

Paula Altesor^{*}
Andrés González^{*}

^{*}Laboratorio de Ecología Química,
Facultad de Química.

CAPÍTULO 7.

Discusión, conclusiones y perspectivas

En la mayoría de los lepidópteros nocturnos la emisión de feromonas está asociada con una postura estereotipada, determinada generalmente por la separación y vibración de las alas y la extrusión, a veces rítmicamente, de la glándula productora de feromona, ubicada al final del abdomen (Cardé y Haynes 2004). El comportamiento de llamada de las hembras de epinotia consiste en el mantenimiento de una postura inmóvil caracterizada por la separación de las alas respecto al cuerpo, curvatura hacia adentro del abdomen, y extrusión de la glándula de feromonas.

Como también ocurre en la mayoría de los lepidópteros nocturnos, la actividad sexual de epinotia está regulada por el fotoperiodo. A partir del inicio de la fase oscura se incrementa la actividad de vuelo de ambos sexos, disminuyendo con el inicio de la fase clara. El apareamiento ocurre durante la noche, mayormente entre las 4 y 6 h de la fase oscura, estando relacionado con el periodo de mayor cantidad de hembras en postura de llamada (5-7 h de la fase oscura) (Altesor *et al.*, 2010). A diferencia de dos tortricidos relacionados, *Pandemis pyrusana* y *Argyrotaenia citrana*, que son activos sexualmente desde la primer noche de emergidos (Knight 1996, Knight y Turner 1998), epinotia no presenta actividad alguna en su primer noche. Sin embargo, la mayoría de las hembras llaman a partir de la segunda noche y se aparean rápidamente (Altesor *et al.*, 2010).

La cantidad de feromona producida por las hembras de lepidópteros es muy baja (en el orden de nanogramos) aunque suficiente para atraer a los machos desde grandes distancias (Cardé y Haynes 2004). Con miras a lograr identificar la

feromona sexual de epinotia, la descripción de su patrón temporal de llamada fue imprescindible para obtener una mayor cantidad de feromona, realizando la disección de las glándulas durante el pico de llamada de las hembras (5-7 h de la fase oscura) y a partir del segundo día de emergidas.

Los compuestos Z7,Z9-12:OH y Z7,Z9-12:Ac fueron identificados como constituyentes de la feromona de epinotia en una proporción de 15:1 (OH:Ac) en las glándulas de las hembras. La proporción de los compuestos presentes en la glándula de feromona de epinotia podría no ser la misma que la efectivamente emitida. Sin embargo, la proporción 15:1 de los compuestos Z7,Z9-12:OH: Z7,Z9-12:Ac fue la más atractiva en túnel de viento. Inclusive, dicha respuesta fue superior a la obtenida frente a hembras llamando, lo cual puede deberse a que las hembras no emiten feromona en forma continua, a pesar de mantenerse en postura de llamada durante todo el experimento.

La proporción 1:0 (OH:Ac), conteniendo únicamente el compuesto mayoritario, genera una respuesta atractiva de los machos, que no obstante no se concreta en el arribo a la fuente. Esto demuestra lo crucial de la presencia del acetato en la mezcla para producir una respuesta comportamental completa en los machos, a pesar de presentarse en pequeña cantidad respecto al alcohol. Por su parte, la proporción 1:1 (OH:Ac) redundó también en una menor respuesta de llegada de los machos a la feromona, debido en este caso al exceso del compuesto minoritario. La especificidad de la respuesta a la feromona sexual de lepidópteros reside no solamente en los componentes de la

misma, sino también en sus proporciones relativas, siendo crítico en especies simpátricas que utilizan los mismos compuestos para la atracción entre sexos (Ando *et al.*, 2004). Es así que la determinación de los compuestos presentes en la feromona de este insecto, y la mezcla más atractiva de los mismos, constituye un paso crucial para la implementación de trampas de monitoreo de epinotia en cultivos.

A diferencia del experimento en túnel de viento, donde se obtuvo una mayor llegada de machos al septo con la proporción presente en la glándula (15:1 OH:Ac) (Altesor *et al.*, 2009), en el experimento de campo el promedio de capturas en trampas de feromona fue mayor para la proporción 1:1 (OH:Ac) (González *et al.*, 2012). Una posible explicación para la diferencia encontrada en túnel de viento y campo, es que en éste se da la evaporación paulatina y diferencial de los compuestos absorbidos en el septo, mientras que en el primero cada réplica se realiza con un septo nuevo e inmediatamente después de cargar el mismo con la mezcla a evaluar. En la evaporación de los compuestos que componen la feromona incide tanto el peso molecular como el grupo funcional presente (Butler y McDonough 1979, Butler y Mc Donough 1981, Gut 2004). Los compuestos con mayor peso molecular tienen menor presión de vapor, y por tanto se evaporan menos que los compuestos con menor peso molecular. El grupo funcional hidroxilo (OH), por su parte, resulta en un compuesto más polar y por tanto menos volátil, a diferencia del grupo acetilo (Ac) (Gut 2004). En este contexto, podría suponerse que en condiciones de campo el tratamiento con la proporción 15:1 (OH:Ac) de la feromona pasó rápidamente a ser similar al de la proporción 1:0 (OH:Ac), tratamientos que registraron similares niveles de captura. Asimismo, el tratamiento con la proporción 1:1 (OH:Ac) fue enriqueciéndose en el alcohol, acercándose durante el correr del experimento a la proporción presente en la glándula (15:1, OH:Ac), y siendo por lo tanto más atractiva que los restantes tratamientos durante la mayor parte del experimento.

El aumento del nivel de capturas en los tratamientos 15:1 (OH:Ac) y 1:0 (OH:Ac) a los 30 días del experimento

puede haber registrado un pico poblacional del insecto, indicando que las trampas de feromonas para el monitoreo poblacional de epinotia tendrían una duración significativa en campo. A pesar del prácticamente nulo nivel de infestación de larvas, las trampas de feromona fueron capaces de capturar adultos, mostrando que son eficientes en la detección del insecto aún con cargas muy bajas de feromona en el septo (0.1 mg/septo), y en niveles poblacionales bajos.

Epinotia es una plaga considerada importante en cultivos de leguminosas, aunque ha devenido en menor relevancia en los últimos años, posiblemente por efectos climáticos y la ausencia de hospederos invernales. En particular, la temporada del experimento de campo (2009) se caracterizó por una intensa sequía que afectó considerablemente los cultivos de verano, y en particular la soja. En el mismo periodo del año anterior, un trabajo preliminar con trampas cebadas con la proporción 1:1 (OH:Ac), arrojó un nivel máximo de capturas de 653 machos, cifra mucho mayor a la obtenida en 2009 (47,5 machos).

La síntesis de los componentes de la feromona sexual de epinotia es un paso esencial para el desarrollo de una herramienta de monitoreo, ya que éstos no están disponibles en el mercado. Los componentes no resultaron sencillos de sintetizar, en particular por la presencia de un sistema conjugado de configuración Z,Z. Se logró inicialmente sintetizar una pequeña cantidad que permitió realizar los experimentos de campo, y más recientemente se logró la síntesis de mayores cantidades (González *et al.*, 2012), lo cual hace viable el desarrollo de trampas de monitoreo a escala productiva. Los detalles técnicos de la síntesis desarrollada exceden los objetivos de esta publicación.

Como conclusiones finales, el marco de este proyecto se identificó químicamente la feromona sexual de *Crocidosoma (=Epinotia) aporema*, siendo éste el primer caso de una feromona químicamente identificada en Uruguay. La feromona está compuesta por (Z,Z)-7,9-dodecadien-1-ol y acetato de (Z,Z)-7,9-dodecadienilo. El alcohol es el componente mayoritario en las glándulas de las hembras, sin embargo, la proporción más

efectiva para el monitoreo de epinotia en campo, y por lo tanto la recomendación de uso como resultado de este proyecto, es la formulación 1:1. Las evaluaciones de campo demostraron que aún con niveles mínimos de la feromona en trampas de tipo delta (0,1 mg por trampa, sin reposición), la capacidad de captura de la feromona alcanza los 40 días. Por lo tanto, el uso de trampas de feromonas para el monitoreo de poblaciones de epinotia en soja y leguminosas forrajeras es viable, tanto por la buena capacidad de captura observada en nuestros experimentos, como por la duración de las trampas. En el caso de cultivos de soja, donde las evaluaciones de campo fueron realizadas, las trampas deben ubicarse inmediatamente sobre la altura del follaje.

La captura de machos en las trampas de feromona fue alta, aún cuando las poblaciones de larvas fueron prácticamente nulas. De esta manera, no se logró realizar una correlación cuantitativa entre capturas de machos en trampas y población residente o esperable de larvas. Por lo tanto, las trampas de feromona de epinotia serían aplicables como estrategia de detección del insecto, quedando pendiente un estudio para establecer umbrales de captura y correlación captura/daño.

La baja en las poblaciones de epinotia es un patrón general que se ha observado en los últimos años, y que puede deberse a una variedad de razones ecológicas (y agro-ecológicas), como la sustitución de un sistema tradicional de rotación entre pasturas y cultivos de invierno por grandes extensiones de soja, y una disminución en el área destinada a pasturas. El sistema tradicional de producción proporcionaba hospederos para epinotia durante todo el año, situación que ha cambiado en los últimos años. Es de prever, sin embargo, que los sistemas de producción agrícola-ganadera en Uruguay sean cambiantes, y con ellos, pueden darse las condiciones para favorecer la vuelta de epinotia como plaga primaria. En este caso, se dispondrá de una herramienta de monitoreo basada en feromonas como resultado de la ejecución de este proyecto. La viabilidad de alcanzar la producción nacional y comercialización de trampas de feromonas de epinotia depende únicamente del surgimiento de una demanda para las mismas,

y del interés de un mediador comercial, ya que los componentes de la feromona pueden producirse en Uruguay, y las trampas pueden formularse y confeccionarse a nivel local.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, R. P. 2007. *Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois.
- ALTESOR, P.; ROSSINI, C.; ZARBIN, P.H.G.; GONZÁLEZ, A. 2009. Sex Pheromone of the Bud Borer Epinotia aporema: Chemical Identification and Male Behavioral Response. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 349-354.
- ALTESOR, P.; HORAS, V. R.; ARCÍA, M. P.; ROSSINI, C.; ZARBIN, P. H. G.; GONZÁLEZ, A. 2010. Reproductive behaviour of *Crociosema* (=Epinotia) aporema (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae): temporal pattern of female calling and mating. *Neotropical Entomology*, 39(3), 324-329.
- ALZUGARAY, R.; RIBEIRO, A. 2000. Insectos en pasturas. *INIA Serie Técnica: Manejo de plagas en pasturas y cultivos* (eds S. Zerbino & A. Ribeiro). pp. 13-30. INIA, Montevideo.
- ALZUGARAY, R.; ZERBINO, M. S.; STEWART, S.; RIBEIRO, A.; EILENBERG, J. 1999. Epizootiology of Entomophthoralean fungi. Use of *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko (Zygomycotina: Entomophthorales) for the biocontrol of *Epinotia aporema* (Wals.) (Lepidoptera: Tortricidae) in Uruguay. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 58, 307-311.
- ANDO, T.; INOMATA, S.-I.; YAMAMOTO, M. 2004. Lepidopteran Sex Pheromones. *Topics in Current Chemistry*, 239, 51-96.
- ARN H.; BRAUCHLI J.; KOCH U.T.; POP L.; RAUSCHERS. 1997. The need for standards in pheromone technology. *IOBC wprs Bulletin* 20:27-34
- BENTANCOURT, C.; SCATONI, I. 1999. *Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay*. Hemisferio Sur SRL.
- BENTANCOURT, C.; SCATONI, I. 2001. *Enemigos naturales: Manual ilustrado para la agricultura y la forestación*. Eds. Facultad de Agronomía. GTZ. Hemisferio Sur SRL, Montevideo, Uruguay.
- BENTANCOURT, C.; SCATONI, I. 2006. *Lepidópteros de importancia económica. Reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales*. Agropecuaria Hemisferio Sur SRL, Montevideo, Uruguay.
- BJOSTAD, L. B. 1998. Electrophysiological Methods. *Methods in Chemical Ecology, Chemical Methods*. (eds K. F. Haynes & J.

- G. Millar), pp. 339-376. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts.
- BLUM, A.; NARBONDO, I.; OYHANTCABAL, G.; SANCHO, D.** 2008. *Soja transgénica y sus impactos en Uruguay. La nueva colonización.* RAP-AL Uruguay, Montevideo.
- BUTLER, L. I.; MCDONOUGH, L. M.** 1979. Insect sex pheromones: Evaporation Rates of Acetates from Natural Rubber Septa. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 5.
- BUTLER, L. I.; MC DONOUGH, L. M.** 1981. Insect sex pheromones: Evaporation Rates of Alcohols and Acetates from Natural Rubber Septa. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 7.
- CARDÉ, R. T.; HAYNES, K. F.** 2004. Structure of the pheromone communication channel in moths. *Advances in Insect Chemical Ecology* (eds R. T. Cardé & J. G. Millar), pp. 283-332. Cambridge University Press, Cambridge.
- COSSÉ, A.A.; BARTELT, R.J.; ZILKOWSKI, B.W.; BEAN, D.W.; PETROSKI, R.J.** 2005. The aggregation pheromone of *Diorhabda elongata*, a biological control agent of saltcedar (*Tamarix* spp.): Identification of two behaviorally active components. *Journal of Chemical Ecology* 31(3):657-670.
- EL-SAYED, A.M.; SUCKLING, D.M.; WEARING, C.H.; BYERS, J.A.** 2006. Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology* 99(5):1550-1564.
- EL-SAYED, A.M.** 2011. The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. <http://www.pherobase.com> Último acceso: octubre 2011.
- GONZÁLEZ, A.; ALTESOR, P.; ALVES, L.; LIBERATI, P.; SILVA, H.; CARRERA, I.; GONZÁLEZ, D.; SEOANE, G.; ROSSINI, C.; CASTIGLIONI E.; GAMENARA D.** 2012. Synthesis and field evaluation of synthetic blends of the sex pheromone of *Crocidosema aporema* (Lepidoptera: Tortricidae) in Soybean. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, in press.
- GUT, L. J.; STELINSKY, L. L.; THOMSON D. R.; MILLER, J. R.** 2004. Behaviour-modifying Chemical. Prospect and Constrain in IPM. *Integrated Pest Management: Potential, Constraints and Challenges* (ed K. Openden). CABI, Cambridge, MA, USA.
- HARE, J. D.** 1998. Bioassay methods with terrestrial invertebrates. *Methods in Chemical Ecology: Bioassay Methods* (eds K. F. Haynes & J. G. Millar), pp. 212-270. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts.
- HOWSE, P.; STEVENS, I.; JONES, O.** (1998) Insect pheromones and their use in pest management. London: Chapman and Hall.
- HUNG, C. C.; HWANG, J. S.; HUNG, M. D.; YEN, Y. P.; HOU, R. F.** 2001. Isolation, identification and field tests of the sex pheromone of the carambola fruit borer, *Eucosma notanthes*. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 1855-1866.
- KEAN, J.M.; SUCKLING, D.M.** 2005. Estimating the probability of eradication of painted apple moth from Auckland. *N. Z. Plant Protection* 58:7-11.
- KNIGHT, A. L.** 1996. Sexual biology and mating disruption of orange tortrix, *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 93, 111-120.
- KNIGHT, A. L.; TURNER, J. E.** 1998. Sexual biology of *Pandemis pyrusana* (Lepidoptera: Tortricidae) under laboratory conditions. *Journal of Entomological Society of British Columbia*, 95, 89-94.
- PRIESNER, E.; REED, D. W.; UNDERHILL, E. W.; BOGENSCHUETZ, H.** 1989. (Z,Z)-7,9-Dodecadienyl Acetate, Sex Pheromone of *Epinotia tedella* Clerck (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Chemical Ecology*, 15, 2457-2464.
- SHOREY, H. H.; HALE, R. L.** 1965. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, 58, 522-524.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G.** 1980. *Métodos estadísticos*. Editorial Continental, México.
- STELINSKI, L.L., MILLER, J.R., ROGERS, M.E.** 2008. Mating disruption of citrus leafminer mediated by a noncompetitive mechanism at a remarkably low pheromone release rate. *Journal of Chemical Ecology* 34:1107-1113.
- TOBIN, P.C.; BLACKBURN, L.M.; LEONARD, D.S.; LIEBHOLD, A.M.; MCMANUS, M.L.; ROBERTS, E.A.; SHAROV, A.A.; THORPE, K.W.; ZIEGLER, A.H.** 2007. Slow the Spread: a national program to manage the gypsy moth. Newtown Square, PA: Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station.
- WITZGALL, P.** 2001. Pheromones - future techniques for insect control? In: Witzgall P, editor. *Pheromones for Insect Control in Orchards and Vineyards: IOBC wprs Bulletin*. p 114-122.
- WITZGALL P, KIRSCH P, CORK A.** 2010. Sex pheromone and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology* 36:80-100.
- WITZGALL, P.; STELINSKI, L.; GUT, L.; THOMSON, D.** 2008. Codling moth management and chemical ecology. *Annual Review of Entomology*. p 503-522.