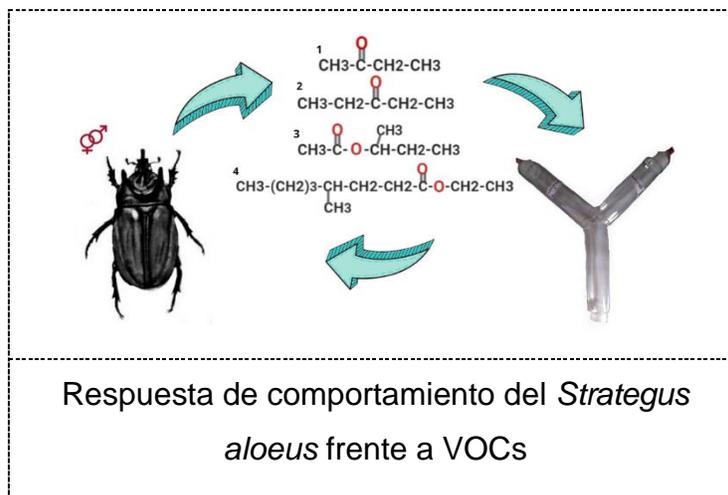


**Evaluación del comportamiento del escarabajo-plaga *Strategus aloeus*
(Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) frente a compuestos orgánicos
volátiles que median su comunicación química**

***Evaluation of the behavior of the pest-insect *Strategus aloeus* (Coleoptera:
Scarabaeidae: Dynastinae) against volatile organic compounds that
mediated its chemical communication***



**Evaluación del comportamiento del escarabajo-plaga *Strategus aloeus*
(Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) frente a compuestos orgánicos
volátiles que median su comunicación química**

***Evaluation of the behavior of the pest-insect *Strategus aloeus*
(Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) against volatile organic
compounds that mediated its chemical communication***

Laura Daniela Arias Puentes*

**Programa de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Antonio Nariño.*

Dirigido por: Alicia Romero Frías M.Sc. Dr.Sc.

Resumen

En Colombia la infestación de *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabaeidae) en las palmas de aceite jóvenes (*Elaeis guineensis* Jacq), produce daños que se ven reflejados en pérdidas económicas sobre este cultivo de interés comercial. Para su manejo se han utilizado diferentes estrategias, sin conseguir aún resultados satisfactorios. Teniendo en cuenta la gravedad de la problemática, se planteó evaluar el comportamiento de los insectos adultos de *S. aloeus* frente a los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) que se han identificado como posibles mediadores de su comunicación química. Este estudio implicó tres etapas: (1) Definición de las condiciones experimentales, (2) Evaluación del comportamiento del insecto frente a los compuestos en el laboratorio y (3) Validación estadística de los resultados obtenidos. A partir de la primera fase se establecieron las condiciones experimentales requeridas para la evaluación del comportamiento bajo condiciones de laboratorio. Los bioensayos en un olfatómetro en “Y”; no permitieron establecer diferencias significativas de los insectos adultos de *S. aloeus* frente a las fuentes de olor evaluadas: 2-butanona, 3-pentanona, acetato de sec-butilo, y 4-metiloctanoato de etilo.

Palabras Claves: *Strategus aloeus*, Bioensayos, Laboratorio.

Abstract

In Colombia, the infestation of *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabeidae) in young oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq) produces damages that are reflected in economic losses on this crop of commercial interest. Different strategies have been used for its management, without obtaining satisfactory results. Taking into account the severity of the problem, it was proposed to evaluate the behavior of adult insects against volatile organic compounds that have been identified as possible mediators of their chemical communication. This study involved three stages: (1) Definition of the experimental conditions, (2) Evaluation of the behavior of the insect against the compounds, in the laboratory and (3) Statistical validation of the results obtained. From the first, the experimental conditions required for the evaluation of behavior under laboratory conditions were established. The bioassays in a "Y" olfactometer did not allow to establish differences of the adult *S. aloeus* insects against the evaluated odor sources: 2-butanone, 3-pentanone, sec-butyl acetate, and ethyl 4-methyloctanoate.

Keywords: *Strategus aloeus*, Bioassays, Laboratory.

Introducción

En la naturaleza todos los seres vivos segregan sustancias químicas que median la comunicación entre individuos conespecíficos y su entorno, asimismo estas sustancias se presentan en respuesta a factores externos, lo anterior junto con el estudio de la evolución de las interacciones, hacen parte de la ecología química. Es así, como los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) influyen en la comunicación entre organismos como plantas e insectos; una relación altamente estudiada por su importancia agronómica, principalmente en cultivos de interés comercial [Dicke & Sabelis, 1988; Calvache, H. H. 1995; Metcalf, 1998; Hilker & Meiners, 2011; Tewari *et al.*, 2014]. Dentro de los diferentes estudios que se han realizado frente a la evaluación de comportamiento de los insectos, se encuentran los bioensayos de atracción a través del empleo de olfatómetros. Estos ensayos consisten en comparar la respuesta del insecto, al ser expuesto a diferentes fuentes de olor. Las evaluaciones olfatométricas permiten confirmar que la comunicación de los insectos es mediada por semioquímicos [López-Ávila, A., & Rincón, D. F. 2006; Heuskin, S., *et al.*, 2011].

En América, Colombia ocupa el primer puesto en producción de aceite de palma con 1.630.413 toneladas por año [Fedepalma; 2018], y es el cuarto país a nivel mundial después de Indonesia, Tailandia y Malasia; con mayor producción (68.300.000 millones de toneladas por año) y comercialización de aceite vegetal, obtenido de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq) [Oil World, 2016; FAO, 2017; Mesa Dishington, J. 2018; Fedepalma, 2018]. En las diferentes zonas productoras, este cultivo es afectado por la presencia de plagas, entre las que se encuentran: *Froeschner* (Hemiptera), *Retracrus elaeis keifer* (Acariforme), *Opsiphanes cassina* Felder (Lepidoptera), *Brassolis sophorae stichel* (Lepidoptera), *Stenoma cepropia meyrick* (Lepidoptera), *Loxotoma elegans* Zeller (Lepidoptera), *Sibine fusca* Stoll (Lepidoptera),

Euprosterna elaeasa Dyar (Lepidoptera), *Dirphia gragatus* Bouvier (Lepidoptera), *Automeris liberia* Cramer (Lepidoptera), *Sagalassa valida* Walter (Lepidoptera), *Struthocelis* sp (Lepidoptera), *Rhychophorus palmarum* L (Coleoptera), y *Strategus aloeus* (Coleoptera) [Calvache, H. H. 1995]. El daño ocasionado por estas plagas, así como su intensidad, varía de acuerdo con la zona de producción, debido a las prácticas de manejo que aplique cada productor.

Uno de los mayores retos que enfrenta el cultivo de la palma de aceite está asociado a la presencia de plagas que lo afectan desde las primeras fases de su desarrollo; como es el caso del escarabajo *S. aloeus* originario de América. Esta especie se distribuye desde Estados Unidos hasta Brasil [Bachy 1963; Child 1964; Pigott 1964; Lever 1969]. Para el insecto plaga, se ha establecido que el daño lo ocasionan los machos perforando la palma cerca de la base en forma de “Y” penetrando hasta llegar al meristemo [Pallares *et al.*, 2000]. Estos insectos presentan un comportamiento saprófago, debido a que habitan en suelos donde se encuentra materia orgánica en descomposición [Morón *et al.*, 1990; Galante, E., & Marcos-García, M. A. 1997]. Este insecto plaga ataca a cultivos que presentan troncos en descomposición, hasta consumirlos en su totalidad. También se alimentan, de las palmas sembradas; ocasionando en muchos casos su muerte, o dando lugar al ingreso a microorganismos que causan enfermedades, como por ejemplo la pudrición del estípite [Calvache, H.; Gomez, P.L. 1991; Aya, H. A., *et al.*, 2011; Arias, *et al.*, 2014; Fedepalma, 2018]. Los individuos de *S. aloeus* son conocidos vulgarmente como “toritos” [Pardo- Locarno 1994]. Esta especie se encuentra en ecosistemas de hasta los 1.500 msnm [Ahumada *et al.*, 1995] y en Colombia habita en regiones que oscilan entre climas húmedos hasta secos. La especie presenta un ciclo de vida de un año y se caracteriza por presentar un cuerpo robusto, usualmente sus mandíbulas son anchas y

muy expuestas, presentan mentón ovalado. Son de color marrón o negro, de 3.0 – 5.8 cm de largo. Estos especímenes presentan dimorfismo sexual acentuado. Las hembras presentan protuberancias, sin cuernos; mientras que los machos presentan tres proyecciones de cuernos en el pronoto alrededor de una cavidad central: un cuerno en posición central y dos tubérculos laterales redondeados. Los machos adultos presentan variaciones en longitud y forma de los cuernos entre individuos que pertenecen a la misma población, así como también entre poblaciones [Ratcliffe, 2003; Blomquist, *et al.*, 2010; Sanabría Garcia R. 2012; Carrillo -Ruiz H, Álvarez HA 2014].

Ante la necesidad de diversificar las técnicas de manejo para este insecto plaga, se planteó implementar la tecnología de manejo del escarabajo plaga en cultivos de palma de aceite mediante el uso de atrayentes sintéticos en su monitoreo técnica para detectar el momento en el cual se debe aplicar el plaguicida, frente a los daños que ocasiona el insecto-plaga [Binns y Nyrop, 1992] y trampeo masivo (técnica empleada para atraer un número considerable de insectos con el fin de reducir el impacto que tiene el insecto sobre el cultivo de interés) [El-Sayed *et al.*, 2006; Kroschel., Zegarra, 2010; Cokl, A., & Millar, J. 2009]. Lo cual implica, entre otros, validar la identificación química de los componentes de los semioquímicos del insecto, a través de la respuesta del comportamiento frente a los VOCs identificados.

Rochat y colaboradores (2000) reportaron como componentes de la feromona de *S. aloeus* a la 2-butanona, 3-pentanona y acetato de sec butilo en una proporción 95.5:4.0:0.5, [Rochat *et al.*, 2000]. A partir de la realización de bioensayos de atracción en laboratorio y en campo, se estableció que la mezcla identificada por Rochat y colaboradores (2000) le resultaba atractiva a las hembras adultas de *S. aloeus*, pero no inducía fenómenos de agregación ni era eficiente para la captura en campo de los machos de la especie [Comunicaciones Cenipalma, 2018].

Por otra parte, Pallares y colaboradores (2000) reportaron que los machos adultos de *S. aloeus* segregan una feromona al exponer el abdomen en la entrada de las galerías. Se señala que esta actúa como atrayente sexual, por lo tanto, atrae a las hembras que se desplazan entre el lugar de emergencia, al sitio de apareamiento y finalmente a las palmas en descomposición donde suelen ovipositar. La máxima actividad para esta especie se reporta entre las 2:00 a.m. y las 5:00 a.m. Saïd y colaboradores (2006), reportaron la evaluación del comportamiento de los escarabajos frente a los componentes de la feromona identificada por RoCHAT y colaboradores (2000). Evaluaron una mezcla (98:1:1 (v/v)) de 2-butanona (> 99.5% GC; Janssen, Bélgica), 3-pentanona (> 98% GC; Aldrich, Gillingham, Reino Unido) y acetato de *sec*-butilo (> 99% GC; Aldrich, Milwaukee, EE. UU.) en un olfatómetro de cuatro vías, a partir de lo que lograron establecer que una alta proporción de los individuos adultos percibió y eligió la fuente de la mezcla de los componentes de la feromona [Saïd *et al.*, 2006].

A través de la realización de esta investigación sobre el comportamiento del *S. aloeus*, se pretendió establecer la respuesta del *S. aloeus* frente a los VOCs (2-butanona, 3-pentanona, acetato de *sec*-butilo, 4-metiloctanoato de etilo) identificados como semioquímicos de la especie bajo condiciones de laboratorio. Lo anterior, con el fin de validar con los insectos adultos la identificación química previamente realizada.

1. Materiales y Métodos

1.1. Insectos

Para evaluar las respuestas del *S. aloeus* frente a los VOCs de su hospedero y sus conespecíficos, se estableció una colonia con insectos adultos procedentes de cría y campo, con el objetivo de establecer diferencias en su comportamiento atribuibles a su origen, y a parámetros como la edad y el estado fisiológico.

Para los especímenes procedentes de campo, las colonias de *S. aloeus* fueron establecidas con adultos de edad y estado de apareamiento desconocidos, recolectados entre los meses de septiembre de 2019 y marzo de 2020 (Anexo A), en la plantación de palma de aceite Manuelita Aceites y Energía (Villavicencio, Meta). Los insectos procedentes de cría fueron obtenidos a través de la metodología desarrollada y estandarizada por el Centro de Investigación en Palma de Aceite (CENIPALMA) en el Palmar de las Corocoras, Campo Experimental de CENIPALMA ubicado en Paratebueno (Cundinamarca). La cría se estableció con ejemplares de la especie en diferentes estados de desarrollo (adultos recién emergidos, larvas de último instar y pupas), recolectados mediante inspección en estípites en descomposición en lotes de renovación de palma de aceite.

Los insectos adultos de ambas procedencias fueron trasladados hasta el Laboratorio de Investigaciones Básicas (LIB) de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá, en donde al llegar se registraron las fechas de emergencia para los insectos procedente de cría y de captura para los insectos provenientes de campo.

Los insectos adultos de *S. aloeus* se separaron por sexo, de acuerdo con las características de dimorfismo de la especie, y se mantuvieron separados hasta la realización de los bioensayos, en cajas plásticas que contenían suelo proveniente de un cultivo de palma de aceite y trozos de estípite de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) de 10 meses de edad; como fuente de alimento. Para garantizar la humedad del suelo, se suministró agua 2 veces por semana. Los insectos se mantuvieron a condiciones controladas de: temperatura ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), humedad relativa (70-90%) y fotoperiodo (12:12 h).

1.2. Estudio preliminar de comportamiento

Se emplearon dos parejas adultas de *S. aloeus* capturadas en campo. La evaluación se realizó a temperatura ambiente de Bogotá (12-19°C), por 24 h durante cinco días en recipientes plásticos (3 L) con suelo y estípite.

El comportamiento de las parejas fue registrado cada dos horas. Se realizaron observaciones sobre las actividades de caminata, locomoción, vuelos, alimentación, apareamiento, sonidos estridores y despliegues epigámicos. Se establecieron los períodos de máxima actividad.

1.3. Evaluación del comportamiento del *S. aloeus* frente a los VOCs identificados

Las respuestas de comportamiento del *S. aloeus* frente a los VOCs previamente identificados, fueron evaluadas mediante bioensayos en un olfatómetro de dos vías, el cual consistió en un tubo de vidrio en “Y” de 5 cm de diámetro, longitud de 85 cm, un brazo de 45 cm y los otros dos de 35 cm, con un ángulo en “Y” de 60° (Figura 1). Los extremos de los brazos del olfatómetro fueron conectados, con mangueras de teflón, a cámaras de vidrio que contenían el estímulo olfativo o el control (aire).

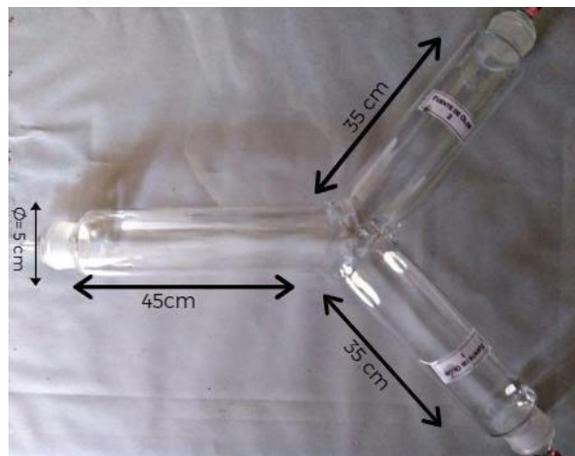


Figura 1. Olfatómetro de dos vías utilizado para la evaluación del comportamiento.

Todos los bioensayos fueron realizados en presencia de luz roja, a partir de las 15:00-18:00 h, debido a que en el estudio preliminar se obtuvo evidencia de actividad en este horario, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), humedad relativa (70-90%) y un flujo de aire de 1 L/min purificado previamente con un filtro de carbón activado y pasado a través de una trampa de agua en donde era humedecido.

Cada bioensayo consistió en comparar la respuesta del insecto frente al estímulo de una fuente de olor (2 μ L) versus aire. Se utilizaron los siguientes compuestos puros como fuentes de olor: 2-butanona (PanReac AppliChem, España), 3-pentanona (Alfa Aesar; EE.UU), acetato de sec-butilo (Sigma – Aldrich; EE.UU), y el 4-metiloctanoato de etilo, ingrediente activo contenido en el interior del difusor comercial bm Kabuto (Shin- Etsu Chemical Co., Ltd.; Japón). Estos compuestos se eligieron debido a que los tres primeros corresponden a los reportados por Rochat et al (2000) como componentes de la feromona del *S. aloeus*. El 4-metiloctanoato de etilo fue identificado por el grupo de investigación como un VOC liberado por los machos adultos de *S. aloeus*. En la tabla 1 se presentan el número de insectos y los tratamientos que fueron evaluados.

Antes de cada bioensayo los insectos adultos de *S. aloeus* se colocaron individualmente en cajas plásticas, en un cuarto libre de olor y se privaron de alimentación durante 24 h.

Para cada bioensayo, se utilizaron diferentes insectos. El insecto (macho o hembra), se introdujo en la base del tubo del olfatómetro y su comportamiento se observó durante 20 minutos. Se consideró que la selección de una fuente de olor era positiva cuando el insecto atravesaba 5 cm de un brazo del olfatómetro y permanecía en este por lo menos 2 minutos. Los individuos que no realizaron ninguna selección durante este tiempo no se incluyeron en el análisis estadístico. Cada bioensayo se realizó con un número de machos y hembras que osciló entre 3 y 35 insectos.

Tabla 1. Control y estímulos olfativos probados para los bioensayos del *S. aloeus*.

N° Bioensayo	Procedencia	Número de insectos del <i>S. aloeus</i>		Compuesto orgánico volátil
		Machos	Hembras	
1	Cría	19	19	Acetato de sec-butilo
2	Campo	35	25	Acetato de sec-butilo
3	Cría	19	13	3-pentanona
4	Campo	30	21	3-pentanona
5	Cría	3	3	2-butanona
6	Campo	14	11	2-butanona
7	Cría	7	2	4-metiloctanoato de etilo
8	Campo	14	8	4-metiloctanoato de etilo

Para probar cada fuente de olor se utilizó un trozo de papel filtro (2 cm x 2 cm), humedecido con el compuesto a evaluar. Antes de iniciar cada bioensayo, los papeles filtro impregnados con los compuestos se dejaron evaporar por 10 s. Después de cada bioensayo se cambió el trozo de papel.

Al terminar cada bioensayo, todas las partes del olfatómetro se lavaron con una solución de detergente extrán alcalino (Merck KGaA; Alemania), se enjuagaron con acetona (Merck KGaA; Alemania), y se secaron a ± 30 °C durante 5 minutos para evitar contaminación cruzada.

Para comparar la respuesta binaria del *S. aloeus* frente a los VOCs evaluados, los resultados obtenidos en las medidas olfatómetricas (tubo en “Y”), se realizó la prueba de normalidad Shapiro Wilk que permitió usar la prueba la prueba Chi-cuadrado para el análisis estadístico. Como hipótesis nula se consideró una distribución 50:50. El análisis de los datos se realizó con el programa WinSTAT para Excel 2016 (V.16.0.11929.20606).

2 Resultados y Discusión

2.1. Insectos bajo condiciones de laboratorio en Bogotá

En la Figura 2 puede observarse el dimorfismo sexual de la especie *S. aloeus* (descritas en las páginas 6 y 7), así como también la diferencia de tamaño entre los machos y las hembras adultas.



Figura 2. Dimorfismo sexual y diferencia de tamaño entre machos y hembras del *S. aloeus*.

En la Figura 3 se observa que los insectos adultos machos del *S. aloeus* procedentes de campo, presentan mayor tamaño que las hembras; con un rango que varió de 5.4-5.9 cm (\bar{x} =5.59; s =0.13); mientras, las hembras de 3.6-4.1 cm (\bar{x} =3.90; s =0.15), lo cual está acorde con lo reportado por Pallares y colaboradores (2000) y Calvache, G., Franco, B., & Pedro, N. (2010) asimismo, se observa que los insectos adultos machos (\bar{x} =3.92; s =0.14) y hembras (\bar{x} =3.82; s =0.15) del *S. aloeus* procedentes de cría, presentan tamaño con un rango que varió 3.6-4.1 cm.

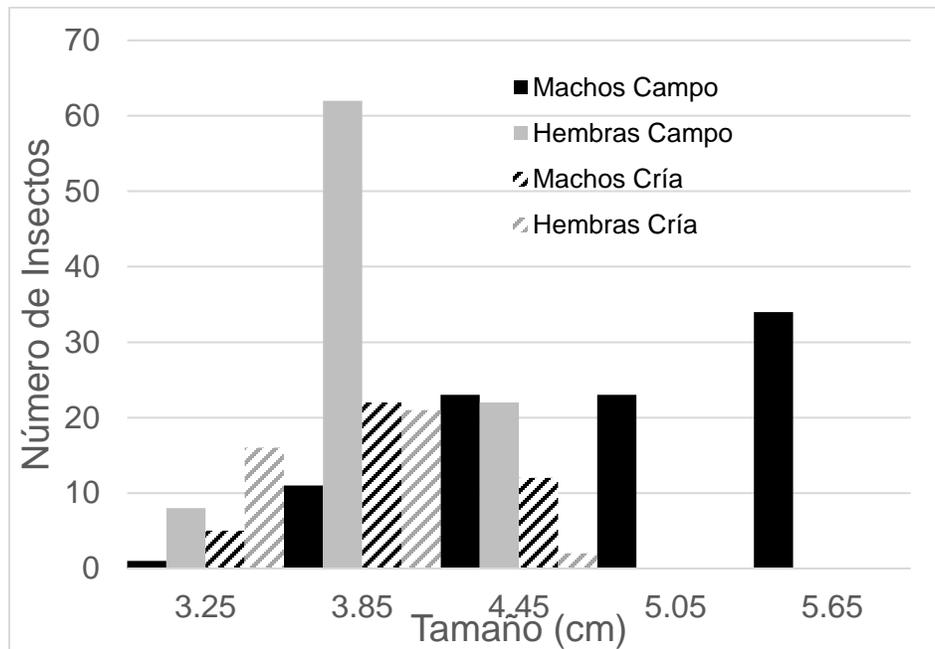


Figura 3. Distribución de tamaños de machos y hembras adultos del *S. aloeus* procedentes de campo.

De acuerdo con lo obtenido en la Figura 3, la mayor parte de los insectos presentan tamaños que varían entre 3.6 cm - 4.1 cm; de los cuales: 62 (67.39%) fueron hembras procedentes de campo, 22 (56.41%) machos y 21 (53.85%) hembras procedentes de cría. En un porcentaje menor de 0.10 - 8.70% para insectos procedentes de campo; y de 12.82 - 41.03% para insectos de cría, se encuentran los insectos que tienen tamaño con un rango de 3.0 cm – 3.5 cm. Resultados que son acorde con lo reportado por Pallares y colaboradores (2000) quienes, al discriminar por tamaños 77 machos silvestres, encontraron que existe una marcada selección de tamaño en los individuos grandes (39%) y medianos (46.9%), mientras que individuos muy pequeños (12.9%) no eran abundantes [Pallares *et al.*, 2000].

A partir de la observación preliminar a las dos parejas provenientes de campo, se establecieron los horarios en los que los insectos de *S. aloeus* realizan las siguientes actividades: excavación de galerías, caminatas, locomoción, alimentación, apareamiento, y sonidos estridores (Figura 5).

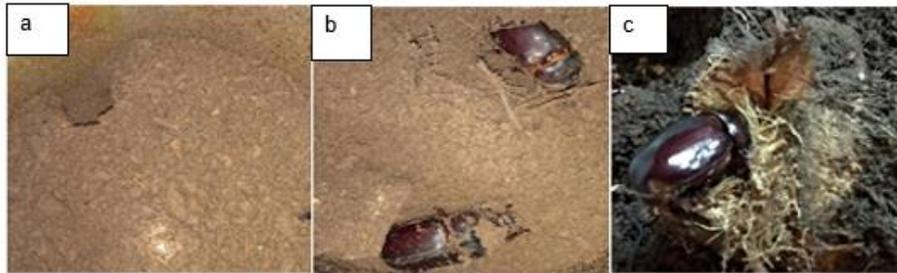


Figura 5. Actividades identificadas durante las observaciones preliminares. (a) Excavación de galería, (b) Locomoción, (c) Alimentación

En la tabla 2 se resumen las observaciones realizadas durante 24 h por cinco días para las parejas procedentes de campo, con fecha de captura del 20-23 de marzo de 2019, y fecha de llegada a Bogotá 24 de abril de 2019. Entre las 02:00-04:00 h y 14:00-18:00 h se presentaron actividades de caminata, locomoción, alimentación y apareamiento, mostrando que el período de máxima actividad se producía entre de 02:00-05:00 h y 15:00-18:00 h, lo que coincide con lo reportado por Pallares y colaboradores (2000). Ellos reportan el mayor índice de actividad en esta especie de 2:00 – 5:00 h.

Tabla 2. Observaciones de comportamiento de las parejas del *S. aloeus* durante cinco días.

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DEL <i>S. aloeus</i>		
Hora	Temperatura (°C)	Observaciones
10:00 - 12:00 h	17 ± 2 °C	Sin actividad
12:00 - 14:00 h	18 ± 2 °C	Sin actividad
14:00 - 16:00 h	19 ± 2 °C	Caminata, locomoción y alimentación
16:00 - 18:00 h	16 ± 2 °C	Apareamiento
18:00 - 20:00 h	16 ± 2 °C	Se ocultan en sus galerías
20:00 - 22:00 h	12 ± 2 °C	Sin actividad
22:00 -24:00 h	12 ± 2 °C	Sin actividad
00:00 - 2:00 h	11 ± 2 °C	Sin actividad
2:00 - 4:00 h	10 ± 2 °C	Caminata, locomoción
4:00 - 6:00 h	9 ± 2 °C	Se ocultan en sus galerías
6:00 - 8:00 h	9 ± 2 °C	Sin actividad
8:00 - 10:00 h	11 ± 2 °C	Sin actividad

2.2. Respuestas de comportamiento del *S. aloeus* frente a los VOCs evaluados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos frente a cada uno de los compuestos evaluados de acuerdo con la procedencia de los insectos adultos. En el Anexo B se pueden observar los datos discriminados.

Las figuras presentadas a continuación muestran: el número de especímenes con respuesta y sin respuesta a la fuente de tratamiento de acetato de sec-butilo (Figura 6), 3-pentanona (Figura 7), 2-butanona (Figura 8), y 4-metiloctanoato de etilo (Figura 9); los porcentajes de elección respecto a cada fuente de olor, y los valores de p obtenidos para la prueba chi-cuadrado al 95% de confianza.

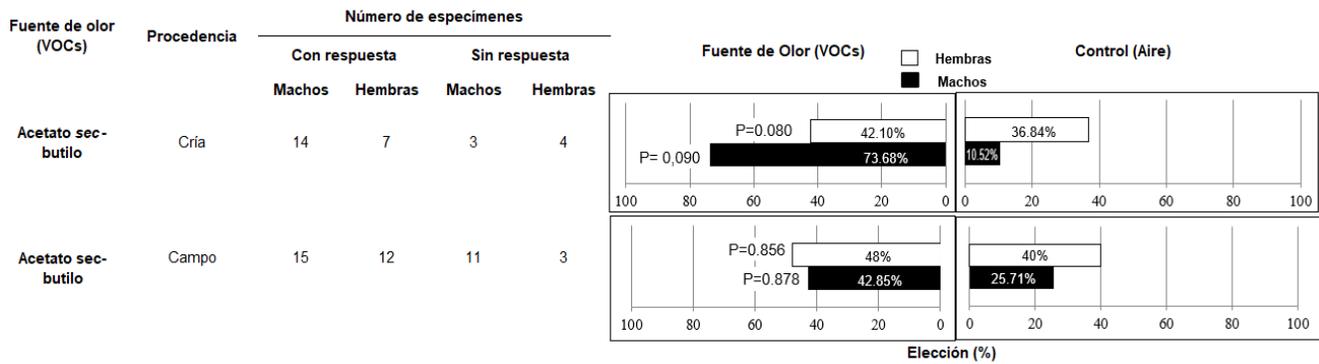


Figura 6. Porcentaje de machos y hembras de *S. aloeus* que responden al acetato de sec-butilo.

La Figura 6 muestra que a pesar de que la respuesta no fue estadísticamente significativa, se observa que los machos adultos procedentes de cría respondieron a la fuente de olor (73.68%). Este VOC ha sido reportado como atrayente para el escarabajo de estiércol gigante aplanado, *Pachylomerus femoralis* (Coleoptera, Scarabaeidae) que pertenece a la misma familia del *S. aloeus* [Burger, B.V., Petersen, W.G.B. 1991].

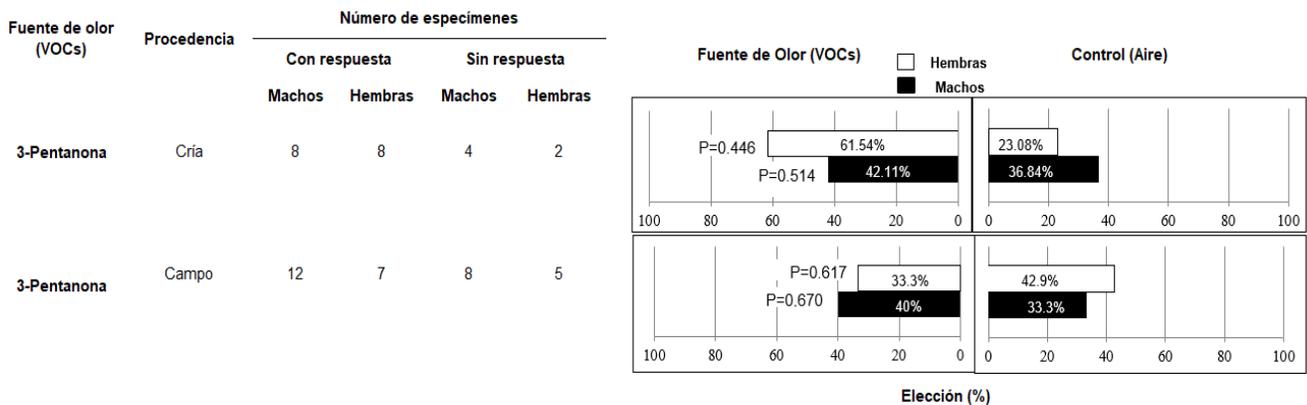


Figura 7. Porcentaje de machos y hembras de *S. aloeus* que responden a 3-pentanona.

La Figura 7 muestra que a pesar de que la respuesta no fue estadísticamente significativa, se observa que las hembras adultas provenientes de cría fueron atraídas por la 3-pentanona (61.54%). La 3-pentanona ha sido reportada para la caracterización del perfil de volátiles de algunas especies de palmas, entre las que se encuentran *Aiphanes mínima*, *Bactris gasipaes*, *Ceroxylon alpinum*, *Chamaedorea linearis* (Arecales, Arecaceae) [Knudsen, J.T., Tollsten, L. and Ervik, F. 2001]

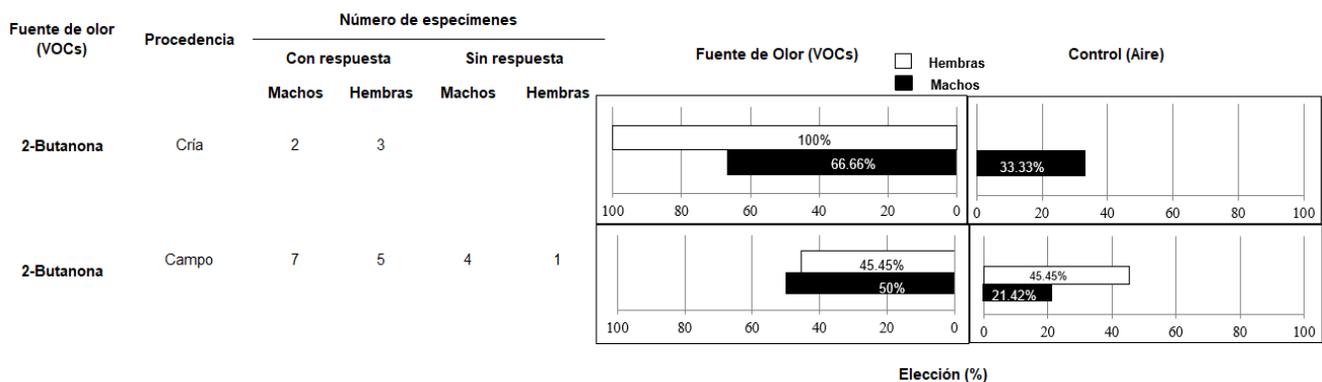


Figura 8. Porcentaje de machos y hembras de *S. aloeus* que responden a 2-butanona.

Para la 2-butanona el número de insectos de ambas procedencias fue insuficiente para realizar el análisis estadístico requerido para validar datos, además los porcentajes de atracción presentan valores muy bajos. Este VOC ha sido reportado como atrayente (sustancias químicas que el organismo no produce de forma natural, pero que resultan atractivas en experimentos de laboratorio o campo) para las especies: *Anomiopus sp* [Wurmitzer C, et al., 2017], *Caccobious auberti*, *Chalconotus suturalis*, *Sisyphus goryi* [Moretto, P, et al., 2019]; Estos insectos pertenecen a la familia Scarabaeidae de la que hace parte el *S. aloeus*.

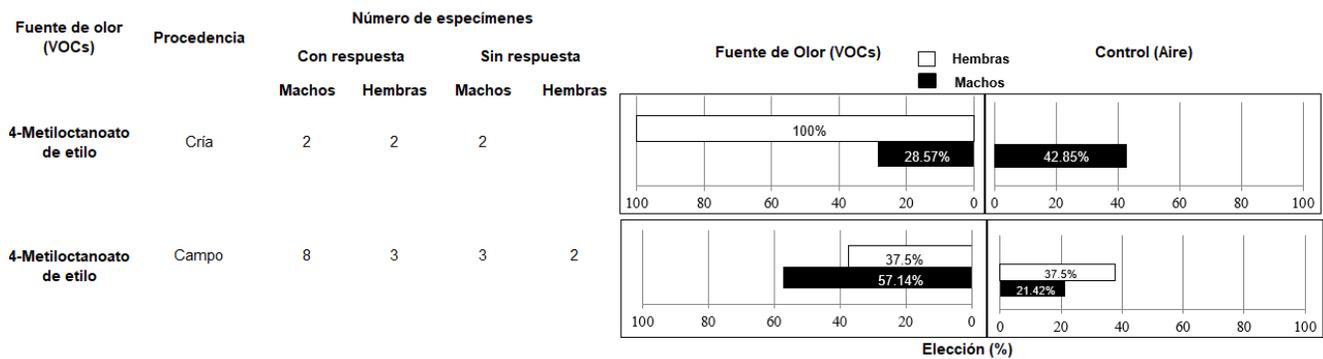


Figura 9. Porcentaje de machos y hembras de *S. aloeus* que responden a 4-metiloctanoato de etilo.

Para el 4-metiloctanoato de etilo el número de insectos procedentes de campo y cría, fueron insuficientes para realizar el análisis estadístico requerido para validar datos; sin embargo, se observa que los machos adultos procedentes de campo respondieron a la fuente de olor (57.14%). Este VOC ha sido reportado como componente de las feromonas de agregación de especies cercanas taxonómicamente al *S. aloeus*, tales como *Oryctes monoceros* [Allou, K, et al., 2006, 2008]; *Oryctes elegans* [Rochat, D, et al., 2004], *Oryctes rhinoceros* [Hallett et al., 1995], y *Oryctes agamemnon* [Saïd, I., et al., 2015].

Para ninguna de las cuatro fuentes de olor evaluadas (Figuras 6, 7, 8 y 9) se logró establecer una atracción significativa ($p < 0.05$) por parte de los insectos adultos evaluados (campo y cría), lo que podría atribuirse a la concentración de los compuestos. Para los bioensayos se utilizaron compuestos puros, y estudios previos realizados en otros sistemas de estudio han mostrado que la respuesta de los insectos frente a los compuestos orgánicos volátiles podría depender de la concentración o dosis del compuesto de interés [Dickens, 1986; Leskey et al., 2001]. Por lo tanto, sería conveniente evaluar estos VOCs en soluciones diluidas en un solvente apropiado.

Los resultados obtenidos para los insectos adultos provenientes de cría, frente a los VOCs 2-butanona y 4-metiloctanoato de etilo (Figuras 8 y 9) fueron insuficientes para realizar el análisis de validación estadística. Se requieren realizar experimentos adicionales con un mayor número de insectos.

Vale la pena mencionar que la respuesta de los insectos frente a las fuentes de olor podría ser más efectiva si en lugar de evaluarlos individualmente se evaluaran en mezcla, en las mismas proporciones en que son liberadas y han sido identificados en los insectos adultos [Borrero-Echeverry, 2016]. Cambios en tales proporciones o la ausencia de un compuesto, puede hacer que la mezcla pierda fidelidad [Linn, Campbell, & Roelofs, 1986], interrumpiendo la comunicación química de la especie, o llevando a la reducción de su eficacia [Saveer *et al.*, 2014; Velásquez-Vélez, Saldamando-Benjumea, & Ríos-Diez, 2011].

La falta de respuesta de los insectos provenientes de campo podría atribuirse a la edad fisiológica de los adultos, ya que al ser capturados esta es desconocida y según se ha establecido esta podría condicionar la percepción de los VOCs por parte de los insectos. La edad de los insectos influye en la percepción sobre un compuesto orgánico volátil y puede producir reacciones fisiológicas o de comportamiento en el organismo receptor. [Klaschka, 2009].

Otro factor que puede influir sobre la respuesta de los insectos es el diseño del olfatómetro, para el *S. aloeus* sería conveniente probar el olfatómetro de doble fosa reportado por Pallares y colaboradores (2000) para insectos de gran tamaño; debido a que este evalúa el comportamiento de forma vertical, en donde los agujeros simulan una galería realizada por los insectos; a su vez, permite la comunicación entre el insecto, el estímulo olfativo (VOCs, un individuo, parte de la planta) y el suelo de palma. Este sistema consiste en cuatro piezas: 1) un recipiente circular de plástico rígido, 2) un piso rígido de plástico que presente dos agujeros de 3.5 cm, simétricos entre sí, 3) dos recipientes cilíndricos de 30 cm de largo, y 4) una tapa transparente plástica que se ajuste al recipiente circular. Otra opción, sería adaptar un olfatómetro de cuatro brazos para bioensayos conductuales de escarabajos grandes, ya que este presenta un sistema de administración volátil que dispensan semioquímicos en concentraciones constantes igual que el de "Y". El sistema de administración volátil se puede utilizar para mezclar y dispensar una amplia gama de concentraciones de productos semioquímicos en el aire a partir de soluciones acuosas diluidas, permitiéndole al insecto escoger frente a varias fuentes de olor (más de dos) en un mismo bioensayo. Este tipo de diseño consiste en una cámara principal con cuatro brazos equidistantes uno del otro, en donde el aire fluye hacia la cámara principal simultáneamente a través de los cuatro brazos, que a su vez están conectados a los respectivos recipientes que contienen los aromas que se quieren evaluar. [Saïd, *et al.*, 2006; López-Ávila, A., & Rincón, D. F. 2006].

3. Conclusiones

- A partir de la observación preliminar de dos parejas de *S. aloeus*, se establecieron las siguientes condiciones experimentales requeridas para la evaluación del comportamiento en el laboratorio: Horario (15:00-18:00 h), tiempo de evaluación (20 minutos), y tiempo de acondicionamiento (24 h).
- De acuerdo con la procedencia de los insectos (cría y campo) no se lograron establecer diferencias significativas en las respuestas de comportamiento frente los VOCs evaluados.
- La concentración de los compuestos podría afectar la respuesta de los insectos adultos de *S. aloeus*, frente a las fuentes de olor probadas. Se requieren experimentos adicionales para confirmar esta hipótesis.
- Bajo las condiciones empleadas para el estudio no se logró validar la respuesta del *S. aloeus* frente a los VOCs identificados, de manera que no fue posible confirmar su papel como semioquímicos de la especie.

4. Perspectivas

Se considera necesario llevar a cabo otros estudios a partir de los cuales pueda establecerse el efecto de la concentración de los VOCs identificados.

Sería conveniente evaluar la respuesta de comportamiento del *S. aloeus* al emplear un olfatómetro con diseño diferente al utilizado en este estudio.

Resulta conveniente realizar experimentos adicionales con: compuestos orgánicos volátiles mezclados en las proporciones identificadas en el insecto, en soluciones diluidas en un solvente apropiado, así como, emplear un mayor número de insectos adultos del *S. aloeus*.

Financiación

Esta investigación fue realizada gracias al apoyo financiero de la Vicerrectoría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Universidad Antonio Nariño (Proyecto 2018228), la Dirección Nacional de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia y el Centro de Investigación en Palma de Aceite (CENIPALMA). La autora agradece el soporte financiero recibido de la CONVOCATORIA VCTI-UAN DE INICIACIÓN CIENTÍFICA (IC) AÑO 2019.

Agradecimientos

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a Dios, por ir conmigo al paso que pueda andar, por ser mi alfa y omega en este camino, llamado vida. Asimismo, agradezco a mis padres, por enseñarme que del otro lado de los miedos está la vida; que en la vida se necesita firmeza, pero sobre todo constancia; por recordarme que tener esperanza es el resultado de tener propósito; y que dar menos de lo que se puede, es sacrificar un don. Por ello mi gratitud infinita. A Camila, mi hermana, por ser mi incondicional con todo lo que implica.

En segundo lugar, agradezco a la directora de este Trabajo de Grado Dr. Alicia Romero Frías, por brindarme la oportunidad de desarrollar este proyecto bajo su asesoría, por su calidad humana para tratar a su equipo de trabajo y guiarlo a cumplir los objetivos propuestos. Gracias por la confianza depositada en mí. Igualmente, agradezco a mis compañeras de trabajo Valentina Vidal y Laura Valencia con quienes he compartido proyectos e ilusiones durante este tiempo. Gracias por ser y estar; así como también por toda la información, apoyo, dedicación, esfuerzo, y conocimiento aplicado para poder realizar este trabajo de grado.

Gracias a mis amigos, que se han quedado a mi lado sin condiciones, y, sin pedírselo; aquellos que siempre me han apoyado moral y humanamente.

A todos, muchas gracias.

Referencias

- Ahumada, M. L., Calvache, H. H., Cruz, M. A., & Luque, J. E. (1995). *Strategus aloeus* (L.)(coleóptera: Scarabaeidae): biología y comportamiento en Puerto Wilches (Santander). *Revista Palmas*, 16(3), 9-16.
- Allou, K., Morin, J. P., Kouassi, P., N'klo, F. H., & Rochat, D. (2006). *Oryctes monoceros* trapping with synthetic pheromone and palm material in Ivory Coast. *Journal of chemical ecology*, 32(8), 1743-1754.
- Allou, K., Morin, J. P., Kouassi, P., N'klo, F. H., & Rochat, D. (2008). Sex ratio and female sexual status of the coconut pest, *Oryctes monoceros* (Coleoptera: Dynastidae), differ in feeding galleries and pheromone-baited traps. *Bulletin of entomological research*, 98(6), 581-586.
- Arias, N. A., Beltrán, J. A., Guerrero, J. M., & Sánchez, A. C. (2014). Tecnologías para el manejo de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite validadas en las zonas palmeras de Colombia.
- Aya, H. A., Cayón, G., & Martínez, L. (2011). Manejo químico de la Pudrición del cogollo en cuatro materiales de palma de aceite en Tumaco, Colombia. *Chemical management of the Rot Bud in four oil palm materials in Tumaco, Colombia* (No. A-).
- Bachy, A. (1963). *Insectes et animaux nuisables au palmier a huile*.
- Binns, M.R., Nyrop, J.P., (1992). Sampling insect populations for the purpose of IPM decision making. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 427–453.
- Borrero-Echeverry, F. (2016). *Social and Environmental Olfactory Signals Mediate Insect Behavioral Ecology and Evolution*. Lomma, Suecia: Department of Plant Protection Biology & Swedish University of Agricultural Sciences.

- Blomquist, G.J., Figueroa-Teran, R., Aw, M., Song, M., Gorzalski, A., Abbott, N.L., et al., (2010). Pheromone production in bark beetles. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 699–712.
- Burger, B.V., Petersen, W.G.B. 1991. Semiochemicals of the Scarabaeinae. III. Identification of the attractant for the dung beetle *Pachylomerus femoralis* in the fruit of the spineless monkey orange tree, *Strychnos madagascariensis*. *Z. Naturforsch. C.* 46:1073-1079.
- Calvache, H.; Gomez, P.L. (1991). Comportamiento de las plagas de palma de aceite en Colombia durante 1990. *Palmas (Colombia)* v.12 no.3, p.7-14.
- Calvache, H. H. (1995). Manejo integrado de plagas de palma de aceite. *Revista Palmas*, 16(especial), 255-264.
- Child, R. (1964). Coconuts. *Tropical Agriculture Series*. Longmans. London. 216 p.
- Carrillo-ruiz H, Álvarez HA. Morfometria y relaciones de escalamiento en el escarabajo *Strategus*. 2014;(January).
- Calvache, G., Franco, B., & Pedro, N. (2010). Manual de plagas de la palma de aceite en Colombia (No. L-0761). Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma [Colombia]
- Cokl, A., & Millar, J. (2009). *Biorational Control of Arthropod Pests*. Springer. Chap. Manipulation of Insect Signaling for Monitoring and Control of Pest Insects, pages 279–316.
- Comunicaciones Cenipalma, (2018), tomado de: <https://www.cenipalma.org>.
- Dicke, M. and M.W. Sabelis. (1988). Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. *Functional Ecology*, 2: 131-139.

- Dickens JC. 1986. Orientation of boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), to pheromone and volatile host compound in the laboratory. *Journal of Chemical Ecology*, 12 (1): 91-98.
- 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. *J. Econ. Entomol.* 99, 1550–1564.
- Fedepalma (2018), tomado de: <http://sispa.fedepalma.org/sispaweb/default.aspx?Control=Pages/produccion>. Consultada: 29/03/2019.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (fao). (2017). Crops. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Galante, E., & Marcos-García, M. A. (1997). Detritívoros Coprófagos y Necrófagos. *Los Artrópodos y el Hombre*. Sociedad Aragonesa de Entomología. Zaragoza.
- Hallet, RH, Perez AI, Gries, G., Gries, R., Pierce, HD J R , Yue, J., Oehlschlager, AC, Gonzales, LM, y Borden, JH 1995 Agregación de feromonas del escarabajo rinoceronte de coco, *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera, Scarabaeidae). *J. Chem. Ecol.* 21: 1549-1570.
- Heuskin, S., Verheggen, F.J., Haubruge, E., Wathelet, J., Lognay, G., (2011). The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15, 459–470.
- Hilker, M., & Meiners, T. (2011). Plants and insect eggs: how do they affect each other. *Phytochemistry*, 72, 1612–1623.
- Klaschka, U. (2009). Chemical communication by infochemicals.

- Knudsen, J.T., Tollsten, L. and Ervik, F. 2001. Flower scent and pollination in selected neotropical palms.
- Kroschel, J., Zegarra, O., (2010). Attract-and-kill: A new strategy for the management of the potato tuber moths *Phthorimaea operculella* (Zeller) and *Symmetrischema tangolias* (Gyen) in potato: Laboratory experiments towards optimising pheromone and insecticide concentration. *Pest Manag. Sci.* 66, 490–496.
- Lever, R.J.A.W. (1969). *Pests of the coconut palm*. FAO. Rome. 190 p.
- Leskey TC, Prokopy RJ, Wright SE, Phelan PL, Haynes LW. (2001). Evaluation of individual components of plum odor as potential attractants for adult plum curculios. *Journal of Chemical Ecology*, 27 (1): 1-17.
- Linn, C. E., Campbell, M. G., & Roelofs, W. L. (1986). Male moth sensitivity to multicomponent pheromones: Critical role of female-released blend in determining the functional role of components and active space of the pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 12(3), 659-668.
- López-Ávila, A., & Rincón, D. F. (2006). Diseño de un olfatómetro de flujo de aire para medir respuestas olfativas de insectos de tamaño mediano y pequeño. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 7(1), 61-65.
- Mesa Dishington, J. (2018). *Fedepalma, 55 años de gestión gremial para desarrollar y consolidar la agroindustria de la palma de aceite en Colombia*.
- Metcalf, R. (1998). Ultramicrochemistry of insect semiochemicals. *Mikrochimica Acta*, 129, 167–180.

- Moretto, P., Cosson, B., Krell, F.-T., and Aristophanous, M. 2019. Pollination of *Amorphophallus barthlottii* and *A. abyssinicus* subsp. *akeassii* (Araceae) by dung beetles (Insecta: Coleoptera: Scarabaeoidea). *Catharsius La Revue*. 18:19-36.
- Morón, M. A. and Ratcliffe, B.C. 1990. Descriptions of *Strategus* larvae with a new key to species based on the larvae (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). *Elytron*, Vol 4:53-66.
- Oil World, (2016). Tomado de: <https://www.oilworld.biz/t/statistics/commodities>.
- Pallares, C. H., de la Torre, J. A. A., de Lucas, P. R., Calvache, H. H., Luque, J. E., & Correa, N. (2000). Análisis del comportamiento y comunicación química intraespecífica en *Strategus aloeus* (L.) (Coleoptera, Scarabaeidae-Dynastinae). *Revista Palmas*, 21(especial,), 185-194.
- Pardo-Locarno, L.C. (1994). Escarabajos (Coleoptera: Melolonthidae) de importancia agrícola en Colombia. En: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 21°, Medellín, 27-29 de julio, 1994. Memorias. SOCOLEN, Medellín. p.159-18.
- Pigott, C.J. (1964). *Coconut growing*. Oxford University Press. London. 109 p.
- Ratcliffe, B. C. 2003. The Dynastinae scarab beetles of Costa Rica and Panamá. *Bulletin of the University of Nebraska State Museum* 16: 1.506.
- Rochat, D., Ramirez-Lucas, P., Malosse, C., Aldana, R., Kakul, T., & Morin, J. P. (2000). Role of solid-phase microextraction in the identification of highly volatile pheromones of two Rhinoceros beetles *Scapanes australis* and *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae). *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 433-444.

- Rochat, D., Mohammadpoor, K., Malosse, C., Avand-Faghih, A., Lettere, M., Beauhaire, J., ... & Abdollahi, G. A. (2004). Male aggregation pheromone of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*. *Journal of chemical ecology*, 30(2), 387-407.
- Saïd, I., De La Torre, R. A., Morin, J. P., & Rochat, D. (2006). Adaptation of a four-arm olfactometer for behavioural bioassays of large beetles. *Chemoecology*, 16(1), 9-16.
- Saïd, I., Hasni, N., Abdallah, Z., Couzi, P., Ouhichi, M., Renou, M., & Rochat, D. (2015). Identification of the aggregation pheromone of the date palm root borer *Oryctes agamemnon*. *Journal of chemical ecology*, 41(5), 446-457.
- Sanabria-García, R., Gasca-Álvarez, H. J., & Amat-García, G. (2012). Sinopsis de la Tribu Oryctini (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) de Colombia.
- Saveer, A. M., Becher, P. G., Birgersson, G. R., Hansson, B. S., Witzgall, P., & Bengtsson, M. (2014). Mate recognition and reproductive isolation in the sibling species *Spodoptera littoralis* and *Spodoptera litura*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2, 18.
- S. Tewari et al, "Chapter 9 - use of pheromones in insect pest management, with special attention to weevil pheromones," in *Integrated Pest Management* Anonymous (2014).
- Velásquez-Vélez, M. I., Saldamando-Benjumea, C. I., & Ríos-Diez, J. D. (2011). Reproductive isolation between two populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in corn and rice fields from central Colombia. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(4), 826-833.
- Wurmitzer, C., Blüthgen, N., Krell, F.T., Maldonado, B., Ocampo, F., Müller, J.K., and Schmitt, T. 2017. Attraction of dung beetles to herbivore dung and synthetic compounds in a comparative field study. *Chemoecology*. 27:75-84.