablished, carries out activities to achieve the sexual encounter, such as the release of some type of pheromone.

CONCLUSIONS

The attraction assays in the laboratory and in the greenhouse indicate that the husk tomato plants, in the first place, followed by the males of *T. championi*, attract both males and females of this insect and that the combination of volatiles released by the male plus those released by its host provide the best attraction stimulus for the husk tomato weevil.

—End of the English version—



- Butkewich, S. L., and R. J. Prokopy. 1993. The effect of short-range host odor stimuli on host fruit finding and feeding behavior of plum curculio adults (Coleoptera: Curculionidae). *J. Chem. Ecol.* 19: 825-835.
- Calyecac C., H. G., y J. Cibrián T. 2004. Disposición espacial y grado de desarrollo de ovarios y testículos de *Trichobaris championi* Barber. *In: Entomología Mexicana 2004*. Morales, M. A., M. Ibarra G., A del P. Rivera G. y S. Stanford C (eds). Sociedad Mexicana de Entomología. México. pp: 134-139.
- García R, M. J., y R. Osorio O. 2000. El uso de semioquímicos en el control de plagas de hortalizas. *In: Temas Selectos en Fitosanidad y Producción de Hortalizas*. Bautista M., N., A. D. Suárez V. y O. Morales G. (eds). Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. pp: 76-82.
- Gold, C. S., S. H. Okech, and S. Nokoe. 2002. Evaluation of pseudostem trapping as a control of banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar), populations and damage in Ntugamo district, Uganda. *Bull. Entomol. Res.* 92: 35-44.
- Hardee, D. D., G. H. McKibben, D. R. Rummel, P. M. Huddleston, and J. R. Coppege. 1974. Response of boll weevils to component ratios and doses of the Grandlure. *Environ. Entomol.* 3: 135-138.
- Hoffman, G. D., and K. F. Raffa. 1992. Maturation of the male pales weevil (Coleoptera: Curculionidae) reproductive system and its effects on male response to females. *Annals Entomol. Soc. Am.* 85: 571- 577.
- Howse, P., I. Stevens, and O. Jones. 1998. *Insect Pheromones and their Use in Pest Management*. Chapman and Hall. London. 369 p.
- Huerta P., R. A., N. Bautista M. and J. Romero N. 2003. Present status of *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae) in México. *Southwestern Entomologist* 29: 153-154.
- Huerta-Paniagua, R. A., N. Bautista-Martínez, H. Bravo-Mojica, J. L. Carrillo-Sánchez, y O. Díaz-Gómez. 2004. Distribución altitudinal de *Trichobaris championi* Barber (Coleoptera: Curculionidae) y observaciones de campo sobre su biología. *Agrociencia* 38: 97-106.
- Jaffé, K., P. Sánchez, H. Cerda, N. Urdaneta, J. V. Hernandez, G. Guerra, R. Jaffé, R. Martínez, and B. Miras. 1993. Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to a male produced aggregation pheromone. *J. Chem. Ecol.* 19: 1703-1720.
- Kuenen. L. P. S., and T. C. Baker. 1981. Habituation versus sensory adaptation as the cause of reduced attraction following pulsed and constant sex pheromone pre-exposure in *Trichoplusia ni*. *J. Insect Physiol.* 27: 721-726.
- Landolt, P. J. 1997. Sex attractant and aggregation pheromones of male phytophagous insects. *Am. Entomol.* 43: 12-21.
- Nazzi, F., E. Bartlet, N. Watts, and L. J. Wadhams. 2001. Factors affecting the response of *Ceutorhynchus assimilis* Payk. (Coleoptera: Curculionidae) males to conspecific odour. *J. Appl. Entomol.* 125: 433-435.
- Prokopy, R. J., S. S. Cooley, and P. L. Phelan. 1995. Bioassay responses to assessing behavioral responses of plum curculio adults (Coleoptera: Curculionidae) to host fruit odor. *J. Chem. Ecol.* 21: 1073-1084.
- Ruiz-Montiel, C., H. González-Hernández, J. Leyva, C. Llanderal-Cazares, L. Cruz-López, and J. C. Rojas. 2003. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 96: 1126-1131.
- SAS Institute. 1998. *SAS Language Guide for Personal Computers*, release 6.04. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA. 1028 p.
- Tilles, D. A., K. Sjödin, G. Nordlander, and H.H. Eidmann. 1986. Synergism between ethanol and conifer host volatiles as attractants for the pine weevil, *Hylobius abietis* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 970-973.
- Tafoya, F., J. López-Collado, D. Stanley, J. C. Rojas, and J. Cibrián-Tovar. 2003. Evidence of an aggregation pheromone in males of *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 32: 484-487.
- Zilkowski, B. W., R. J. Bartelt, D. Blumberg, D. G. James, and D.K. Weaver. 1999. Identification of host-related volatiles attractive to pineapple beetle *Carpophilus humeralis*. *J. Chem. Ecol.* 25: 229-252.