

**CULTIVOS AROMÁTICOS REPELENTES AL PICUDO DEL PIMIENTO
[*Anthonomus eugeni* Cano (Coleoptera: Curculionidae)]: SU EFECTO EN EL
COMPORTAMIENTO DE BÚSQUEDA Y ACEPTACIÓN DE HUÉSPED**

María I. Rosario Mejías

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado

de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

en

HORTICULTURA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGROAMBIENTALES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2018

Aprobado por:

Bryan Brunner, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Irma Cabrera, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Edwin Abreu, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Claribel Acevedo, Ph. D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Roberto Vargas, Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

Abstract

Master of Science

Department of Agro-Environmental Sciences, University of Puerto Rico-Mayagüez

CULTIVOS AROMÁTICOS REPELENTES AL PICUDO DEL PIMIENTO [*Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera)]: SU EFECTO EN EL COMPORTAMIENTO DE BÚSQUEDA Y ACEPTACIÓN DE HUÉSPED

María I. Rosario Mejías

2018

Pepper weevils (*Anthonomus eugenii*) were exposed to volatiles from *Capsicum annuum*, from five aromatic crops (*Ocimum basilicum*, *Allium wakegi*, *Tagetes erecta*, *Plectranthus amboinicus* and *Cymbopogon citratus*) and from mixes of *C. annuum* and each of the aromatic crops in a “Y” tube olfactometer. Volatiles from *P. amboinicus*, *C. citratus* and *T. erecta* were repellent to *A. eugenii*. Volatile of *P. amboinicus* + *C. annuum*, *C. citratus* + *C. annuum* and *T. erecta* + *C. annuum* were repellent. Contact of the weevils with the vegetative material from each aromatic crop and from *C. annuum* was evaluated at different times (5, 15, 30 and 60 min.) using Petri dishes. *P. amboinicus*, *C. citratus*, *T. erecta* and *O. basilicum* materials repel *A. eugenii* contact at all the times. *C. citratus* present a total repellency (0% contact) at all the times. The unique mix treatment which showed repellency to the contact with pepper passing 30 min. was *C. citratus* + *C. annuum*. A repellency to the contact with the aromatics of treatments *P. amboinicus* + *C. annuum*, *C. citratus* + *C. annuum* and *T. erecta* + *C. annuum* was shown at all the times.

Resumen

Maestría en Ciencias

Departamento de Ciencias Agroambientales, Universidad de Puerto Rico-Mayagüez

CULTIVOS AROMÁTICOS REPELENTES AL PICUDO DEL PIMIENTO [*Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera)]: SU EFECTO EN EL COMPORTAMIENTO DE BÚSQUEDA Y ACEPTACIÓN DE HUÉSPED

María I. Rosario Mejías

2018

Los picudos del pimiento (*Anthonomus eugenii*) fueron expuestos a volátiles de *Capsicum annuum*, de cinco cultivos aromáticos (*Ocimum basilicum*, *Allium wakegi*, *Tagetes erecta*, *Plectranthus amboinicus* and *Cymbopogon citratus*) y a mezclas de volátiles de *C. annuum* y cada cultivo aromático en un olfatómetro de tubo “Y”. Los volátiles de *P. amboinicus*, *C. citratus* y *T. erecta* fueron repelentes a *A. eugenii*. Las mezclas de volátiles *P. amboinicus* + *C. annuum*, *C. citratus* + *C. annuum* y *T. erecta* + *C. annuum* fueron repelentes. El contacto de los picudos con el material vegetativo de cada cultivo aromático y de *C. annuum* fue evaluado en diferentes tiempos (5, 15, 30 and 60 min.) en platos Petri. Los materiales *P. amboinicus*, *C. citratus*, *T. erecta* y *O. basilicum* repelieron el contacto de *A. eugenii* en todos los tiempos. *C. citratus* presentó repelencia total (0% contacto) en todos los tiempos. La única mezcla que mostró repelencia al contacto con pimiento al pasar 30 min. fue *C. citratus* + *C. annuum*. Se presentó una repelencia al contacto con los cultivos aromáticos de los tratamientos *P. amboinicus* + *C. annuum*, *C. citratus* + *C. annuum* y *T. erecta* + *C. annuum* en todos los tiempos.

© 2018 María I. Rosario Mejías

Dedicatoria:

A todas las estudiantes madres, a mis hijas Alanis y Elena y a mi familia.

Agradecimientos

Agradezco a **mi familia** por su continuo apoyo en el transcurso de mi maestría. Al **Dr. Bryan Brunner** por su gran mentoría, consideración y temple. A la **profesora Irma Cabrera y el profesor Edwin Abreu** por su valiosa consejería. Al **Dr. Elvin Román y el Dr. Roberto Vargas** por su consejería y apoyo. Al **Departamento de Ciencias Agroambientales-UPR-RUM** por la oportunidad de ser instructora y recibir ayudantía graduada. Al **Dr. David Jenkins** por su valiosa aportación y consejería en la crianza de picudos y experimentos de comportamiento de insectos. A la **Estación Experimental Agrícola-Lajas** por proveer los viveros, materiales y el terreno para la propagación y siembra de cultivos. A **TARS (Tropical Agriculture Research Station)-USDA** por contribuir con viveros, material de propagación, laboratorio y materiales para la crianza de picudos y los experimentos de comportamiento de insectos. A **Dr. Pablo Morales Payán** por la oportunidad de exponer resultados preliminares en la 62 Reunión Anual de la ISTH (Interamerican Society of Tropical Horticulture). A los **agricultores con siembras de pimiento en el sur de P.R.** por permitir recolectar los frutos infestados requeridos para la crianza de picudos. A **Dra. Linda Beaver y Dr. Macchiavelli** por su orientación estadística. A **Kiria Hurtado** por su contribución en la siembra para la crianza de picudos y en las visitas a las siembras de pimiento comerciales. Al **Agro. Warys Zayas** por su consejería. A las fuertes mujeres fuertes que me estimularon, aconsejaron y apoyaron emocionalmente para que persistiera; entre ellas destacan **Agro. Darsy Smith, Agro. Laura Berríos y Agro. Lorena Simbaña.**

Tabla de Contenido

Lista de Tablas.....	x
Lista de Figuras.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
A. Biología de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano, su efecto en siembras de pimiento y prácticas para su manejo.....	5
1. Daño.....	5
2. Ciclo de vida.....	6
3. Manejo.....	7
a. Control químico.....	7
b. Control biológico.....	9
c. Prácticas culturales.....	10
B. Biología de acción de cultivos acompañantes.....	12
1. Medios de reducción de insectos fitófagos.....	13
a. Larga distancia.....	15
(1) Señales visuales.....	15
(2) Volátiles repelentes.....	15
(3) Volátiles no-atrayentes.....	16
(4) Señales visuales, volátiles y compuestos atrayentes (plantas trampas).....	16
(5) Volátiles inducidos por herbívoros.....	17
b. Corta distancia.....	18
(1) Tiempo de permanencia.....	18
(2) Barrera física.....	18
(3) Aumento de depredadores y parasitoides.....	19
(4) Resistencia fisiológica del cultivo.....	20
(5) Estrategia “rechazo-atracción” (“push-pull”).....	20
2. Volátiles y químicos de contacto: recepción química y procesamiento por parte del insecto.....	21
a. Volátiles de las plantas.....	21
(1) Volátiles base.....	21
(2) Variaciones de los volátiles.....	23
(a) Volátiles de hojas verdes.....	23
(b) Volátiles inducidos por herbívoros.....	24
(b.1) Costo de producción de volátiles inducidos por herbívoros.....	24

(3) Recepción química y procesamiento de volátiles	25
b. Químicos de contacto.....	29
(1) Recepción química y procesamiento de químicos de contacto.....	29
3. Cultivos aromáticos: sus diversas propiedades.....	34
4. Estudios de cultivos de acompañamiento potencialmente beneficiosos para el pimiento.....	38
a. Acompañamiento beneficioso.....	39
(1) Lilliaceae.....	39
(2) Bromeliaceae.....	41
(3) Euphorbiaceae.....	41
(4) Fabaceae.....	41
(5) Poaceae.....	42
(6) Poaceae y Solanaceae.....	43
b. Volátiles efectivos.....	44
(1) Lilliaceae.....	44
A. Volátiles de pimiento y su efecto en <i>Anthonomus eugenii</i>	44
B. Efectos de conespecíficos en la búsqueda, aceptación y uso de huésped	48
1. Feromona de agregación.....	48
2. Daño a plantas huéspedes	48
3. Marcador de huéspedes.....	49
I. METODOLOGÍA.....	50
A. Materiales.....	50
1. Materiales vegetales y su propagación.....	50
2. Crianza de picudos.....	51
3. Diseño de olfatómetro.....	52
4. Diseño de placa Petri.....	54
B. Métodos.....	55
1. Experimento 1: Efecto de volátiles.....	55
2. Experimento 2: Efecto de mezclas de volátiles.....	56
3. Experimento 3: Efecto de exposición a material vegetativo.....	57
4. Experimento 4: Efecto de exposición a mezclas de materiales vegetativos.....	58
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
A. Experimento 1: Efecto de volátiles.....	59
B. Experimento 2: Efecto de mezclas de volátiles.....	62
C. Experimento 3: Efecto de exposición a material vegetativo.....	65
D. Experimento 4: Efecto de exposición a mezclas de materiales vegetativos.....	69
1. Contacto con material vegetativo de pimiento.....	69

2. Contacto con material vegetativo de cada aromática.....	72
VI. CONCLUSIONES.....	77
A. Efecto de volátiles en la elección.....	77
B. Efecto del material vegetativo en el contacto.....	77
C. Efecto de unión de materiales vegetativos en el contacto con el material vegetativo de pimiento.....	78
D. Efecto de mezclas de materiales vegetativos en el contacto con el material vegetativo de cada aromática.....	79
E. Posible efecto en el campo.....	80
1. Efecto de volátiles.....	80
2. Efecto de material vegetativo.....	81
F. Recomendaciones de trabajo futuro.....	83
Literatura Citada.....	85

Lista de Tablas

1. Medios de acción de plantas acompañantes.....	14
2. Efectos positivos de cultivos acompañantes beneficiosos al pimiento.....	40
3. Comparación del conteo de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo Y.....	60
4. Comparación del conteo de no elección y de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo Y.....	60
5. Comparación del conteo de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y.....	63
6. Comparación del conteo de no elección y de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y.....	63
7. Comparación del conteo de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, al ser expuestos a material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en placa Petri.....	66
8. Comparación del conteo de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, con material vegetativo de plantas de pimiento al ser expuestos a material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de material vegetativo (plantas de pimiento y plantas aromáticas) en placa Petri.....	70
9. Comparación del conteo de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, con material vegetativo de plantas aromáticas al ser expuestos a mezcla de material vegetativo (plantas de pimiento y plantas aromáticas) en placa Petri.....	73

Lista de Figuras

1. Sensor olfatorio del insecto.....	26
2. Sensor gustatorio del insecto.....	26
3. Químicos, receptores y estimulación sensorial.....	28
4. Mezclas de químicos receptados.....	30
5. Estimulación en la integración de químicos.....	31
6. Diseño de olfatómetro de tubo Y.....	53
7. Diseño de placa Petri.....	54
8. Porcentaje de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , del lado de volátiles y del lado de aire al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo.....	61
9. Porcentaje de elección de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , del lado de volátiles y del lado de aire al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y.....	64
10. Porcentaje de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en placa Petri, en distintos tiempos.....	67
11. Porcentaje de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> , haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas de pimiento en placa Petri, en distintos tiempos.....	71
12. Porcentaje de picudos del pimiento, <i>A. eugenii</i> haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas aromáticas en placa Petri, en distintos tiempos.....	74

I. INTRODUCCIÓN

El pimiento, *Capsicum annuum* L., es un cultivo hortícola de importancia cultural, alimenticia y económica en Puerto Rico. Este vegetal es altamente utilizado en las comidas típicas puertorriqueñas, mayormente en la realización de condimentos como el sofrito. Además de su uso como condimento el pimiento aporta las vitaminas A, C, K y folato y los minerales potasio, fósforo, magnesio y calcio (Agriculture Research Service, USDA, 2016). El pimiento ocupa el segundo lugar en importancia económica entre las hortalizas solanáceas en Puerto Rico; tuvo unas cifras preliminares de producción agrícola de \$2,920,000 en el periodo del 2014-2015 (Departamento de Agricultura, 2015). La producción fue de 41,262 quintales de pimientos a un precio de \$70.78/quintal (Departamento de Agricultura, 2015). Esto representa una producción 8% mayor, un precio 19% mayor y un valor 28% mayor en comparación con los datos de las estadísticas del periodo de 2013-2014 (Departamento de Agricultura, 2015). Según el Censo de Agricultura de Puerto Rico de 2012, 189 fincas produjeron pimientos para la venta, con 486 cuerdas cosechadas (National Agriculture Statistics Service, 2014).

El picudo del pimiento (PP), *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera) se considera la plaga principal del pimiento en Puerto Rico (Armstrong y Cabrera, 2005). Este insecto fue detectado en Puerto Rico en el año 1982 (Abreu y Cruz, 1985) y en la década de 1990 se registraron pérdidas de hasta un 100% en siembras de pimiento (Abreu y Armstrong, 2001). La etapa larval es la de mayor daño debido a que se desarrolla dentro del fruto, dificultando su control. La tendencia de los agricultores en Puerto Rico es comenzar a realizar aplicaciones de plaguicidas inmediatamente después de la siembra (Correa, 1999). Prácticas preventivas como el manejo de las plantas huéspedes alternas del PP (por ejemplo: mata de gallina/yerba mora/"nightshade" [*Solanum americanum* Mill]) no se enfatizan para el manejo del PP. En la actualidad el cultivo del pimiento

en Puerto Rico presenta pérdidas en rendimiento de 50% o más (a causa del PP) aun cuando son tratados con plaguicidas registrados.

Los compuestos volátiles y constituyentes de las plantas son determinantes en el proceso de búsqueda y aceptación de huésped de los insectos fitófagos. En la búsqueda de huésped el insecto debe percibir una mezcla de volátiles característica de su huésped. Una vez un insecto es atraído por determinados volátiles buscará contactar a la posible planta huésped. Y en el acto de contacto, los químicos presentes deberán brindar suficientes estímulos positivos para que el insecto acepte la planta como huésped. Las plantas acompañantes son definidas como cultivos intercalados que mejoran la nutrición y/o la defensa química de los cultivos; además, pueden tener efectos repelentes y/o interceptores en las plagas y patógenos y atraer enemigos naturales, o proveer alimento para los enemigos naturales (Parolin et al., 2012). Estas plantas representan una opción para influir en el proceso de búsqueda y aceptación de huésped de los insectos fitófagos por diversos medios de acción (señales visuales, volátiles repelentes, plantas trampas, barrera física, aumento de depredadores y parasitoides, mejora en la resistencia fisiológica del cultivo principal, entre otras). Los medios de acción que involucran los compuestos volátiles son claves para prevenir y/o atrasar la llegada de los insectos plagas ya que actúan a larga distancia. Los medios que involucran los químicos percibidos al contacto pueden funcionar en la disuasión de oviposición y de alimentación; esto puede causar una emigración del cultivo principal. A los cultivos aromáticos (plantas que poseen un olor/aroma de fácil percepción) popularmente se le atribuye características repelentes a plagas y enfermedades. Los cultivos aromáticos caen bajo el grupo de “plantas medicinales y aromáticas”; grupo de plantas que se caracterizan por contener metabolitos secundarios (como aceites esenciales, alcaloides, glicósidos, saponinas, taninas, vitaminas y otros) (Zheljazkov y Craker, 2016). Estos metabolitos tienen funciones asociadas con

el mecanismo de protección y defensa (Zheljazkov y Craker, 2016). Chapman (2003) expone que los compuestos secundarios de las plantas se caracterizan por ser interpretados como estímulos repelentes por los insectos. Además, los cultivos aromáticos poseen diversidad de usos (perfumería, culinario, medicinal, terapéutico, etc.), por lo cual el añadirlos en las siembras representaría añadir rendimientos con productos que pueden ser mercadeados de múltiples formas.

La utilización de cultivos acompañantes es sugerida de forma popular entre campesinos, pero a nivel comercial solamente es llevada a cabo por algunos agricultores ecológicos. Muchos agricultores afirman que no utilizan cultivos acompañantes debido a la falta de especificación sobre que cultivos acompañantes usar y a qué razón usarlos para manejar una plaga determinada de forma eficiente. Las siembras comerciales de pimiento en Puerto Rico se caracterizan por ser monocultivos. Estas son continuamente atacadas por el picudo del pimiento (PP, de ahora en adelante), *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera).

Para poder tener un manejo más efectivo del PP y garantizar un mayor rendimiento de este cultivo se deben examinar otras opciones. Los efectos perjudiciales al medio ambiente y en las personas, la pérdida de efectividad de los plaguicidas, el aumento de plagas resistentes, entre otras situaciones nos demuestran la necesidad de un cambio en las prácticas agrícolas que imperan en la actualidad. Es de particular importancia trabajar en el ámbito de la prevención, mediante el diseño y la planificación del sistema agrícola, como medio para reducir considerablemente el uso exclusivo de plaguicidas para el manejo de plagas.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los volátiles y de la exposición a material vegetativo de cinco cultivos aromáticos (*Allium wakegi* Araki, *Ocimum basilicum* L., *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. y *Tagetes erecta* L.) en el comportamiento de búsqueda y aceptación de huésped de *Anthonomus eugenii*.

II. JUSTIFICACIÓN

Anthonomus eugenii es la plaga con efectos más severos en el cultivo del pimiento al causar pérdidas en rendimiento de más de un 50% en siembras comerciales de pimiento en el sur de Puerto Rico, aun con el uso de insecticidas. En Puerto Rico el enfoque de manejo de esta plaga es el control químico y es escaso el uso de otras prácticas preventivas y/o de Manejo Integrado de Plagas. El diseño y organización del espacio de siembra utilizando cultivos repelentes representa una alternativa prometedora para contribuir a lograr un manejo más efectivo, reducir los efectos perjudiciales del uso de plaguicidas y garantizar un mayor rendimiento de este cultivo de importancia cultural, nutricional y económica. Hacen falta estudios que evidencien científicamente qué cultivos tienen un efecto repelente a *A. eugenii* Cano. Los cultivos aromáticos se caracterizan por poseer metabolitos secundarios de las plantas (compuestos se distinguen por ser interpretados como estímulos repelentes a los insectos fitófagos) (Zheljazkov y Craker, 2016) por lo cual son altamente potenciales a ser estudiados como cultivos repelentes. El estudio del efecto de cultivos aromáticos en el comportamiento de búsqueda y aceptación de huésped de *A. eugenii* brindaría conocimiento que ayudaría a establecer programas de diseño y arreglo de plantas en el sistema agrícola con el fin de prevenir, retrasar la llegada y promover una emigración de esta plaga.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A. Biología de *Anthonomus eugenii* Cano, su efecto en siembras de pimiento y prácticas para su manejo

1. Daño

El PP es una plaga reconocida del pimiento y el ají en Centro América, el Caribe y Estados Unidos. Este insecto es oriundo de México e introducido a Estados Unidos. Fue detectada por primera vez en Puerto Rico en el año 1982 en siembras de pimiento tipo ‘Cubanelle’ en Isabela (Abreu y Cruz, 1985). Esta plaga tuvo efectos devastadores en las siembras de pimiento en la década de 1990, según un catastro del Departamento de Agricultura. Las pérdidas registradas fueron de hasta un 100% en siembras de pimiento de cocinar, de campana y ajés dulces (Abreu y Armstrong, 2002).

El PP se considera la plaga principal del pimiento en Puerto Rico (Armstrong y Cabrera, 2005). El daño del PP es generado tanto por el adulto como por la larva, siendo la larva la de mayor impacto en los frutos de pimiento. El adulto se alimenta del follaje, brotes de hojas, yemas florales, flores y frutos de las plantas de pimiento y ají (Elmore et al., 1934; Gordon, 1984; Gordon y Armstrong, 1990, según cita Abreu y Armstrong, 2002). El daño al follaje se presenta como pequeñas perforaciones en las hojas. La alimentación del adulto puede causar la caída de los botones florales, flores y frutas inmaduras (Armstrong y Cabrera, 2005). Los frutos presentan pequeños puntos negros en el lugar donde la hembra ovipositó. Los orificios causados por la oviposición y, también por la salida del insecto del fruto, permiten la entrada a patógenos, principalmente el hongo *Alternaria alternata*, que afecta el fruto internamente (Brutton, 1989, como se cita en Abreu y Armstrong, 2002). Los frutos con perforaciones tienen poco valor mercadeable ya que se descomponen rápidamente (Abreu y Armstrong, 2002). La oviposición también se puede dar en las flores y brotes; una vez emerge la larva del huevo ésta se desarrolla

en los capullos del pimiento. La larva se desarrolla dentro del fruto y el consumo de las semillas y el fruto ocasiona la caída prematura de los frutos (Abreu y Armstrong, 2002). Este es el daño más importante al cultivo del pimiento. No obstante, si el daño ocurre al principio de la florecida la reducción en producción es altamente significativa (Armstrong y Cabrera, 2005).

2. Ciclo de vida

Los hospederos alternos y las plántulas infectadas son la principal fuente de picudos, que permite la continuación de su ciclo de vida. Los PP sobreviven en los hospederos alternos en los meses antes de la siembra del cultivo. Una vez establecidas las siembras de pimiento, los picudos se mueven de los hospederos alternos a éstas.

Los adultos se pueden localizar en las hojas tiernas y en las yemas florales para alimentarse y ovipositar (Armstrong, 2002). La hembra adulta del picudo realiza su oviposición en el ovario o en el pedúnculo de la flor o el fruto (Armstrong, 2002). La hembra del PP mastica un pequeño pedazo del fruto formando un agujero, deposita un huevo en la cavidad, y lo sella con una secreción anal clara que se endurece para formar un "tapón de oviposición" (Adesso et al., 2007). Este tapón de oviposición junto con la secreción inicial que las hembras usan para sellar el huevo poseen un disuasivo que alerta a las hembras de que el espacio (fruto) está ocupado (Adesso et al., 2007).

La hembra deposita de 5-7 huevos por día. Gordon y Armstrong (1990) estudiaron el ciclo de vida del picudo del pimiento bajo condiciones de laboratorio. Encontraron que las hembras produjeron un promedio de 253.6 huevos y la eclosión en promedio 3.57 días. Del huevo emerge la pequeña larva, la cual penetra el fruto o la flor. Se suele encontrar de una a dos larvas por fruto y a veces más si la infestación es severa. La larva dura un promedio de 9.55 días bajo condiciones de laboratorio (Gordon y Armstrong, 1990); la pupa se forma dentro del fruto y bajo condiciones de laboratorio tiene una duración promedio de 3.32 días (Gordon y Armstrong, 1990). El adulto

emerge, dejando una incisión al salir del fruto. La duración promedio del adulto, bajo condiciones de laboratorio es de 31.7 días (Gordon y Armstrong, 1990). Una vez emergen del fruto del pimiento, los adultos comienzan su alimentación.

Los adultos machos producen una feromona de agregación que atraerá a ambos sexos (Patrock et al., 1992). El ciclo de vida desde huevo hasta adulto tiene una duración media de 16.41 días (Gordon y Armstrong, 1990). En un período de tiempo desde la aparición de botones florales hasta el primer pase de cosecha, más o menos de 35 a 50 días, podríamos tener de tres a cuatro generaciones de este insecto por siembra (Armstrong y Cabrera, 2005). El daño se agrava por el solapamiento de las generaciones del PP atacando el pimiento, por lo que se podrían tener de siete a nueve generaciones de este insecto durante el ciclo de crecimiento del cultivo (Armstrong y Cabrera, 2005).

3. Manejo

La etapa de huevo y la etapa de larva, las cuales son etapas de desarrollo en el interior del fruto dificultando el control, aun con insecticidas químicos sistémicos (Riley y Sparks, 1995). Esto conlleva un problema serio una vez se ha alcanzado estas etapas del ciclo de vida, siendo particularmente la etapa larval la de mayor daño al cultivo. Esta situación provoca que el control del picudo se dirija hacia el adulto; etapa de la cual se realizan muestreos para determinar si las poblaciones causan o no daño económico.

a. Control químico

El control químico es el método principal para controlar el PP. La tendencia de los agricultores en Puerto Rico es comenzar a realizar aplicaciones de plaguicidas inmediatamente después de la siembra (Correa, 1999). La Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico recomienda hacer muestreos desde el trasplante para la detección temprana del picudo

del pimiento (Armstrong y Cabrera, 2005). A su vez se recomienda utilizar un programa de aspersiones semanales comenzando tres semanas después del trasplante, alternando insecticidas (Armstrong y Cabrera, 2005). Por medio del manejo químico como única opción no se ha podido mantener bajo control las poblaciones de esta plaga en las siembras comerciales de pimiento en Puerto Rico. Un estudio realizado por el Departamento de Agricultura en 1996 en las principales zonas de cultivo de pimiento en Puerto Rico, demostró que los agricultores confrontaron serios problemas para el control de esta plaga. En las parcelas tratadas con insecticidas registrados como Vydate, Baythroid, Sevin, Guthion, Thiodan, Ambush, Asana, Monitor, Agree, Diazinon y Xen Tari, hubo pérdidas que alcanzaron el 50% de la producción (Correa, 1999). Los ingredientes activos (i.a.), grupos químicos (g.q.) y modos de acción (m.a.) de estos plaguicidas son: Vydate (i.a. Oxamil, g.q. carbamato, m.a. sistémico y contacto), Baythroid (i.a. Ciflutrina-Beta, g.q. piretroide, clorado, fluorado, m.a. contacto y estomacal), Sevin (i.a. Carbaril, g.q. carbamato, m.a. contacto y estomacal), Guthion (i.a. Azinfos-metil, g.q. organofosforado, m.a. contacto y estomacal), Thiodan (i.a. Endosulfan, g.q. organoclorado, m.a. contacto e ingestión), Ambush (i.a. Permetrina, g.q. piretroide, clorado, m.a. contacto, estomacal), Asana (i.a. Esfenvalerato, g.q. piretroide, clorado, m.a. contacto y estomacal), Monitor (i.a. Metamidofos, g.q. organofosforado, m.a. sistémico, contacto y estomacal), Agree (i.a. *Bacillus thuringiensis*, g.q. biológico, m.a. estomacal), Diazinon (i.a. Diazinon, g.q. organofosforado, m.a. translaminar, contacto, estomacal y respiratorio) y Xen Tari (i.a. *Bacillus thuringiensis*, g.q. biológico, m.a. estomacal) (Universidad Nacional de Costa Rica, 2018). Actualmente agricultores con siembras de pimiento en la zona sur de P.R. afirman que tienen pérdidas en rendimiento de 50% o más debido al ataque del PP aun cuando utilizan plaguicidas. Además, agricultores consideran que el picudo del pimiento ha adquirido resistencia a los plaguicidas utilizados (lo que sucede cuando se realizan tratamientos

reiterados con un mismo plaguicida, o con productos del mismo modo de acción) y que han notado una disminución de insectos beneficiosos (ej: abejas) debido a la aplicación de plaguicidas. El uso indiscriminado de plaguicidas trae consigo una serie de problemas. Por ejemplo, la selección de picudos con resistencia a los insecticidas provoca brotes de plagas secundarias como la mosca blanca y los trípodos, y son un riesgo de salud a la comunidad agrícola y de contaminación ambiental en general. Estas situaciones nos exigen examinar otras opciones de control para reducir estos efectos adversos y tener un control más efectivo de las poblaciones del picudo del pimiento.

b. Control biológico

Existen varias especies de parasitoides y depredadores que atacan al PP. Los estudios recientes indican que estos enemigos naturales no han ejercido un control efectivo sobre las poblaciones del picudo (Armstrong y Cabrera, 2005). En Puerto Rico, se han reportado dos himenópteros parasitoides, *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae) y *Urosigalphus mexicanus* Gibson (Hymenoptera: Braconidae). Además, se han observado a las arañas *Pleisometes* spp. (Arachnida: Tetragnathidae), *Leucage* spp. (Arachnida: Tetragnathidae) y *Neoscoma moreli* (Arachnida: Arachneidae) depredando al PP (Armstrong y Cabrera, 2005). Las liberaciones semanales del ectoparasitoide *Catolaccus hunteri* Crawford, en Florida, E.U. han sido efectivas en reducir el número de frutos infestados con la larva del PP (Schuster, 2007). Además, la liberación de este parasitoide en las plantas de *Solanum americanum* Mill (huésped alterna) durante los meses donde no hay siembra principal de pimiento también resultó en menos pimientos infestados (Schuster, 2007). Otro agente de control biológico del PP es *Triaspis eugenii* Wharton y Lopez-Martinez (Hymenoptera: Braconidae). A pesar de que en Florida, E.U. no se logró su establecimiento en el campo, éste parasitoide tiene la ventaja de tener especificidad de huésped, habilidad de parasitar los huevos y una razón de incremento casi doble en comparación con su

huésped (Rodríguez-Leyva, 2006). Por lo cual representa un prospecto para el control biológico del PP por aumentación (Rodríguez-Leyva, 2006).

Se recomienda que para lograr poblaciones altas de enemigos naturales se utilicen cultivos acompañantes en las siembras. El modo de acción de este tipo de plantas acompañantes, las plantas banco y plantas insectario, se describe en la sección III.A.2.c. (Aumento de depredadores y parasitoides).

c. Prácticas culturales

Algunas prácticas son recomendadas para evitar que las fuentes de infección del PP (plántulas infectadas con huevos, huéspedes secundarios con huevos, larvas y adultos, frutos de previas siembras infectados con larvas, etc.) entren en contacto con las nuevas siembras y así romper con el ciclo continuo del picudo en la finca. Es recomendable recoger las frutas y flores abortadas por el daño del picudo (Armstrong y Cabrera, 2005). Los pimientos caídos prematuramente no se deben enterrar cerca de la siembra (Armstrong y Cabrera, 2005). Una vez terminada la cosecha se debe eliminar toda fuente de infección en el predio sembrado; incluyendo la eliminación de la plantación completa (Cabrera et al., 2002). Una vez terminada la cosecha se recomienda la incorporación en el suelo de las plantas mediante el arado. Pero se debe de esperar un periodo considerable de tiempo antes de establecer siembras en predios con historial de problemas recientes con el picudo (Armstrong y Cabrera, 2005). Asimismo, se recomienda esperar antes de establecer siembras nuevas de pimiento cercanas a plantaciones viejas de pimiento (Armstrong y Cabrera, 2005). Períodos de varios meses de descanso del terreno pudieran romper con el ciclo de *A. eugenii*, considerando el largo de duración de su ciclo de vida. Las plántulas a utilizarse en una nueva siembra deben ser producidas en un área libre de picudo, preferiblemente una estructura cerrada como lo es un umbráculo o un invernadero (Cabrera et al., 2002). Al

momento de realizar la siembra, se debe elegir un lugar lejano a áreas infestadas por el picudo del pimiento, a siembras abandonadas de solanáceas y a áreas con hospederos alternos (Cabrera et al., 2002). Toda planta que es hospedera alterna del picudo debe ser eliminada. La hospedera alterna más reconocida en Puerto Rico es la maleza conocida como mata de gallina, yerba mora o "nightshade" (*Solanum americanum* Mill). Otros hospederos alternos son el tomate, *Solanum lycopersicum* L., la berenjena, *Solanum melongena* L., *Solanum nigrum* L., *Solanum ptycanthum* Dun., *Solanum eleagnifolium* L., *Solanum pseudocapsicum* L., *Solanum carolinense* L., y *Solanum dimidatum* F (Cabrera et al., 2002). Sin embargo, el manejo de las plantas huéspedes alternas del picudo del pimiento es poco practicado e incluso agricultores no conocen cuales son estas plantas. El uso de variedades tolerantes es una alternativa para minimizar los daños. En una evaluación sobre el daño de *Helicoverpa zea* y *Anthonomus eugenii* Cano en diferentes variedades de pimientos de cocinar se encontró que la variedad híbrida con menor porcentaje de daño de estos insectos fue la x 3R Key West. De las variedades de polinización abierta la Línea 16R y la Marconi Red demostraron menor susceptibilidad al daño de estos insectos cuando se utilizó la época de siembra de enero-mayo (Cabrera et al., 2011). La rotación de cultivos es una alternativa de control del picudo que pudiera romper con el ciclo de éste en el terreno; sin embargo, algunos agricultores no la practican en gran medida porque desean tener grandes extensiones de siembras de solanáceas en continuidad durante todo el año (Cabrera et al., 2002). Por otro lado, el uso de cultivos acompañantes es una alternativa que pudiera reducir la incidencia y severidad de daño del picudo en las siembras a la vez que genera cosechas e ingresos adicionales en una misma área de terreno. Esta alternativa no es aplicada actualmente en las siembras comerciales de pimiento en Puerto Rico, con excepción de algunos agricultores ecológicos.

B. Biología de acción de cultivos acompañantes

Parolin et al. (2012) definen a las plantas acompañantes como cultivos intercalados que mejoran la nutrición y/o la defensa química de los cultivos; además, pueden tener efectos repelentes y/o interceptores en las plagas y patógenos y atraer enemigos naturales, o proveer alimento para los enemigos naturales. Para propósitos de esta tesis el acompañamiento de plantas será la utilización de una o más plantas junto con el cultivo principal con el objetivo de lograr un efecto beneficioso en el desarrollo, en el control de plagas y enfermedades, y en el rendimiento, del cultivo principal o de ambos (el cultivo principal y la planta acompañante). Este efecto obtenido es un efecto sinérgico, ya que se obtiene un efecto positivo mayor con la unión de dos o más componentes que el efecto individual.

Cuando se utilizan plantas acompañantes con el propósito de reducir densidades poblacionales de plagas, se pretende lograr un efecto que ocurre en un ecosistema natural que posee una comunidad diversificada de plantas. La mayoría de las plantas cultivadas son derivadas de plantas silvestres que generalmente no son fácilmente visibles a herbívoros en una comunidad diversificada de plantas (Feeny, 1976). Además de una reducción en la visibilidad de la planta huésped, existen otros mecanismos por los cuales las plantas acompañantes reducen las densidades poblacionales de plagas, los cuales serán descritos más adelante. Por otro lado, la alta vulnerabilidad de los agro-sistemas intensivos modernos al daño por plagas y enfermedades es atribuido a la sobre-simplificación de los sistemas (Tilman et al., 2002).

La agricultura convencional se caracteriza precisamente por sistemas de siembra sobre-simplificados, o sea, monocultivos. Y a pesar de que la diversidad vegetal ha sido sugerida por décadas como estrategia para la protección de cultivos contra insectos (Banks y Ekbom, 1999), continúa siendo anómala en la agricultura comercial. El sistema de monocultivo sigue

prevaleciendo en las siembras comerciales mayormente porque facilita prácticas de manejo como aspersiones, cosechas y otras. Otra de las razones por la cual los agricultores no adoptan la diversidad como control, es por la necesidad de una indicación de la predictibilidad y confiabilidad de cualquier prescripción para la reducción del daño por insecto en los sistemas agrícolas (Banks y Ekbohm, 1999).

El diseño y la planificación del sistema agrícola es una medida que contribuye a reducir el uso exclusivo de plaguicidas y sus efectos adversos. Entre estas prácticas que conllevan la diversificación y organización de plantas en el sistema agrícola se encuentran la rotación de cultivos, utilización de cultivos trampa, intercalación de cultivos, utilización de cultivos barrera, entre otras.

1. Medios de reducción de insectos fitófagos

La diversificación del componente vegetal en el sistema agrícola, o el uso de plantas acompañantes, logra reducir las poblaciones de insectos plagas en el cultivo principal por diversos medios. Estos medios envuelven una diversidad de estrategias de defensa, químicas y físicas, que han desarrollado las plantas en su evolución para defenderse contra el ataque de organismos antagonistas (Roades, 1983). A su vez envuelven la selección y arreglo en el espacio, por parte del ser humano, de plantas con características deseadas que evitarán y/o retrasarán la llegada, y la proliferación de las plagas, en el cultivo principal. A continuación, se describen diez medios de reducción de insectos a través del uso de plantas acompañantes (También ver Tabla 1). Estos se dividen en dos grupos, según el rango de acción: 1-medios de largo rango (actúan a distancia) y 2-medios de corto rango (actúan una vez el insecto ha llegado al cultivo). Los medios o estímulos de largo rango sirven para afectar el reconocimiento del huésped (Zhang et al., 2013). Los estímulos

Tabla 1. Medios de acción de plantas acompañantes

Larga distancia	<i>Señales visuales</i>	Camuflaje por color (usualmente verde) y mayor altura de plantas de fondo
	<i>Volátiles repelentes</i>	Repelencia impartida por químicos
	<i>Volátiles no-atrayentes</i>	Desproporción de volátiles del huésped
	<i>Plantas trampas</i>	Estimulación visual y olfatoria
	<i>Volátiles inducidos por herbívoros</i>	Defensa indirecta por señal a parasitoides y depredadores
Corta distancia	<i>Tiempo de permanencia</i>	Movimiento y emigración más rápida
	<i>Barrera física</i>	Intercepta y limita la inmigración
	<i>Depredadores y parasitoides</i>	Atracción y abundancia de enemigos naturales
	<i>Plantas trampas</i>	Estimulación de gusto y ovoposición
	<i>Resistencia fisiológica</i>	Mejoramiento en la nutrición y absorción de agua
	<i>“Push-pull”</i>	Estimulación negativa cercana al cultivo principal sumada de estimulación positiva fuera del cultivo principal

de corto rango son usados para interferir con la alimentación y la oviposición de la plaga de interés o el desarrollo de la descendencia luego de la aceptación del huésped (Zhang et al., 2013).

a. Larga distancia

(1) Señales visuales

Las señales visuales podrían definirse como estímulos visuales que inducen a los insectos a posarse en las plantas (Finch y Collier, 2000). Hay dos tipos de estímulos visuales que inducen a los insectos a aterrizar en las plantas: el primero es el color de la planta, que en muchos casos significa verde, y el segundo es una respuesta optométrica en la cual el aterrizaje es provocado por plantas que sobresalen a través del camino del insecto en vuelo (Finch y Collier, 2000). Cualquier cosa que compita con este estímulo, tal como otras plantas verdes, o un alza en la altura del fondo general con yerbajo, ayuda a camuflajear visualmente las plantas huéspedes (Banks y Ekbom, 1999). Esta interferencia visual causa una reducción en la razón de inmigración del insecto al área de cultivo.

(2) Volátiles repelentes (Para más detalles refiérase a III.B.1.c Recepción química y procesamiento de volátiles)

Utilizando plantas no-huéspedes que emiten olores que repelen al herbívoro, es decir, volátiles repelentes, se pueden alejar a las plagas de un área determinada. Estas plantas se pueden denominar como plantas repelentes. Parolin et al. (2012) definen una planta repelente como un cultivo intercalado que repele plagas y/o patógenos a través de los químicos emitidos por ésta. El arreglo en el espacio puede variar (intercaladas, cultivos de borde, etc.) de acuerdo con el efecto deseado. El mecanismo de repelencia está asociado a un cambio en la proporción apropiada de los olores de la planta huésped (Ratnadass et al., 2012).

No todas las plagas reaccionan de la misma manera a las plantas repelentes; lo que puede ser muy efectivo para una plaga no es necesariamente efectivo para otra plaga (Parolin et al., 2012). Finch y Collier (2000) exponen que las plantas tienen que ser probadas en pequeños espacios confinados en el laboratorio para mostrar que son en realidad capaces de repeler insectos plagas.

(3) Volátiles no-atrayentes (Para más detalles refiérase a III.B.1.c

Recepción química y procesamiento de volátiles)

Cuando volátiles no-atrayentes, derivados de plantas, son detectados por los insectos éstos interpretan que hay huéspedes no-aptos y responden con un comportamiento de rechazo de los huéspedes no-aptos (Khan et al., 2010). Hay quienes describen este efecto como un enmascaramiento de los olores de la planta huésped. Parolin et al. (2012) mencionan que aun cuando estas plantas no son repelentes, pueden reducir la ocurrencia de herbívoros a causa de un enmascaramiento de volátiles. La habilidad para encontrar el huésped se perturba, afectando su orientación debido a que los olores de la planta huésped no son presentados en la proporción adecuada (Zhang et al., 2013). A su vez, esta interferencia química causa una reducción en la razón de inmigración del insecto al área de cultivo (Banks y Ekbom, 1999).

(4) Señales visuales, volátiles y compuestos atrayentes (plantas trampas)

Las plantas trampas se pueden definir como plantas que, per se o vía la manipulación, atraen, disuaden, interceptan y/o retienen insectos de interés o los patógenos de los cuales éstos son vectores para reducir el daño al cultivo principal (Ratnadass et al., 2012). Estas contienen estimulantes gustatorios y ovipositorios, y liberan semioquímicos atrayentes, hacia la plaga de interés (Zhang et al., 2013). El mecanismo consiste en hacer de las plantas trampas más atractivas

y más fáciles de encontrar que el cultivo principal (Banks y Ekbom, 1999). Esto resultará en una alta razón de inmigración hacia el área de las plantas trampa, atrayendo los herbívoros fuera del cultivo principal (Banks y Ekbom, 1999). Esto muchas veces se logra colocando plantas repelentes intercaladas con el cultivo principal y las plantas trampas rodeando el cultivo principal, lo cual se conoce como mecanismo “push-pull” (Zhang et al., 2013) (Ver sección III.A.2.e. Estrategia “push-pull”).

Una vez los insectos plaga son limitados a cierta área, a través de las plantas trampas, éstos pueden ser controlados por diversos métodos: inundando las plantas masivamente con enemigos naturales, eliminándolas cuando están muy contaminadas o aplicándoles plaguicidas apropiados (Parolin et al., 2012). El objetivo es evitar que las plantas trampas se conviertan en un sistema de dispersión de plagas hacia el cultivo principal.

(5) Volátiles inducidos por herbívoros (Para más detalles refiérase a sección III.B.1.b.(2) Variación de volátiles-Volátiles inducidos por herbívoros)

Cuando las plantas son atacadas por herbívoros pueden liberar volátiles que le brindan una señal a los parasitoides y depredadores de tal herbívoro; señal que les permite localizar su huésped o presa. Estos volátiles inducidos por herbívoros también pueden actuar en plantas vecinas induciendo respuestas de defensa en éstas (Pare y Tumlinson, 1999). Plantas que sean huéspedes alternas del insecto fitófago pudieran liberar estas señales, o “grito de ayuda”, que permita el ataque al insecto herbívoro previo a que llegue al cultivo principal, si son atacadas previamente (por ejemplo, un borde de una planta huésped alterna que rodea una siembra del cultivo tiene una mayor probabilidad de ser atacado por el insecto fitófago previo a la siembra principal).

b. Corta distancia

(1) Tiempo de permanencia

La diversidad vegetal tiene un efecto en el movimiento local de las plagas una vez éstas están en la vegetación de su huésped (Banks y Ekbom, 1999). Se dice que los insectos fitófagos son más propensos a mantenerse en plantas huéspedes creciendo densamente ya que una segunda especie de planta interrumpe la habilidad de los insectos de atacar eficientemente su huésped de interés (Ratnadass et al., 2012). Los insectos en un esquema diversificado son propensos a moverse rápido a través de la vegetación y emigrar más rápido del sistema (Banks y Ekbom, 1999). El tiempo de permanencia de los insectos en las plantas no-huéspedes es mucho menor que el tiempo de permanencia en las plantas huéspedes. Esto representa un movimiento fuera del área del cultivo huésped, cuando hay plantas no-huéspedes, luego del insecto haber llegado (Banks y Ekbom, 1999). A su vez, este mecanismo se aplica en las plantas trampas. La plaga será menos propensa a abandonar las plantas trampas para ir al cultivo principal. El tiempo de permanencia incrementa, y la razón de movimiento decrece, en los cultivos trampa, resultando en menores densidades de plaga en el cultivo principal (Banks y Ekbom, 1999).

(2) Barrera física

Una planta barrera es una planta que es usada entre, o bordeando, un cultivo principal con el propósito de suprimir y/o interceptar las plagas y/o patógenos (Parolin et al., 2012). Estas son plantas no-huéspedes, usualmente de mayor altura, por medio de las cuales las plantas huéspedes son escondidas físicamente. Estas plantas, de mayor altura, forman una barrera física que obstruye el movimiento del insecto al sistema de cultivo principal y entre este sistema (Finch y Collier, 2000). Esto sucede especialmente si los insectos son transportados pasivamente por el viento o si tienen una altura de vuelo bien limitada. Plantas altas, principalmente de la familia Gramineae,

han sido estudiadas como cultivos barrera (Ratnadass et al., 2012). En Puerto Rico plantas gramíneas y musáceas han sido utilizadas como cultivos barrera en la Estación Experimental Agrícola de Isabela (comunicación personal con el Dr. Bryan Brunner); además, el vetiver (*Chrysopogon zizanioides* L.) se ha usado como barrera para cortaviento y para insectos voladores en la Finca Gargiulo en Santa Isabel.

(3) Aumento de depredadores y parasitoides

Una mayor abundancia de enemigos naturales en los sistemas diversos aumenta las tasas de depredación y parasitismo e incrementa la mortalidad de los insectos plagas (Banks y Ekbom, 1999). Finch y Collier (2000) exponen que los depredadores y los parasitoides son más efectivos en ambientes complejos: Los insectos fitófagos son controlados tempranamente por los altos números de enemigos que son apoyados por los recursos diversos disponibles en ambientes complejos. Existen dos grupos de plantas que proveen recursos y/o hábitat para los enemigos naturales de insectos plagas: plantas insectario y plantas banco. Una planta insectario es una planta de flores que atrae y posiblemente mantiene, con su néctar y polen, una población de enemigos naturales que contribuye al control biológico de plagas en los cultivos (Parolin et al., 2012). Estas plantas son introducidas en los sistemas agrícolas para incrementar la cantidad de néctar y polen requerida por algunos enemigos naturales (Bugg, 1990 y Bugg y Waddington, 1994, citados en Parolin et al., 2012). Estas atraen insectos beneficiosos, como avispas parasíticas y moscas depredadoras, con flores con polen y néctar accesibles, que de otra forma no estarían disponibles en un monocultivo (Landis et al., 2000; Vattala et al., 2006; Nafziger y Fadamiro, 2011, citados en Parolin et al., 2012). La mera presencia de plantas florales en un agro-ecosistema no es suficiente para garantizar la eficiencia de las plantas insectarios. Es importante estudiar previamente si la planta floral es usada por el insecto de interés. Las plantas banco están asociadas

con el control biológico clásico. El propósito de una planta banco es incrementar el establecimiento de enemigos naturales (Osborne et al., 2005, Sanderson y Nyrop, 2008, Frank 2010, Huang et al., 2011, citados en Parolin et al., 2012). Esta puede alimentar y atraer enemigos naturales, y entonces incrementar la probabilidad de que estos organismos estén presentes en el cultivo principal (Parolin et al., 2012). La meta de una planta banco es el mantener una población en reproducción que proveerá la supresión de la plaga, a largo plazo, en el cultivo principal (Frank, 2010). Los agentes de control biológico son liberados en las plantas bancos para reproducirse y luego esparcirse (Parolin et al., 2012).

Por otro lado, los pájaros insectívoros juegan un papel importante en la depredación de insectos plagas. Su depredación puede ser mejorada por añadir especies de plantas, en cultivos intercalados, como sustratos para posarse (Ratnadass et al., 2012).

(4) Resistencia fisiológica del cultivo

Mediante la rotación de cultivos o cultivos intercalados se contribuye a una mejor y más balanceada fertilidad del suelo y una mejor nutrición del cultivo gracias a minerales derivados de la descomposición de la materia orgánica. Esto tiene un efecto positivo en la resistencia del cultivo a plagas y enfermedades (Ratnadass et al., 2012). A su vez, una mejor absorción de agua gracias a la reducción de evaporación por plantas cobertoras puede también ayudar a los cultivos a sobrepasar ataques de patógenos y plagas (Ratnadass et al., 2012). Por otro lado, Finch y Collier (2000) exponen que las plantas adyacentes al cultivo principal pueden alterar la fisiología de la planta huésped, mediante la absorción de sus químicos, y hacerlas menos atractivas a los insectos.

(5) Estrategia ‘rechazo-atracción’ (“push-pull”)

La estrategia conocida como ‘rechazo-atracción’ es una estrategia, descubierta y explotada en África, en la que se utiliza una combinación de estímulos modificadores de comportamiento

del insecto, para manipular la distribución y abundancia de la plaga y/o insectos beneficiosos (Zhang et al., 2013). Esta estrategia involucra diversos mecanismos de manipulación por medio de los cuales las plagas son simultáneamente repelidas fuera del cultivo principal ('rechazo') y atraídas hacia determinadas áreas ('atracción') (Zhang et al., 2013). La función del componente 'repele' es la de hacer el recurso protegido inadecuado para la plaga y su descendencia por la influencia de estímulos negativos en la localización del huésped, alimentación u oviposición (Zhang et al., 2013). Estos estímulos pueden ser volátiles repelentes, volátiles no atrayentes, anti-alimentadores, disuasivos de oviposición, entre otros. En el componente 'atrae' estímulos de largo rango (señales visuales, volátiles, feromonas de insectos, entre otros) son usados para desviar las plagas del recurso protegido hacia trampas o plantas trampas (Zhang et al., 2013). Se entiende que el tener dos componentes para la reducción de la plaga implica un mayor efecto derivado de la suma de los efectos de los dos componentes. No obstante, esta estrategia requiere conocimiento de plantas y/o mecanismos específicos para lograr tener ambos componentes, 'rechazo' y 'atracción', para la plaga de interés.

2. Volátiles y químicos de contacto: recepción química y procesamiento por parte del insecto

a. Volátiles de las plantas

(1) Volátiles base

Las plantas naturalmente liberan químicos al ambiente que les rodea, lo que las caracteriza por un olor o esencia particular. Además del dióxido de carbono, oxígeno, vapor de agua y la hormona gaseosa etileno, las plantas emiten una variedad de otros compuestos orgánicos. (Unisicker et al., 2009). Estos compuestos químicos o metabolitos liberados se conocen como volátiles. Los volátiles de las plantas son mezclas complejas, que frecuentemente comprenden cientos de compuestos. Estos son liberados no solo de los órganos florales, pero también de las

partes vegetales (Unisicker, et al., 2009). Una planta sin daño mantiene un nivel base de metabolitos volátiles que son liberados de la superficie de la hoja y/o de sitios de almacenamiento acumulados en la hoja. Pare y Tumlinson (1997) mencionan que estas reservas de químicos constituyentes a menudo incluyen monoterpenos, sesquiterpenos y aromáticos, acumulados a altos niveles en glándulas especializadas o tricomas. Los volátiles de las plantas juegan un importante rol en su comunicación interespecifica e intraespecifica. Un proceso favorable, la polinización, es favorecida por los volátiles base de las plantas; ha sido demostrado que la atracción de insectos polinizadores hacia distintas flores puede ser significativamente determinada por sus volátiles en ausencia de estímulos visuales (Larue-Kontić et al., 2016). Otro proceso favorable en el que intervienen los volátiles es la defensa indirecta; en este caso los volátiles liberados son mezclas especiales en respuesta a un ataque (Ver sección tal III.B.1.b.(1) Volátiles inducidos por herbívoros). Pero a través de los volátiles de las plantas también se pueden obtener efectos desfavorables como la atracción de insectos fitófagos. Los volátiles base de plantas son usados por los insectos en su búsqueda de plantas huéspedes para alimentarse u ovipositar. Estos químicos de señales, semioquímicos, con los que el receptor es beneficiado pero el emisor es desventajado se les denomina kairomonas (Rossini y González, 2010). Los volátiles base de plantas pueden funcionar también como semioquímicos que causan un efecto repelente o un efecto no-atrayente a los insectos fitófagos. Este es el caso de las plantas con volátiles repelentes. Estos semioquímicos que son beneficiosos al emisor, pero perjudiciales al receptor se les denomina alomonas (Rossini y González, 2010).

(2) Variaciones de los volátiles

(a) Volátiles de hojas verdes

En ocasiones donde la planta debe responder a condiciones de estrés o reparar daño mecánico, la emisión de volátiles de las plantas varía. Es entonces donde entran en juego los conocidos volátiles de hojas verdes. Matsui (2006) expone que éstos son compuestos producidos cuando las hojas son dañadas mecánicamente o sufren de estrés biótico o abiótico. Condiciones de estrés que provocan la formación y emisión de volátiles de hojas verdes incluyen exposición a ozono, a altas temperaturas o a luz; estas respuestas han sido estudiadas en plantas de tabaco y hojas de caña (Arimura et al., 2009). Los volátiles de hojas verdes están compuestos por una mezcla de alcoholes de seis carbonos, aldehídos y ésteres (Pare y Tumlinson, 1999). Parece ser que las plantas con daño mecánico (que por consecuencia liberan volátiles de hojas verdes) resultan más atractivas para sus insectos huéspedes que las plantas sin daño mecánico. Este fue el resultado encontrado por Vantol et al. (2002) cuando compararon la preferencia de *Otiorhynchus sulcatus* (gorgojo de la vid, gorgojo de los invernaderos o “vine weevil”) por olores de cortes de ramas de *Euonymus furtunei* sin daño, dañadas por alimentación del gorgojo de la vid y dañadas mecánicamente. Cuando los gorgojos de la vid tenían que escoger entre los olores de cortes de ramas de *Euonymus* con daño mecánico y de cortes sin daño, hubo una elección significativamente mayor por los olores de cortes con daño mecánico. De igual forma hubo una preferencia mayor por los olores de cortes con daño por herbívoro sobre cortes sin daño. Pero no hubo diferencia significativa en elección por olores de cortes de ramas de *Euonymus* con daño mecánico y los olores de cortes con daño por herbívoro. Lo que indica que ambos, volátiles de hojas verdes y volátiles inducidos por herbívoros, sirvieron como atrayentes.

(b) Volátiles inducidos por herbívoros

En el caso de la defensa de daño por insectos fitófagos, las plantas pueden defenderse indirectamente por medio de la liberación de volátiles semioquímicos que le permiten a los parasitoides y depredadores del insecto distinguir entre plantas infestadas y no-infestadas, y esto les ayuda a localizar el huésped o presa. Estos semioquímicos se conocen como volátiles inducidos por herbívoros. Estos volátiles pueden ser emitidos tanto en el lugar de daño o sistemáticamente de partes no-dañadas de las plantas afectadas (Dicke y Baldwin, 2010). Y también pueden actuar en plantas vecinas induciendo respuestas de defensa en éstas (Pare y Tumlinson, 1999). La identidad química de estos volátiles varía según la especie de la planta y la especie de los insectos herbívoros (Pare y Tumlinson, 1999). En forma general comprenden terpenoides, derivados de una unidad de cinco carbonos (isopreno) (Arimura et al., 2009). Además de los compuestos terpenoides los volátiles inducidos por herbívoros incluyen los compuestos volátiles de hojas verdes. (Arimura et al., 2009) Entonces los volátiles inducidos por herbívoros contienen mezclas más complejas de volátiles ya que también contienen los compuestos terpenoides que no son producidos por plantas intactas ni por plantas dañadas mecánicamente. En términos de tiempo, la producción ‘de novo’ de los terpenoides de volátiles inducidos por herbívoros toma al menos unas horas (Arimura et al., 2009). En contraste, los volátiles de hojas verdes comienzan a liberarse mucho más rápido (en segundos) de los tejidos de hojas y tallos, luego del daño por herbívoro (Arimura et al., 2009).

(b.1) Costo de producción de volátiles inducidos por herbívoros

La producción y liberación de volátiles en las plantas conlleva un costo de energía y nutrientes. Por ejemplo, Gershenzon (1994) expone que los terpenoides son más costosos por gramo para manufacturar que la mayoría de otros metabolitos primarios y secundarios (citado en

Pare y Tumlinson, 1999). La producción de estos compuestos de defensa beneficia a las plantas solo en condiciones de daño por herbívoros. Invertir en defensas cuando no son atacadas no es costo-efectivo. Gershenson (1994) expone que esta energía y nutrientes pudieran ser utilizados para el crecimiento y reproducción. Es por esto que, eficientemente, las plantas liberan estos volátiles solo cuando son atacadas por herbívoros. Entonces, el utilizar otros medios para la reducción del ataque por herbívoros contribuye a que la planta pueda usar de forma más eficiente su energía y nutrientes.

(3) Recepción química y procesamiento de volátiles

El camino de procesamiento de los olores (volátiles) comienza en los sensores olfatorios (Figura 1); éstos son órganos sensoriales sobresalientes en la cutícula que alojan neuronas receptoras de olor (NRO). Los sensores olfatorios se encuentran en su mayoría en las antenas, pero también se pueden localizar en los palpos maxilares y/o labiales (Rifell y Hidebrand, 2016).

Velázquez (2011) estudió la antena y los sensores olfatorios del *A. eugenii* por medio de microscopía electrónica de barrido. La antena del *A. eugenii* consiste en un largo escapo, un pedicelo y un flagelo con nueve segmentos, los últimos tres fusionados formando una clava (a veces llamado segmento 7) (Velázquez, 2011). La mayoría de los sensores olfatorios de *A. eugenii* se presentan en el flagelo de la antena, especialmente en la clava (Velázquez, 2011). En la parte distal del segmento 7 y 8 los sensores olfatorios están distribuidos en dos bandas claras y el segmento 9 está totalmente cubierto de sensores (Velázquez, 2011).

Los olores penetran el sensor olfatorio de los insectos a través de poros e interactúan con los receptores de olor (RO). Los RO se encuentran en la membrana del extremo final de las dendritas de las NRO. Los olores pueden interactuar con los RO por medio de ligandos; un ligando de un olor específico puede activar múltiples RO y cada RO puede ser activado por múltiples

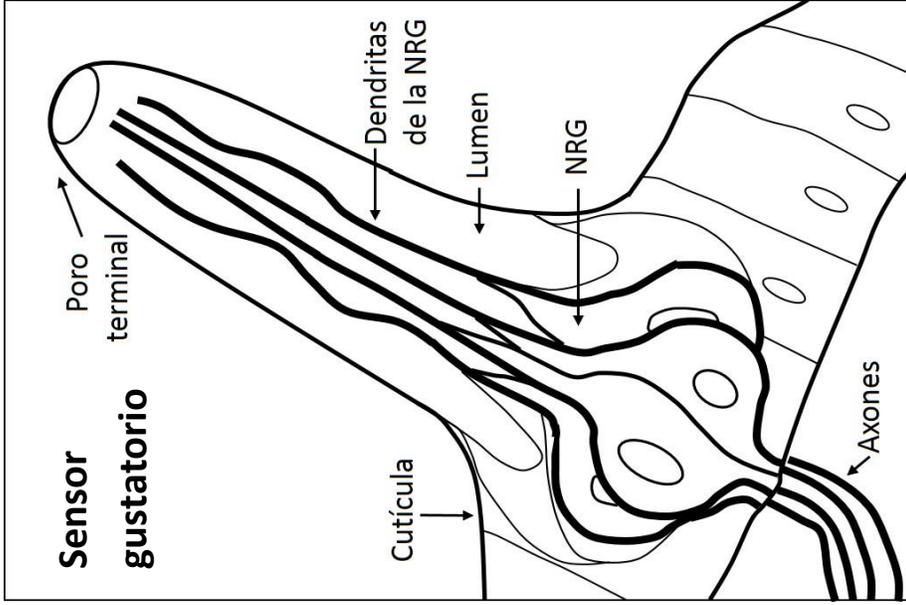


Figura 2. Sensor gustatorio del insecto.

(imagen adaptada de Sparks et al., 2015)

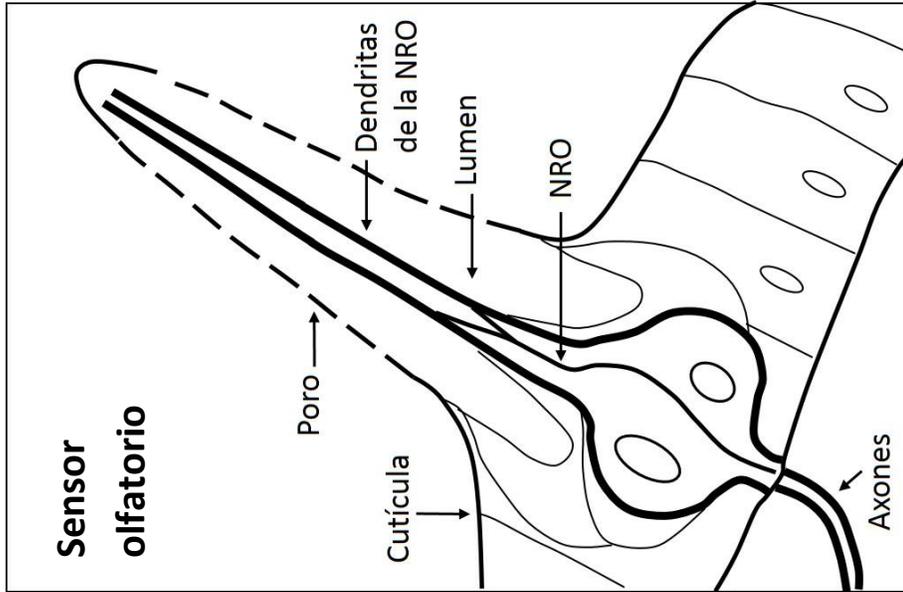


Figura 1. Sensor olfatorio del insecto.

(imagen adaptada de Sparks et al., 2015)

ligandos (codificación combinatoria) (Andersson et al., 2015). En el caso de olores ecológicamente relevantes los RO son altamente específicos (activación especializada) (Andersson et al., 2015). Una interpretación visual de esta información de los químicos volátiles y receptores se concretó en la Figura 3. Bruyne et al. (2001) exponen que cada NRO tiene una afinación quimiosensorial distinta que depende del RO que expresa. Cuando varias NRO se encienden simultáneamente permiten a los insectos reconocer combinaciones específicas de volátiles como provenientes de una fuente diferente que otra combinación de volátiles (Bruce y Pickett, 2011). Se sabe que esta información olfatoria codificada puede variar a causa de interacciones entre los RO y a causa de interacciones entre las NRO en la misma sensila (Rifell y Hidebrand, 2016). Esta variación puede significar que una NRO activada puede inhibir a una NRO vecina (Rifell y Hidebrand, 2016).

A consecuencia de la integración en el SNC de los olores (volátiles) el insecto tendrá una respuesta en comportamiento. En la búsqueda de huésped el insecto debe reconocer una mezcla de volátiles característica de su huésped (estas tendrán la función de kairomonas). Un solo volátil que pertenezca a la planta huésped no causará un efecto de atracción. Y dentro de un conjunto de volátiles que en su mayoría pertenece a la planta huésped, si se añade un compuesto no asociado a la planta huésped, pudiera causar un efecto de evitación. En base a resultados de diversos estudios, los volátiles detectados por el insecto individualmente, no en el contexto de la mezcla de volátiles, son percibidos como señales de no-huésped pero cuando son unidos en una mezcla si son percibidos como un estímulo de huésped atractivo (Bruce y Pickett, 2011). En un ejemplo de estos estudios, quince volátiles del haba, *Vicia faba* L., que Webster et al. (2008) previamente habían demostrado que eran atractivos al áfido *Aphis fabae* Scop. cuando se encontraban en conjunto, fueron estudiados individualmente encontrando que diez de los volátiles causaron una

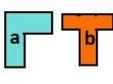
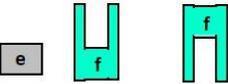
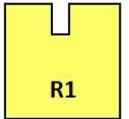
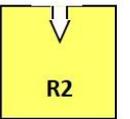
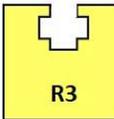
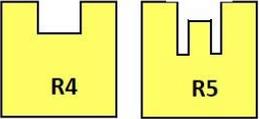
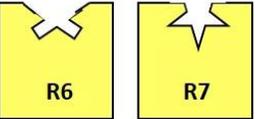
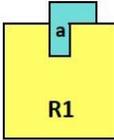
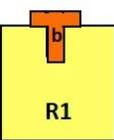
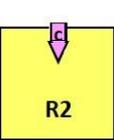
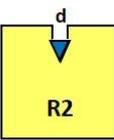
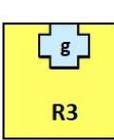
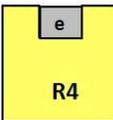
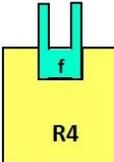
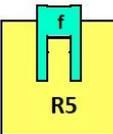
	VA / A	AA	AER	VNA / S	VR / C2
químicos					
receptores					
recepción química positiva					
ESP					
recepción química negativa					
ESN					

Figura 3. Químicos, receptores y estimulación sensorial. Los químicos a-i representan un grupo de químicos volátiles (en complejo volátil-ligando) o de químicos de contacto que el insecto puede receptor. En el caso de los químicos volátiles **a**, **b**, **c** y **d** representan volátiles atrayentes (VA), **g** un volátil atractivo ecológicamente relevante (AER), **e** y **f** volátiles no-atrayentes, **h** e **i** volátiles repelentes (VR). En el caso de los químicos de contacto **a** y **b** representan azúcares (A), **c** y **d** representan amino ácidos (AA), **g** un azúcar, amino ácido u otro químico de contacto atractivo ecológicamente relevante (AER), **e** y **f** sales, **h** e **i** compuestos secundarios de plantas (C2). R1-R7 representan tanto los receptores de volátiles como receptores de químicos de contacto que pueden receptor los químicos a-i. Cuando los químicos a, b, c, d, g son receptados, su procesamiento en las neuronas y sistema nervioso central resulta en un estímulo sensorial positivo (ESP). Y cuando los químicos e, f, h, i son receptados, su procesamiento resulta en un estímulo sensorial negativo (ESN). Para propósitos de facilitar la representación de los distintos estímulos, las estimulaciones positivas y negativas se dividieron en 3 intensidades cada una (+0.33, +0.66, +1.00 y -0.33, -0.66, -1.00 respectivamente).

respuesta negativa en los insectos, sugiriendo que son repelentes (Bruce y Pickett, 2011). Pero cuando Webster et al. (2010) utilizaron una mezcla de estos volátiles hubo un efecto de atracción.

Entonces, ciertas combinaciones de volátiles son reconocidas como proveniente de una planta huésped apta y otras combinaciones de volátiles son reconocidas como provenientes de una planta no-huésped o una planta huésped no-apta. Bruce y Pickett (2011) mencionan que un ejemplo de huéspedes no-aptos nutricionalmente son aquellos previamente infestados con insectos. Como medio para interpretar y visualizar compilar la información sobre este mecanismo, dadas unas mezclas hipotéticas de volátiles o de químicos de contacto (Figura 4) se establecieron supuestas estimulaciones finales del insecto (Figura 5).

b. Químicos de contacto

(1) Recepción química y procesamiento de químicos de contacto

Una vez un insecto es atraído por una mezcla de volátiles reconocida como proveniente de una planta huésped apta vuela para hacer contacto con una posible planta huésped. Los insectos pueden percibir los nutrientes esenciales para su desarrollo, sobrevivencia y reproducción: carbohidratos (fuente de energía), aminoácidos (para la formación de proteínas), sales inorgánicas y agua (Chapman, 2008) a través de sensores gustatorios (Figura 2). Debido a que sensores de igual forma y procesamiento de químicos están asociados a otras funciones más allá de la alimentación y a que pueden detectar los compuestos tanto en solución como en superficies secas se prefiere usar el término quimiorrecepción de contacto sobre gusto (Chapman, 2003; Bernays y Chapman, 2017a). Otras funciones de tales sensores son detectar materiales tóxicos, identificar una pareja sexual, y seleccionar lugares de oviposición apropiados (Iacovone et al., 2016; Städler, 1984; Chapman, 2008). Los sensores asociados a la quimiorrecepción generalmente tienen forma de pelos o conos y tienen un solo poro en la punta (Chapman, 2008), mientras que los sensores

Mezcla	Químicos receptados
#1	
#2	
#3	
#4	
#5	

Figura 4. Mezclas de químicos receptados. Se presentan 5 distintas mezclas de químicos volátiles o químicos de contacto que el insecto percibirá en su búsqueda de huésped. En el caso de volátiles la mezcla #1 consiste de 3 volátiles atrayentes (a, b, c) y 1 volátil atrayente ecológicamente relevante (g); la mezcla #2 consiste de 2 volátiles atrayentes (a, c) y 1 volátil no-atrayente (e); la mezcla #3 consiste de 1 volátil atrayente (c) y 2 volátiles no-atrayentes (e, f); la mezcla #4 consiste de 2 volátiles no-atrayentes (e, f) y 1 volátil repelente (h); la mezcla #5 consiste de 2 volátiles no atrayentes (e, f) y 2 volátiles repelentes (h, i). En el caso de químicos de contacto la mezcla #1 consiste de 2 azúcares (a, b), 1 aminoácido (d) y 1 químico de contacto atractivo ecológicamente relevante (g); la mezcla #2 consiste de 1 azúcar (a), 1 aminoácido (c) y 1 sal (e); la mezcla #3 consiste de 1 aminoácido (c) y 2 sales (e, f); la mezcla #4 consiste de 2 sales (e, f) y 1 compuesto secundario (h); la mezcla #5 consiste de 2 sales (e, f) y 2 compuestos secundarios (h, i). En la Fig.5 (Estimulación en la integración de químicos) se representan las sumas de estimulaciones percibidas por el insecto para cada mezcla y la estimulación final.

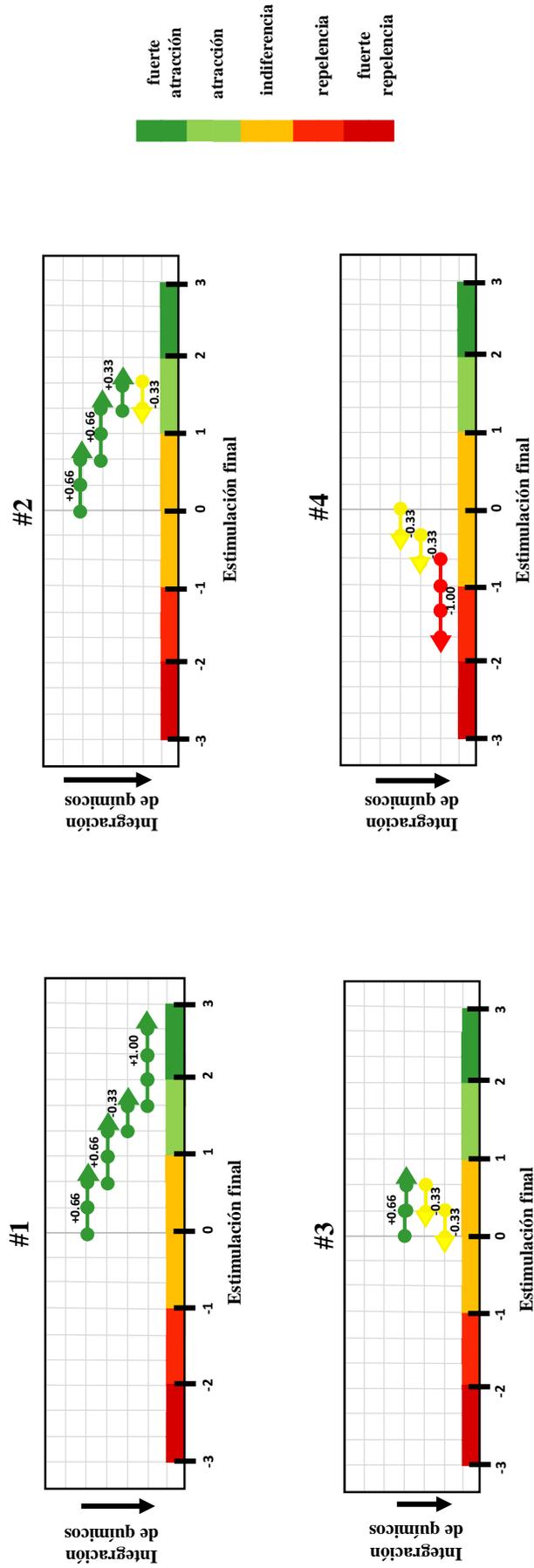


Figura 5. Estimulación en la integración de químicos. Se representan las sumas de estimulaciones individuales y la estimulación final para 5 mezclas distintas de volátiles o químicos de contacto receptados (las mezclas de químicos se presentan en la Fig. 4 Mezclas de químicos receptados). En cada gráfica se parte desde el 0 (arriba) y se suman movimientos hacia la derecha o izquierda dependiendo la estimulación individual del químico (flecha). El resultado de la integración de todos los químicos (la suma de sus estimulaciones) resulta en un número que representa la estimulación final de la mezcla particular (abajo). La estimulación final puede ser fuerte repelencia (-3 a -2, rojo intenso), repelencia (-2 a -1, rojo) indiferencia (-1 a 1, amarillo), atracción (1 a 2, verde) o fuerte atracción (2 a 3, verde intenso). En la mezcla #1 la suma de las estimulaciones individuales (+0.66 +0.66 +0.66 +1.00) al integrar los químicos resulta en 2.66 (fuerte atracción); en la mezcla #2 la suma (+0.66 +0.66 +0.33 -0.33) resulta en 1.33 (atracción); en la mezcla #3 la suma (+0.66 -0.33 -0.33) resulta en 0 (indiferencia); en la mezcla #4 la suma (-0.33 -0.33 -1.00) resulta en -1.66 (repelencia); en la mezcla #5 la suma (-0.33 -0.33 -1.00) resulta en -1.66 (fuerte repelencia).

olfatorios tienen múltiples poros. Mayormente se presentan en el aparato bucal, pero también se presentan en la antena y en el tarsi (Chapman, 2003); y en algunas especies en el ovipositor (Chapman, 2008).

Los químicos estimulantes entran por el sensor que se encuentra en el poro terminal y llegan al fluido linfático alrededor de las dendritas para entonces interactuar con la neurona receptora de gusto (NRG) (Chapman, 2003). Se entiende que hay dos formas de entrada, una para los químicos en superficie seca y otra para los químicos en solución. Cuando un insecto fitófago hace contacto inicial con una hoja es capaz de percibir los químicos en la superficie seca (Chapman 2003). Los sensilas en los palpos maxilares y labiales a menudo contactan la comida antes de que el insecto la mastique (Chapman, 2003). Estos químicos probablemente son transportados por proteínas cargadoras localizadas en el poro (Bernays y Chapman, 2017a). Una vez el insecto se alimenta, los sensores quedan bañados en el fluido liberado por el alimento (Chapman, 2003), siendo este mismo fluido el medio de entrada a la solución linfática. Es común que cuatro NRG estén asociadas a cada sensor; estas NRG tienen axones que se extienden al sistema nervioso central (Bernays y Chapman, 2017a). Cada una de estas NRG responde a un rango diferente de químicos (Chapman, 2008); hay NRG fagoestimulantes y NRG repelentes según la clase de químicos a los que responden. Aparentemente el proceso de receptar los químicos que se encuentran en el fluido linfático es facilitado por moléculas receptoras de gusto (RG) en la membrana celular de las dendritas, encargadas de responder a uno o varios químicos de estructura similar (Chapman, 2008).

En la mayoría de las especies fitófagas las NRG en los sensores responden a carbohidratos, aminoácidos, sales, y a un rango de compuestos producidos por las plantas que generalmente inhiben la alimentación (Bernays y Chapman, 2017a). Hay NRG fagoestimulantes dedicadas a la recepción de carbohidratos y de amino ácidos en todos los insectos fitófagos (Chapman, 2003).

Las NRG que receptan sales a menudo se consideran disuasorias, pero pueden ser fagoestimulantes (Chapman, 2003). Los compuestos secundarios de las plantas generalmente reducen o inhiben la alimentación (Bernays y Chapman, 2017b) y a veces son tóxicos (Chapman, 2008); sus NRG son disuasorias, pero pueden ser fagoestimulantes si estos sirven de señal indicadora de huésped, o si estos son secuestrados para usarse para defensa o como precursores de hormonas (Chapman, 2003). Estos compuestos secundarios (alcaloides, terpenoides, glucosinolatos y otros) (Bernays y Chapman, 2017b) son producidos por las plantas fuera de los procesos metabólicos primarios (Chapman, 2008) (Para una interpretación visual de los químicos de contacto y receptores ver Figura 3).

Una vez los compuestos son receptados por las NRG fagoestimulantes y disuasorias, estas se estimularán según el grado de sensibilidad a los compuestos receptados. Si un insecto consume, o no, una planta dependerá del balance entre la información recibida de NRG fagoestimulantes que indican la presencia de nutrientes y de NRG disuasorio que indican la presencia de compuestos secundarios (Chapman, 2003; Chapman, 2008). Por ejemplo, Chapman (2003) describe que en *B. mori* las plantas no-huéspedes estimulan una NRG repelente, mientras que su planta huésped, mora, no. Son los estímulos de las NRG repelentes los que previenen que el insecto se alimente de la mayoría de las especies de plantas y la ausencia de estímulos en las NRG repelentes (cuando prueba mora) lo que permite que se alimente de su planta huésped (Hirao y Arai, 1991, citados en Chapman 2003). Otro ejemplo con la planta *Melia toosendan*, que posee el triterpenoide toosendanin; este compuesto estimula una NRG disuasoria e inhibe la alimentación en la oruga de *P. brassicae* (Luo Lin-er y Schoonhoven, 1995, citados en Chapman 2003). Aumentar la concentración de toosendanin mientras mantienes la concentración de sacarosa constante causa una reducción en la acción de la NRG fagoestimulante (Chapman, 2003). De forma inversa, el

efecto de un compuesto repelente puede ser inhibido por el efecto de uno fagoestimulante. Sinigrin estimula una NRG disuasoria en diversas orugas (Bernays y Chapman, 2000; Shields y Mitchell, 1995a; Shields y Mitchell, 1995b); la actividad de estas NRG disuasorias se reduce en *M. configurata* y *T. ni* cuando hay altas concentraciones de sacarosa o inositol (Shields y Mitchell, 1995c). En la Figura 5 se puede observar diferentes estimulaciones finales del insecto dependiendo de la mezcla de volátiles/químicos de contacto receptados.

El tamaño de comida puede ser determinado por el nivel de excitación en el sistema nervioso central resultado de un estímulo neto en las NRG fagoestimulantes al inicio de la alimentación tal como sucede con *L. migratoria* (Simpson, 1995). Una alimentación sostenible en estos insectos en adición requiere estímulos sensoriales continuos (Chapman 1982). En el caso de la mosca de la col (*Delia radicum*) una cantidad de estímulos sensoriales es requerida para la aceptación de huésped. Finch y Collier (2000) muestran que la adición de trébol (*Trifolium* spp.) como cultivo acompañante al cultivo principal crea un efecto visual que influye en los aterrizajes que se realizan de una hoja a otra para así determinar si la planta es apta como huésped. Notamos que el aterrizar y contactar el cultivo acompañante puede resultar en un estímulo repelente que evita que el insecto permanezca y acepte su huésped.

3. Cultivos aromáticos: sus diversas propiedades

La clasificación de una planta como aromática, a modo de norma general, se basa en el sentido del olfato del humano. Básicamente éstas son plantas que se distinguen por tener un olor o aroma de fácil percepción, o sea, ciertos compuestos volátiles que se desplazan en el aire y son percibidos. Este aroma puede ser impartido por diversas partes de la planta; por dar algunos ejemplos: hojas de albahaca, semillas de anís, vainas de vainilla y corteza del árbol de canela. Debido a sus característicos aromas, las plantas aromáticas han sido usadas desde tiempos antiguos en la

perfumería. Siendo los antiguos egipcios reconocidos por el desarrollado de perfumes a base de plantas. Los compuestos que imparten aroma se pueden dividir según su volatilidad a temperatura ambiente, comenzando con las notas superiores, seguido de las intermedias y las bajas (en orden de mayor a menor volatilidad) (Mendez, 2014). Entre las notas superiores están los aromas cítricos como el del limón y la mandarina, que son los componentes más volátiles (Mendez, 2014). Son los primeros en percibirse por el sentido del olfato y generalmente desaparecen aproximadamente después de 20 minutos (Mendez, 2014). Las notas intermedias corresponden a los aromas de especias y semillas; entre ellas el eucalipto, el pino, el mentol, el romero y la salvia, los cuales se desarrollan durante las primeras horas (Mendez, 2014). Finalmente se emiten las notas bajas o de base que incluyen el almizcle, el cedro y el vetiver. Estas últimas perduran; en algunos casos todo el día (Mendez, 2014).

Además de la perfumería las plantas aromáticas han sido relacionadas desde tiempos antiguos con la medicina. Los libros iniciales del uso de las plantas medicinales y aromáticas son encontrados en varias partes del mundo, como el Medio Oriente, Grecia, China e India indicando que esas civilizaciones antiguas usaron plantas aromáticas y medicinales nativas para mejorar las vidas en sus propias maneras de forma separada antes de que las ideas fueran compartidas (Inoue et al., 2017). Entre estos libros se encuentran “Pen T’ Sao” escrito por el emperador Shen Nung para el 2500 a.c. con unas 365 medicinas a base de plantas (entre estas aromáticas como alcanfor, canela y otras) (Bottcher, 1965; Wiart, 2006, citados en Petrovska, 2012). También los libros sagrados de la India, Vedas, que mencionan numerosas especias (como nuez moscada, clavo y otras) (Tucakov, 1971) y el libro “De Materia Medica” escrito por Dioscorides para eso del 77 d.c.

con unas 657 medicinas a base de plantas (entre estas aromáticas como cilantrillo, perejil y otras) (Petrovska, 2012). Debido a que las plantas aromáticas usualmente tienen propiedades medicinales, en la literatura se les refiere bajo el término “plantas medicinales y aromáticas” (MAPs, siglas en inglés) que incluye plantas con una o ambas propiedades. Zheljzakov y Craker (2016) describen que la importancia de las plantas aromáticas y medicinales principalmente reside en que contienen metabolitos secundarios de las plantas (como aceites esenciales, alcaloides, glicósidos, saponinas, taninas, vitaminas y otros). Los metabolitos secundarios se diferencian de los metabolitos primarios de fotosíntesis y respiración (que están directamente involucrados en el crecimiento y desarrollo de las plantas) (Zheljzakov y Craker, 2016). En cambio, estos son producidos por procesos que no juegan una función directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero tienen funciones asociadas con el mecanismo de protección y defensa (Zheljzakov y Craker, 2016). Chapman (2003) expone que los insectos poseen neuronas capaces de percibir los compuestos secundarios de las plantas y comúnmente interpretarlos como un estímulo repelente. Entonces, se entiende que los insectos de forma general son capaces de percibir el aroma de las plantas aromáticas, aunque su percepción e interpretación será relativa a la especie y a sus hábitos alimenticios, ya que estos compuestos secundarios se interpretan como estímulos repelentes, pero en algunos casos son indicadores de su huésped o son secuestrados para usarse para defensa o como precursores de hormonas (Chapman, 2003).

Una gran cantidad de plantas aromáticas son usadas también en la condimentación de los alimentos ya que funcionan como tónicos para el sistema digestivo, modifican el apetito y pueden facilitar la absorción y la utilización de nutrientes (Zheljzakov y Craker, 2016). Éstas comúnmente

se conocen como hierbas aromáticas (cuando se usan las hojas o partes verdes) o especias (cuando se usan partes duras como semillas, corteza de árbol, o raíces). El sabor es una experiencia multimodal que incluye el olfato (Rusell et al., 2008). Se conoce que el sabor es percibido principalmente por receptores de aroma en la nariz y de gusto en la boca (Fisher y Scott, 1997). Los compuestos volátiles de la comida interactúan con los receptores en la cavidad nasal (Reineccius, 2005); el estímulo puede ser orthonasal (los compuestos volátiles entran directamente por la nariz cuando se huele el alimento), o retronasal (los compuestos volátiles entran por la cavidad oral cuando se come el alimento) (Reineccius, 2005). Este hecho hace de los compuestos volátiles de las hierbas aromáticas ideales para la aportación del sabor. En Puerto Rico plantas aromáticas como el culantro, orégano, cilantrillo, albahaca, cebollín y otras son de gran importancia para la confección del reconocido y tan usado sofrito puertorriqueño y son las responsables de aportar el sabor en las comidas típicas.

Como podemos apreciar las plantas aromáticas tienen diversidad de usos y el acto de añadirlas como cultivos acompañantes al cultivo principal puede tanto beneficiar por la repelencia de insectos plagas como también diversificar los rendimientos en la siembra. De esa forma se obtienen cosechas que se pueden mercadear por una diversidad de funciones y beneficios.

El entendimiento de la raíz del promocionado efecto de los cultivos aromáticos en la repelencia de plagas está en conocer sobre el mecanismo de interpretación de los volátiles y de los químicos en contacto por parte de los insectos en búsqueda y aceptación de huésped. Este mecanismo está descrito arriba en las secciones III.B.1.c. y III.B.2.a. Debido a una posible variabilidad en respuesta

de parte de los insectos fitófagos es importante realizar estudios que demuestren qué cultivo/s aromático/s resultan repelente/s a una plaga de interés.

En Puerto Rico se han estudiado cultivos aromáticos [*Rosmarinus officinalis* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum sanctus* L., *Lippia microneura* (B) Moldenke, *Plectranthus amboinicus* (Lour) y *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] como acompañantes al cultivo de la cebolla (*Allium cepa* L.) (Cabrera, 2006a). Se encontró que a los 83 días después de la siembra el número de ninfas de *Thrips tabaci* en las parcelas con *L. microneura* (B) Moldenkel, fue significativamente menor que en los demás tratamientos con aromáticas, seguido de por el tratamiento con *P. amboinicus* (Cabrera, 2006a). A los 90 días después de la siembra el número de adultos de *T. tabaci* en las parcelas con *L. microneura*, fue significativamente menor que en los demás tratamientos con aromáticas, seguido por el tratamiento con *O. basilicum* (Cabrera, 2006a). Además, se estudiaron los mismos cultivos aromáticos como acompañantes a la cebolla con y sin aplicaciones de los insecticidas Cypermetrina y Avermectina durante tres años consecutivos (Cabrera, 2006b). Se observó en el tercer año que las poblaciones de ninfas y adultos de *T. tabaci* disminuyeron significativamente en todos los tratamientos que incluían aromáticas con aplicaciones de Cypermetrina y Avermectina (Cabrera, 2006b). Las poblaciones de *Liriomyza trifolii* B. no mostraron un patrón definido en respuesta a los tratamientos durante el transcurso del experimento (Cabrera, 2006b).

4. Estudios de cultivos de acompañamiento potencialmente beneficiosos para el pimiento

Existen diversos estudios acerca del uso de plantas acompañantes y/o volátiles de plantas para reducir poblaciones de insectos plagas, de insectos vectores de virus y/o el daño causado por estos en el cultivo del pimiento. A su vez, hay estudios que evidencian los efectos positivos en el

desarrollo y rendimiento del cultivo de pimiento cuando éste es sembrado con plantas acompañantes. Sin embargo, hay una carencia de estudios realizados con el fin de demostrar la efectividad del uso de plantas acompañantes para el control de las poblaciones del picudo del pimiento. A continuación, se resumen investigaciones, organizadas por la familia del cultivo acompañante o de la planta de compuestos volátiles de estudio (Tabla 2).

a. Acompañamiento beneficioso

(1) Liliaceae

Prabhakar y Shukla (1990) compararon sistemas del cultivo intercalado de pimiento-cebolla (*Allium cepa* L.), en distintas estaciones, encontrando en el invierno un rendimiento un 59% mayor en comparación con el cultivo solo de pimiento.

Kabura et al. (2008) estudiaron también el intercultivo de pimiento-cebolla, comparando distintas distancias de siembra y siembras en monocultivos de cada cultivo. En su estudio las siembras en monocultivo generalmente sobrepasaron en rendimiento a las siembras en intercultivo. No obstante, algunas de las siembras en intercultivo dieron una Razón de Terreno Equivalente* mayor a 1.0.

Esto indica un rendimiento mayor por unidad de área de terreno de la siembra en intercultivo en comparación con la siembra en monocultivo. Según los resultados si se está añadiendo plantas de cebolla a siembras de pimiento, una distancia de siembra del pimiento de 23x11 pulgadas con las cebollas sembradas a 5x15 pulgadas minimiza la competencia entre plantas y da una Razón Equivalente de Terreno de 1.18.

* La Razón de Terreno Equivalente (“Land Equivalent Ratio” en inglés) se define como el área requerida en monocultivo para producir el mismo rendimiento que el policultivo. Esta es calculada usando la formula $LER = \sum \left(\frac{Y_{pi}}{Y_{mi}} \right)$, donde Y_p es el rendimiento de cada cultivo en el policultivo y Y_m es el rendimiento de cada cultivo en el monocultivo.

Tabla 2. Efectos positivos de cultivos acompañantes beneficiosos al pimiento

Cultivo acompañante (nombre científico)	Efecto positivo	Autor (año)
Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Rendimiento 59% mayor al monocultivo de pimiento. 	Prabhakar y Shukla (1990)
	<ul style="list-style-type: none"> • Distancia de siembra de pimiento a 23" x 11" junto con cebolla a 5" x 15" minimiza la competencia entre plantas y aumenta el rendimiento en comparación con el monocultivo. 	Kabura et al. (2008)
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor rendimiento en comparación con los intercultivos de pimiento-cebolla y de pimiento-cilantro. 	Mallangouda et al. (1995)
Piña (<i>Ananas comosus</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Protección contra lluvias y vientos fuertes. • Rendimientos 30-50% mayores al monocultivo de pimiento. 	Uriza-Avila et al. (2005)
Yuca (<i>Manihot esculenta</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de temperatura en suelo y en planta. • Reducción de malezas. • Mayor humedad y lombrices en el suelo. • Rendimientos 25-28% mayores al monocultivo. 	Olasantan et al. (2007)
Soya (<i>Glycine max</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor potencial de agua de la hoja en comparación con las plantas de pimiento en monocultivo. 	Hulugalle y Willatt (1987)
Habichuela (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor rendimiento en comparación con el monocultivo de pimiento. 	De Costa y Perera (1998)
	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor rendimiento en comparación con el intercultivo pimiento-amaranto y con el monocultivo de pimiento. • Mayor absorción de N, P y K y mayor crecimiento en comparación con el intercultivo pimiento-amaranto. 	Anitha et al. (2001)
Maíz (<i>Zea mays</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Menor incidencia y severidad del virus del moteado de las venas del pimiento y mayor rendimiento en comparación con el monocultivo de pimiento. 	Fajinmi y Odebo (2010)
	<ul style="list-style-type: none"> • Menor población de <i>Aphis gossypii</i> y mayor rendimiento en comparación con monocultivo de pimiento. • Efecto de cultivo barrera. 	Hussein y Abdul Samad (1993)
Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Menor población, razón hembra: macho y densidad de minas de larvas de <i>Liriomyza huidobrensis</i> en comparación con el monocultivo de pimiento. • Mayor parasitismo de <i>L. huidobrensis</i>. 	Chen et al. (2011)
Berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Menor población de <i>Aphis gossypii</i> y mayor rendimiento en comparación con monocultivo de pimiento. • Efecto de cultivo trampa. 	Hussein y Abdul Samad (1993)

Mallangouda et al. (1995) realizaron un estudio comparando intercultivos de pimiento con cebolla (*Allium cepa* L.), ajo (*Allium sativum* L.), o cilantrillo (*Coriandrum sativum* L.) durante la estación de lluvia en la India y obtuvieron que el intercultivo de pimiento-ajo produjo el mayor rendimiento.

(2) Bromeliaceae

Uriza-Avila et al. (2005) estudiaron el intercultivo de piña (*Ananas comosus* L. Merr) y pimiento jalapeño en México y obtuvieron que las plantas de piña protegieron a las de pimiento contra los efectos adversos de las lluvias y vientos fuertes. Como resultado, los rendimientos del pimiento intercalado fueron de 30% a 50% mayores que los rendimientos del monocultivo del pimiento.

(3) Euphorbiaceae

Olasantan et al. (2007) compararon siembras de distintos cultivares de pimiento con el cultivo de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) como planta acompañante con siembras de pimiento y de yuca en monocultivo. Obtuvieron que el ambiente de crecimiento del pimiento intercultivado fue distinto al del pimiento monocultivado. El pimiento en intercultivo tuvo menor temperatura máxima diurna del suelo y del tope de la planta y un menor crecimiento de malezas. La humedad del suelo y el conteo de lombrices de tierra fueron mayores en el pimiento intercultivado. El rendimiento de los distintos cultivares de pimiento intercultivado, en promedio, fueron 25-28% más altos que el monocultivo. Estos efectos positivos en el intercultivo de pimiento, según los resultados, se obtuvieron sin afectar el rendimiento de los tubérculos de la yuca.

(4) Fabaceae

Hulugalle y Willatt (1987) compararon siembras de pimiento (*Capsicum annum* L.) con la soya (*Glycine max* L. Merr.) como intercultivo (en hileras alternadas). Se obtuvo que el potencial

de agua de la hoja en las plantas de pimiento intercultivadas con la soya, fue, para la mayoría, mayor al de las plantas de pimiento en monocultivo. Los autores especulan que esto fue el resultado del efecto rompeviento de las filas de soya.

De Costa y Perera (1998) estudiaron distintas combinaciones del intercultivo de habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.). Obtuvieron que los rendimientos del pimiento intercalado fueron mayores que los del monocultivo de pimiento, pero los rendimientos de la habichuela intercalada fueron menores. La Razón de Terreno Equivalente de los intercultivos fue mayor que 1.

Anitha et al. (2001) también estudiaron el intercultivo de pimiento-habichuela “french bean” (*Phaseolus vulgaris* L.) obteniendo un rendimiento 84% mayor en comparación con el intercultivo de pimiento-amaranto (*Amaranthus* spp.). El rendimiento del intercultivo con habichuela, también fue mayor que el monocultivo de pimiento. La absorción de N del pimiento intercultivado con habichuela fue mayor al intercultivado con amaranto y mayor al monocultivo. La absorción de P y K del pimiento intercultivado con habichuela fue mayor al intercultivado con amaranto. La autora especuló que la pobre absorción de nutrientes en el intercultivo con amaranto pudo deberse a la naturaleza agresiva del amaranto en comparación con la habichuela. El crecimiento del pimiento intercultivado con habichuela fue mayor al intercultivado con amaranto, teniendo un 50% mayor número de hojas, 78% mayor área de hoja, 40% más ramas. La autora describe que la mayor área de hojas y ramas contribuye a una mayor actividad fotosintética y resulta en la mayor producción de materia seca del pimiento al intercultivarse con habichuela.

(5) Poaceae

Fajinmi y Odebode (2010) evaluaron la asociación de pimiento-maíz (*Zea mays* L.) para el manejo del virus del moteado de las venas del pimiento (Pepper Veinal Mottle Virus, PVMV). El

pimiento intercultivado con maiz presentó menos del 17% de incidencia de la enfermedad y 15% de severidad de la enfermedad con un rendimiento mínimo de 4 toneladas por hectárea. En comparación el monocultivo del pimiento presentó una incidencia de enfermedad de 75% y una severidad de enfermedad de 72% con un rendimiento máximo de 3.3 toneladas por hectárea. Los autores sugieren que para tener un manejo efectivo de virus en cualquier cultivo es importante controlar el contacto con la planta principal de los vectores del virus.

Chen et al. (2011) estudiaron el efecto del intercultivo pimiento-caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), en las poblaciones de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard. Este estudio reflejo que las poblaciones del adulto de *L. huidobrensis* Blanchard, la razón hembra:macho y las densidades de las minas de las larvas fueron menores en el intercultivo 2:2 (2 hileras de pimiento y 2 hileras de caña de azúcar) en comparación con el monocultivo de pimiento. Estas medidas fueron menores en el intercultivo 1:2 (1 hilera de pimiento y 2 hileras de caña de azúcar) en comparación con el intercultivo 2:2. Los parasitoides del minador se encontraban en mayor densidad en los intercultivos en comparación con el monocultivo. Las tasas de parasitismo total para los dos periodos de estudio fueron 71.6%:69.5% (intercultivo 1:2), 22.5%:20.6% (intercultivo 2:2) y 5.9%:5.9% (monocultivo).

(6) Poaceae y Solanaceae

Hussein y Abdul Samad (1993) evaluaron el efecto de los intercultivos pimiento (*Capsicum annum* L.)-maíz (*Zea mays* L.) y pimiento-berenjena (*Solanum melongena* L.) en las poblaciones de *Aphis gossypii* Glover y la transmisión del virus del moteado de las venas del pimiento (Pepper Veinal Mottle Virus, PVMV), obteniendo resultados que muestran que las poblaciones de *A. gossypii* Glover fueron significativamente menores en el pimiento intercalado en comparación con el pimiento en monocultivo. El bicultivo con berenjena fue más efectivo en proteger a las plantas

de la colonización del vector que el bicultivo con maíz. Las trampas de los vectores alados indican que los vectores estaban más abundantes en el monocultivo de pimiento. Además, los rendimientos fueron mayores en las plantas de pimiento intercaladas. Los autores indicaron que el maíz actuó como una barrera para los áfidos y que la berenjena fue efectiva como cultivo trampa para los vectores que migraban temprano.

b. Volátiles efectivos

(1) Lilliaceae

Amarawardana et al. (2007) estudiaron los efectos de los volátiles del puerro (*Allium porum* L.) y del cebollín (*Allium schoenoprasum* L.) en el comportamiento, de búsqueda de huésped, del áfido *Myzus persicae* Sulz. Los ensayos fueron realizados a través de un olfactómetro, obteniendo que el olor del pimiento (planta huésped) fue significativamente atractivo a *M. persicae* Sulz, mientras que el olor del cebollín fue significativamente repelente. Al exponer a las plantas de pimiento a volátiles de cebollín por 5 días, su olor se volvía repelente a *M. persicae* Sulz. A su vez, un extracto de plantas de puerro fue significativamente repelente a *M. persicae* Sulz al igual que lo fueron las plantas de pimiento asperjadas con este extracto. Debido a que ambos, el puerro y el cebollín pueden interrumpir el encuentro de la planta huésped por *M. persicae* Sulz, el autor expone que ambas plantas tienen potencial para ser utilizadas como cultivos asociados al pimiento.

C. Volátiles de pimiento y su efecto en *Anthonomus eugenii*

A través de diversos estudios se ha demostrado que *A. eugenii* Cano es atraído por los estímulos olfatorios (volátiles) de su huésped principal [*Capsicum annuum* L.(Solanaceae)] en ausencia de los estímulos visuales. Los volátiles de las plantas de pimiento sirven de kairomonas a los picudos del pimiento; lo cual es de esperarse en las relaciones entre insectos fitófagos y su planta huésped. Velázquez (2011) estudió los compuestos de yemas, flores y frutos de pimiento

(*Capsicum annuum* L.) por medio de cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (siglas en inglés: GC/MS) identificando que los compuestos más abundantes fueron a B-ocimeno, salicilato de metilo, (3E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, 2-etil hexanol, 2-hexanol, ácido acético y 2,3,4,5-tetrametil pirazina. Hay dos compuestos que fueron los más abundantes en las tres estructuras analizadas: el salicilato de metilo y el B-E-ocimeno.

A pesar de que existen compuestos comunes en las distintas partes de la planta de pimiento las distintas etapas de los órganos reproductivos influyen en la composición de los volátiles de la planta y en consecuencia influyen en el comportamiento de atracción de los picudos del pimiento. Adesso (2007) en ensayos en olfatómetro de tubo Y, encontró que los picudos tuvieron una respuesta de atracción hacia los volátiles de los frutos de pimiento ‘Jalapeño’ mientras que no tuvieron una respuesta de atracción a las flores. En base a estas respuestas se interpreta que el contenido de volátiles en las flores y frutos de pimiento es distinto. Cuando estos órganos reproductivos sufren de daño por alimentación de *A. eugenii* Cano, liberan volátiles de diferente contenido; esta diferencia en volátiles afecta la atracción de *A. eugenii*. Adesso et al. (2011) encontraron que al exponerse, en un olfatómetro de tubo Y, a volátiles de plantas de pimiento ‘Jalapeño’ no dañadas, con flores dañadas y con frutos dañados, los picudos del pimiento prefirieron los volátiles de las plantas con daño antes que las no dañadas. Cuando las plantas con daño por alimentación tenían picudos activamente alimentándose resultaron más atractivas que aquellas con daño por alimentación viejo. El análisis de GC/MS muestra que hubo una diferencia en los compuestos volátiles de plantas dañadas por alimentación de *A. eugenii* Cano, en comparación con las no-dañadas (Adesso et al., 2011). Las plantas con daño por alimentación presentaron una regulación creciente de Z-3-hexen-1-ol y volátiles constitutivos como E-b-ocimeno, linalool, (3E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, (1,38-para)-menthatrieno, salicilato de

metilo y geranil-linalool. También presentaron una marcada liberación inducida de muchos sesquiterpenos (sesquithujeno, β -elemeno, (E)- α -bergamoteno, (E,E)- α -farneseno, (E,E)-nerolidol); esta liberación inducida fue más pronunciada en plantas con picudos alimentándose activamente. En los ensayos en olfatómetro de tubo Y, cuando el daño por alimentación era en plantas fructificadas, éstas resultaron más atractivas que las plantas con daño por alimentación florecidas. Al estudiar los análisis de GC/MS de plantas florecidas y fructificadas, con picudos activamente alimentándose, Adesso et al. (2011) reconocieron que hubo un incremento en la liberación de metil salicilato en las plantas fructificadas en comparación con las florecidas.

En base a los resultados expuestos se puede concluir que los volátiles que liberaron los frutos de pimiento (tanto cuando son dañados por alimentación como cuando no son dañados) hacen de la planta una más atractiva que una planta con flores (dañadas por alimentación o no dañadas). In-Kyung et al. (2007) informaron que había más de 300 compuestos reportados para frutos *Capsicum* spp.L., en su mayoría ésteres, seguidos de cetonas y alcoholes (citado en Velázquez, 2011). Al analizar la composición de los volátiles de distintas partes de la planta (yemas, flores y frutos) de pimiento, por GC/MS, Velázquez (2011) encontró que los frutos presentaron la mayor cantidad de volátiles. Probablemente esta fue la razón por la que los frutos son de mayor atractivo para los picudos.

Se conoce que los picudos del pimiento machos liberan una feromona causante de la atracción y agregación tanto de picudos machos como hembras (Patrock et al., 1992). Esta feromona consiste de seis compuestos: (Z)-2-(3,3-dimethyl)cyclohexylidene ethanol, (E)-2-(3,3-dimethyl) cyclohexylidene ethanol, (Z)-(3,3dimethyl)cyclohexylideneacetaldehyde, (E)-(3,3dimethyl) cyclohexylideneacetaldehyde, geranic acid, and geraniol (Eller et al., 1994 citado en Adesso 2011). Pero según resultados de ensayos, en olfatómetro tipo Y, hay una mayor

atracción de los picudos del pimiento hacia volátiles sintéticos, previamente identificados en *Capsicum* spp L., que a la feromona sola (Muñiz-Merino et al., 2014). Los volátiles sintéticos combinados con la feromona hubo mayor respuesta, de los picudos machos, hacia estos que hacia la feromona sola (Muñiz-Merino et al., 2014). Esta preferencia mayor por los volátiles de *Capsicum* spp. L. que por la feromona de agregación se presentó también en ensayos, en olfatómetro de tubo Y, donde los picudos de pimiento prefirieron los volátiles de yemas florales, de flores y de frutos en desarrollo más que a la feromona de agregación en combinación con ácido geránico (Velázquez, 2011). Los volátiles de la planta de pimiento pueden ejercer tal efecto atractivo en los picudos del pimiento que en ciertos casos pareciera que el estímulo de la feromona de agregación no causa un efecto significativo. Este fue el efecto encontrado cuando los picudos fueron expuestos, en un olfatómetro tipo Y, a volátiles de plantas con daño de alimentación de hembras y a volátiles de plantas con daño de alimentación de machos (los que también incluyen la feromona de agregación) y no hubo preferencia significativa entre estos (Adesso, et al., 2011). Esta falta de preferencia da la impresión de que los picudos solo respondieron a los volátiles de la planta y que no hubo efecto de la feromona de agregación. Sin embargo, este resultado contrasta con los resultados encontrados por Patrock et al. (1992) donde las trampas cebadas con machos de *A. eugenii* Cano capturaron más conoespecíficos en comparación con las trampas cebadas con hembras de *A. eugenii* Cano. Este resultado base indicó la producción de una feromona de agregación por los machos. Por lo tanto, es posible que el efecto de los volátiles de las plantas con daño por alimentación sea tan estimulante que el efecto de la feromona de agregación resulte no-significativo.

D. Efectos de conespecíficos en la búsqueda, aceptación y uso de huésped

1. Feromona de agregación

El picudo del pimiento macho es capaz de producir una feromona de agregación, la cual atrae tanto a picudos hembras como a picudos machos. Patrock et al. (1992) estudiaron distintas trampas para el picudo del pimiento encontrando que un por ciento significativamente mayor de trampas con machos capturaron conespecíficos en comparación con las trampas con hembras o el control. Tanto hembras como machos fueron capturados en las trampas. Estos hechos nos revelan que una vez una planta huésped ha sido colonizada por un picudo macho, esta será vulnerable a una posterior colonización de picudos, debido a la atracción por la feromona de agregación.

2. Daño a plantas huéspedes

Adesso et al. (2011) determinaron, por medio de ensayos con un olfatómetro de tubo-Y, que el picudo del pimiento es atraído hacia volátiles de plantas de pimiento con daño de alimentación por conespecíficos. Los ensayos realizados con picudos apareados revelaron que éstos prefieren plantas con flores dañadas o con frutos dañados antes que plantas sin daño. A su vez prefieren que estas plantas tengan picudos alimentándose activamente sobre plantas con daño de alimentación viejo. Las plantas con picudos activamente alimentándose prefieren las plantas fructificadas antes que las plantas florecidas. Además, se realizaron ensayos para comparar la atracción hacia plantas dañadas por machos y por hembras, con tres distintos grupos de picudos: machos apareados, hembras vírgenes y hembras apareadas. Estos ensayos revelaron que las hembras vírgenes y los machos apareados prefieren volátiles de plantas con machos alimentándose antes que los volátiles de plantas con hembras alimentándose, mientras que las féminas apareadas no mostraron preferencia. Los volátiles de plantas con machos alimentándose, característicamente, contienen también la feromona de agregación.

3. Marcador de huéspedes

Adesso et al. (2007) estudiaron también las señales en un fruto infestado que influyen en el comportamiento de oviposición de hembras de *A. eugenii*. Sus resultados mostraron que las hembras prefieren frutos sin huevos antes que frutos ovipositados (por huevos de conespecíficos o por sus propios huevos) 24 horas previamente a ser expuestas al fruto. Según sus conclusiones este efecto es atribuido a la presencia de tapones de oviposición, y a la secreción inicial que las hembras usan para sellar el huevo. Estos, a través de ensayos subsiguientes, demostraron poseer un disuasivo que, en ausencia de cualquier otra señal (en ausencia de huevos o de cualquier daño del fruto), es suficiente para alertar a las fémimas de que el espacio está ocupado.

Estos efectos impartidos por conespecíficos son de importancia en los estudios de volátiles de plantas por su interacción con el efecto de estudio. Por ejemplo, una previa colonización de picudos, que causen un daño por alimentación, causaría una mayor atracción de picudos hacia las plantas dañadas. A su vez, una previa colonización de picudos machos aumentaría la atracción por el hecho de que estos son capaces de liberar feromonas de agregación. Asimismo, las señales disuasivas impartidas por los tapones de oviposición influyen en la atracción de las fémimas. Por lo tanto, para estudios del efecto de compuestos volátiles de plantas de pimiento, es importante asegurarse que las plantas a utilizarse no se encuentren previamente infestadas con picudos, lo que evitará los efectos del daño por alimentación, de feromonas de agregación y de disuasivos de oviposición.

IV. METODOLOGÍA

A. Materiales

1. Materiales vegetales y su propagación

Las plantas utilizadas en el estudio fueron cinco cultivos no-huéspedes del picudo del pimiento con propiedades aromáticas y el pimiento ‘Cubanelle’ (*Capsicum annuum* L.). Las cinco especies aromáticas fueron: cebollín (*Allium wakegi* Araki ‘PSX 5504’), albahaca ‘Sweet Leaf’ (*Ocimum basilicum* L.), clavel de perro (*Tagetes erecta* L.), orégano brujo (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) y limoncillo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). Especímenes de estas plantas se encuentran en el Herbario de la Universidad de Puerto Rico en Mayagüez.

Las plantas de pimiento fueron propagadas por semilla (PanDia Seeds, Ojai, California) en la Estación Experimental de Agricultura Tropical, del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (TARS-USDA por sus siglas en inglés) en Mayagüez P.R. Se utilizaron bandejas de plástico de 72 celdas y un medio a base de turba de musgo esfagno, humus y perlita (“Pro-mix”); las bandejas listas se mantuvieron en un invernadero y se irrigaban diariamente. Una vez a la semana se fertilizaban con abono soluble 20-20-20 (2.50g/L). Las plántulas eran trasplantadas a tiestos de plástico de un galón con la misma mezcla y luego de un periodo de endurecimiento de una semana, en sombra parcial, fueron movidas a pleno sol para que alcanzaran su fase reproductiva. Las plantas se irrigaban diariamente y se fertilizaban semanalmente con abono soluble 20-20-20 (4.00g/L).

Las plantas de *A. wakegi* Araki se obtuvieron de la distribuidora Hill Brothers, Trujillo Alto, P.R., las plantas de *O. basilicum* L. fueron propagadas por semilla [obtenidas de la Estación Experimental Agrícola (EEA) en Lajas, P.R.] y las plantas de *T.s erecta* L. se adquirieron en el vivero Jardines Eneida, Cabo Rojo, P.R. Las plantas de *A. wakegi* Araki y de *T. erecta* se

sembraron en tiestos de plástico de 15.24cm con la mezcla Sunshine Mix #4. Las semillas de *O. basilicum* L. se sembraron usando una mezcla de musgo, estiércol de vaca compostado y perlita (1:1:1) en bandejas de plástico de 50 celdas; las plántulas se trasplantaron a tiestos de plástico de 15.24cm con Sunshine Mix #4. Las plantas se mantuvieron en un invernadero, se irrigaban diariamente y se fertilizaban una vez a la semana con el fertilizante orgánico Fish-O-Mega (5.20mL/L).

Las plantas de *C. citratus* (DC.) Stapf. fueron adquiridas en el vivero La Tierra Prometida Inc., Aguadilla, P.R.; estas fueron crecidas usando medio a base de turba de musgo esfagno, humus, vermiculita y perlita en tiestos plásticos de 15.24cm. Esquejes de *P. amboinicus* (Lour.) Spreng se adquirieron en una finca privada en Aguadilla, P.R. y se trasplantaron a tiestos plásticos de 15.24cm con el medio “Pro-mix”. Estas plantas se mantuvieron en el invernadero en la EEA-Lajas, P.R. hasta que estuvieron listas para utilizarse; entonces se movieron al invernadero en TARS, Mayagüez, P.R.

2. Crianza de Picudos

Se estableció una siembra en campo de 400 plantas de pimiento ‘Cubanelle’ en la Estación Experimental Agrícola en Lajas, P.R. a la cual no se le aplicó ningún plaguicida para promover una alta infestación de picudos. Esta siembra en la EEA-Lajas y otras siembras en tres fincas privadas del sur de Puerto Rico se utilizaron como fuentes para obtener picudos. Los frutos caídos y frutos con síntomas de infestación de picudos (marcas de oviposición, tamaño reducido, color amarillo o rojo prematuro y amarillamiento del cáliz y del pedúnculo) eran recolectados y colocados en bolsas con cierre de cremallera. Las bolsas con frutos eran monitoreadas diariamente en búsqueda de picudos emergidos. Este método garantizaba que los picudos obtenidos eran de la especie *Anthonomus eugenii* Cano ya que su larva se desarrolla en el interior del fruto a diferencia

del picudo *Faustinus cubae* Boh. que desarrolla su larva en el interior del tallo (Capinera, 2002). *Faustinus cubae* Boh. aún no ha sido identificado en Puerto Rico pero si se encuentra en Florida, E.U. siendo menos común, pero contribuyendo a pérdidas en rendimiento en siembras de pimiento (Capinera, 2002. Sin embargo, se reconoce que su ocurrencia es posible, aunque no identificada. En adición los picudos seleccionados fueron homogéneos en coloración (color negro) y aquellos que presentaban una coloración menos oscura (marrón) eran descartados. Los picudos emergidos se pasaban a una nueva bolsa y se les proveía pedazos de fruto y de hojas de pimiento. Por medio de las crianzas iniciales se obtuvo que de 708 frutos con síntomas de infestación recolectados emergieron unos 868 picudos para un promedio de 1.23 picudos por fruto. Se reconoce que este número varía según la severidad de la infestación de picudos en las siembras. Esta alternativa de crianza resultó efectiva en comparación con crianzas previas en las que se recolectaban picudos adultos en siembras, se apareaban y se les proveía frutos de pimiento para que ovipositaran; en esas crianzas el fruto a temperatura ambiente se descomponía antes de que los huevos depositados pudieran desarrollarse hasta su estado de adultez y emerger.

3. Diseño de Olfatómetro

Se evaluó la atracción de los picudos hacia volátiles de las plantas de pimiento y de plantas aromáticas no-huéspedes utilizando un olfatómetro de tubo Y de cristal (Figura 6). El tubo Y utilizado poseía un diámetro interior de 0.50cm, brazos laterales de 5.50cm de largo y el brazo central de 5.00cm de largo (893750-0021, Kimble, Vineland, New Jersey, USA). Al final de cada brazo lateral del tubo Y se conectaban las cámaras del sistema que consistían de bolsas plásticas con cierre de cremallera de 7.50cm de largo x 7.50cm de ancho. Para evitar visibilidad del contenido de las cámaras se utilizó una pared de cartón blanco de 28.00cm de largo x 19.00cm de ancho con dos agujeros que permitían pasar los extremos de los brazos laterales y conectarlos al

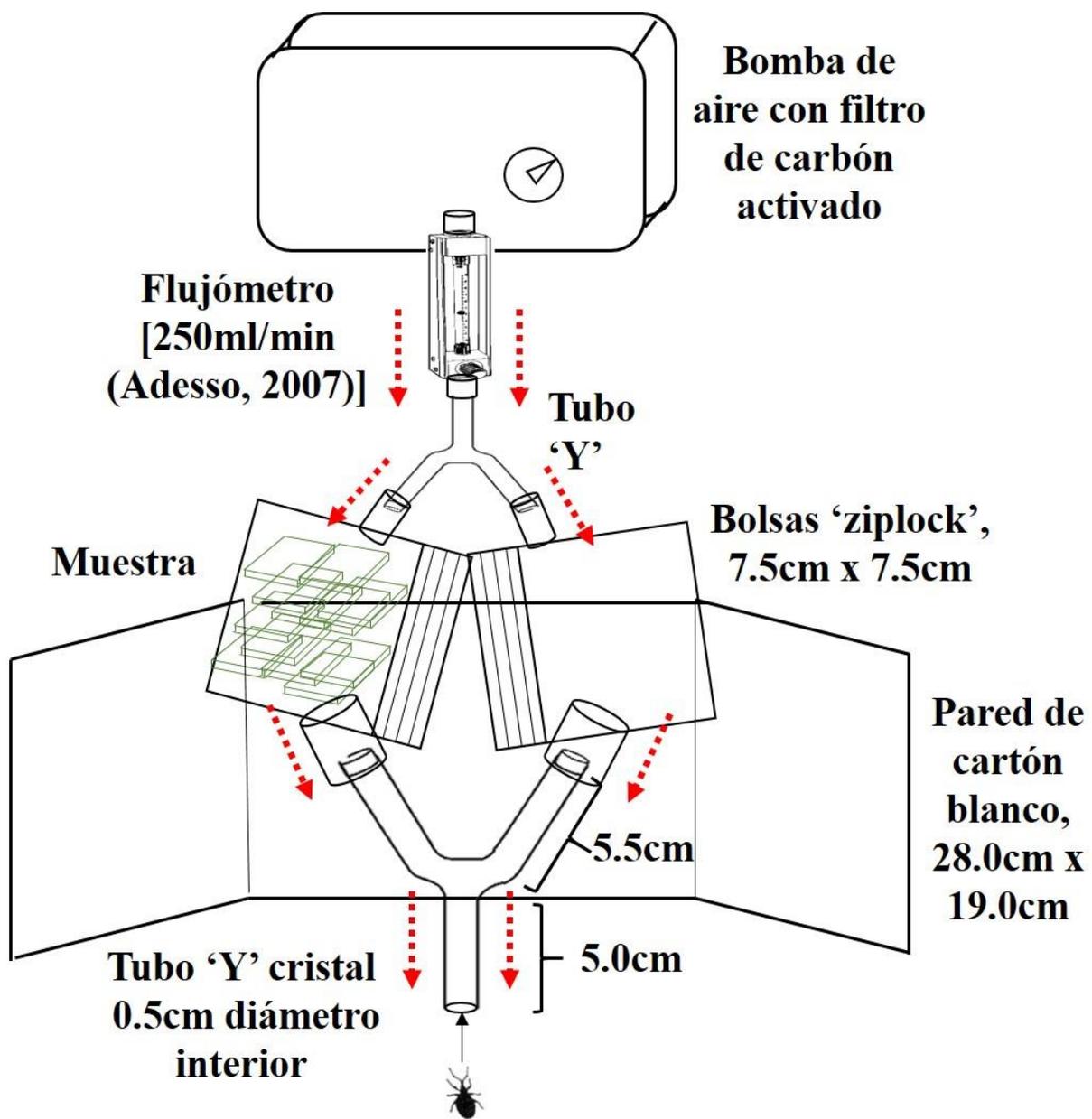


Figura 6. Diseño de olfatómetro de tubo Y

otro lado de la pared con las cámaras. Las dos cámaras conectaban con los dos extremos de los brazos laterales de un tubo de Y de polipropileno (02846767-467, Kartell, Noviglio, Italia) y el brazo central de este conectaba con una micro bomba de aire (T6SH-HD-121-EEA, SN:1057, Parker) con filtro de carbón activado (ADS-STD-C2F, Analytical Research Systems, Gainesville, Florida, USA). El flujo de la bomba se regulaba con un flujómetro de acrílico (FR2A13SVVT, Key Instruments, Pennsylvania, USA). Se utilizaron tubos de teflón para conectar las distintas partes del sistema. La entrada de los picudos consistía de la abertura en el extremo del brazo central del tubo Y de cristal; siendo ésta, a su vez, la salida del aire. El sistema era colocado en frente de una ventana que permitía el paso de luz solar a través de los agujeros en la pared de cartón.

4. Diseño de placa Petri

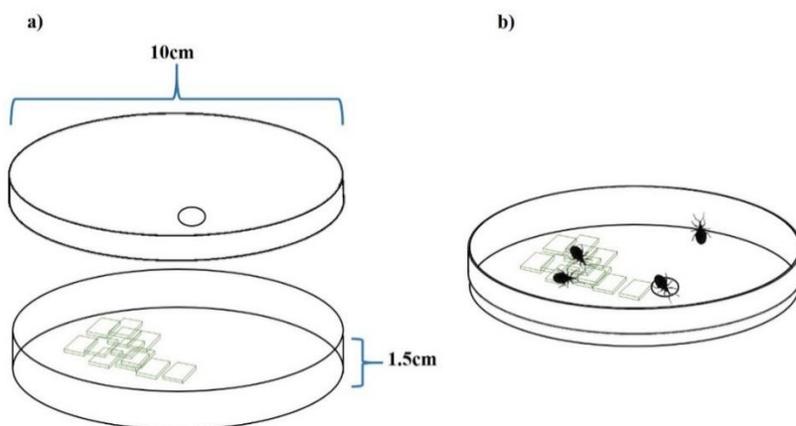


Figura 7. Diseño de placa Petri a) abierta con material vegetativo b) cerrada con material vegetativo y picudos

Se utilizaron placas Petri de poliestireno de 10cm de diámetro x 1.5cm de alto (Fisher Scientific, USA, FB0875712) (Figura 7). Cada tapa de las placas Petri poseía un agujero de 1cm de diámetro cercano al borde. Este agujero era la entrada de los picudos hacia la placa Petri. El contenido de cada tratamiento (pedazos de hoja, pedazos de hoja y de flor o pedazos de hoja y de

fruto) era colocado en una mitad de la placa Petri obteniendo así una mitad con espacio vacío donde el picudo podía localizarse para no hacer contacto el material vegetativo. Como fondo se utilizaba un papel blanco colocado debajo de la placa Petri. Se proveía luz desde arriba con lámparas LED del techo del laboratorio.

B. Métodos

1. Experimento 1: Efecto de volátiles

Se realizó un experimento de diseño completamente aleatorizado con 6 tratamientos de volátiles (1-pimiento ‘Cubanelle’, 2-cebollín, 3-albahaca ‘Sweet Leaf’, 4-clavel de perro, 5-orégano brujo y 6-limoncillo) y 8 repeticiones. Cada día que se realizaban los ensayos se recolectaban muestras de hojas de las plantas de estudio; estas muestras consistían de hojas jóvenes y maduras que mostraban apariencia saludable. Además de las hojas, las muestras de *T. erecta* L. contenían flores y las muestras de *C. annum* L. contenían frutos. Los ensayos en olfactómetro se realizaban en el laboratorio de Entomología de la Estación Experimental de Agricultura Tropical en Mayagüez, del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (TARS-USDA por sus siglas en inglés) a una temperatura de $24 \pm 3^\circ\text{C}$. Los volátiles de las 6 plantas eran evaluados al azar en un mismo día. Se colocaban 12 pedazos de 2.25cm^2 (recién cortados) de la muestra de la planta correspondiente en una de las cámaras del sistema de olfactómetro, mientras que la otra cámara sólo contenía aire puro. La bomba de aire del sistema se encendía y se mantenía a un flujo de $250\text{mL}/\text{min}$. Inmediatamente se colocaba un picudo en la apertura del brazo central del tubo Y; este picudo era sacado aleatoriamente de un conjunto total de picudos a evaluar. La luz del sol que pasaba a través de los extremos de los brazos laterales del tubo Y estimulaba a los picudos a moverse hacia adelante; el propósito era conseguir que los picudos llegaran al punto de elección (región que consiste de un triángulo imaginario localizado en la unión de los 3 brazos del tubo de

Y). No se utilizó un ángulo de posición determinado para el tubo de Y debido a que en ensayos previos se encontró que el ángulo óptimo para promover el movimiento hacia adelante de los picudos variaba según el individuo de estudio. El tiempo máximo para realizar la elección era de 10 min. Se consideraba que el picudo hacía una elección cuando pasaba de la región de elección hacia uno de los brazos laterales. La elección tomada por el picudo (volátiles o aire puro) o la no-elección era anotada. Para cada tratamiento se evaluaban 4 picudos de forma individual. Luego de cada evaluación el tubo Y, las cámaras y las conexiones de teflón eran limpiadas con alcohol al 70% y secadas. La posición de la cámara que contenía los pedazos de muestra se alternaba en cada evaluación resultando en dos picudos probados con la muestra al lado derecho y dos probados con la muestra al lado izquierdo para cada tratamiento. Los ensayos fueron realizados dentro del periodo de actividad de oviposición: 10:00am-5:00pm (Patrock y Schuster, 1992).

Los datos fueron analizados según las frecuencias relativas (expresadas en por ciento) del conteo de picudos que eligió cada brazo del olfactómetro de tubo Y, con una prueba de Chi-cuadrado de Pearson. Las frecuencias relativas (expresadas en por ciento) de los picudos que hicieron elección y que no hicieron elección en cada tratamiento fueron comparadas entre sí también con una prueba de Chi-cuadrado de Pearson. El programa estadístico utilizado fue InfoStat, versión 2016 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

2. Experimento 2: Efecto de mezclas de volátiles

Se realizó un diseño completamente aleatorizado con 6 tratamientos y 8 repeticiones al igual que en el experimento 1, exceptuando por los tratamientos. Los 6 tratamientos se nombraron de la siguiente manera: 1-pimiento, 2-cebollín + pimiento, 3- albahaca + pimiento, 4- clavel de perro + pimiento, 5-orégano brujo + pimiento y 6- limoncillo + pimiento. Cinco de los tratamientos (aquellos que contenían volátiles de aromáticas) consistieron de 6 pedazos de 2.25cm^2 de la muestra

de planta aromática particular mezclados con 6 pedazos de 2.25cm² de la muestra de planta de pimiento. El tratamiento de pimiento contenía 12 pedazos de 2.25cm² de la muestra de pimiento. El procedimiento del experimento y el análisis de datos fue llevado a cabo tal como en el experimento 1 y se detalla arriba en dicha sección.

3. Experimento 3: Efecto de exposición a material vegetativo

Se utilizó un modelo mixto binomial con 2 factores. El factor material vegetativo contenía 6 niveles: 1) pimiento ‘Cubanelle’, 2) cebollín, 3) albahaca ‘Sweet Leaf’, 4) clavel de perro, 5) orégano brujo y 6) limoncillo. Los niveles de este factor se asignaban de forma aleatorizada cada día que se llevaba a cabo el experimento. El factor tiempo contenía cuatro niveles: 1) 5min., 2) 15min., 3) 30min. y 4) 60min. Este factor fue fijo; se tomaron medidas a través del tiempo en la misma unidad experimental. Se llevaron a cabo 8 repeticiones.

Cada día que se realizaban los ensayos se recolectaban muestras de las plantas de estudio de igual forma que en los experimentos 1 y 2. Las muestras consistían en hojas de las plantas, con la excepción de la muestra de pimiento la cual también contenía frutos y de la muestra de clavel de perro la cual también contenía flores. Los ensayos se realizaban en el laboratorio de Entomología de la Estación Experimental de Agricultura Tropical en Mayagüez, del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (TARS-USDA por sus siglas en inglés) a una temperatura de 24 +/- 3°C. Se colocaban 12 pedazos de 2.25cm² (recién cortados) de la muestra de la planta correspondiente hacia un lado de la placa Petri; hacia el otro lado no se colocaba nada. La placa Petri se tapaba y rápidamente se colocaban 4 picudos por el agujero; estos picudos se sacaban aleatoriamente de un conjunto total de picudos a evaluar cada día. Una vez se colocaban los picudos el agujero se tapaba. Se medía el conteo de ubicación de picudos con 2 categorías: 1) picudos haciendo contacto con el material vegetativo y 2) picudos no haciendo contacto con el

material vegetativo; sobre una misma unidad experimental se tomaban las medidas en los distintos niveles del factor tiempo (a los 5 min., 15 min., 30 min. y 60 min.). Las repeticiones de cada tratamiento se realizaban alternando la ubicación de los pedazos de muestra, resultando en 4 repeticiones realizadas con los pedazos de muestra al lado derecho y 4 al lado izquierdo.

Los datos fueron analizados según las frecuencias relativas (expresadas en por ciento) del conteo de picudos haciendo contacto o no haciendo contacto con el material vegetativo en cada tratamiento, con una prueba de Chi-cuadrado de Pearson utilizando el programa estadístico InfoStat, versión 2016.

4. Experimento 4: Efecto de exposición a mezclas de materiales vegetativos

Se utilizó un modelo mixto binomial con 2 factores y 8 repeticiones al igual que en el experimento 3, exceptuando por los niveles del factor material vegetativo. Los niveles del factor material vegetativo para los tratamientos con plantas aromáticas consistieron de 6 pedazos de 2.25cm^2 de cada muestra de plantas aromáticas mezclados con 6 pedazos de 2.25cm^2 de la muestra de pimienta. En el caso del nivel pimienta se utilizaron 12 pedazos de 2.25cm^2 de la muestra de pimienta. Los 6 niveles del factor plantas se nombraron de la siguiente manera: 1) pimienta, 2) cebollín + pimienta, 3) albahaca + pimienta, 4) clavel de perro + pimienta, 5) orégano brujo + pimienta y 6) limoncillo + pimienta. La medida de ubicación se realizaba con 3 categorías: 1) conteo de picudos en contacto con el material vegetativo de plantas de pimienta, 2) conteo de picudos en contacto con el material vegetativo de la planta aromática respectiva y 3) conteo de picudos que no hacían contacto con el material vegetativo. Los demás detalles del procedimiento del experimento y el análisis de datos se llevaron a cabo tal como en el experimento 3 y se detallan arriba en dicha sección.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimentos con olfatómetro

Para los resultados de los experimentos con olfatómetro nos interesa identificar aquellos tratamientos donde un menor por ciento de picudos eligió el brazo con flujo de volátiles. Son estos volátiles los que consideramos como repelentes ya que el seleccionar el brazo con flujo de aire se considera como un comportamiento de evitación de los volátiles, lo que sucede cuando un insecto reconoce una mezcla de volátiles como una proveniente de una planta no-huésped o un huésped no apto.

A. Experimento 1: Efecto de volátiles

La Tabla 3 y la Figura 8 muestran que los tratamientos de volátiles de orégano brujo, de limoncillo y de clavel de perro tuvieron un por ciento significativamente menor de picudos que eligieron el brazo con volátiles en comparación con el por ciento que eligió el brazo de aire (7.7%, 28.0% y 28.0% respectivamente); siendo el orégano brujo el de mayor significancia del p valor ($p < 0.0001$), seguido por los tratamientos limoncillo y clavel de perro ambos con igual significancia ($p = 0.0278$). Se interpreta que los volátiles de estos tres tratamientos son repelentes al picudo del pimiento. Los tratamientos albahaca y cebollín obtuvieron un por ciento de picudos eligiendo el brazo de volátiles no significativamente diferente al por ciento de picudos eligiendo el brazo con aire. Los volátiles de estos dos tratamientos muestran tener un efecto indiferente al picudo del pimiento. El tratamiento de pimiento fue el único con un por ciento significativamente mayor de picudos que eligieron el brazo con volátiles (74.1%, $p = 0.0124$). Este resultado concuerda con los resultados de estudios previos en los que *A. eugenii* mostró atracción hacia volátiles de plantas enteras y frutos de *Capsicum annuum* L. ‘Jalapeño’ (Adesso, 2007), a volátiles, capturados por aireación dinámica, de yemas florales, flores y frutos en desarrollo de *Capsicum annuum* L.

Tabla 3. Comparación del conteo de elección de picudos del pimiento, *A. eugenii*, al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo Y.

Volátiles	Lado de Elección		χ^2 / (p valor)
	Volátiles	Aire	
pimiento	20 (74.07%)	7 (25.93%)	6.26 (p=0.0124)
cebollín	14 (51.85%)	13 (48.15%)	0.04 (p=0.8474)
albahaca	11 (40.74%)	16 (59.26%)	0.93 (p=0.3359)
clavel de perro	7 (28.00%)	18 (72.00%)	4.84 (p=0.0278)
orégano brujo	2 (7.69%)	24 (92.31%)	18.62 (p<0.0001)
limoncillo	7 (28.0%)	18 (72.0%)	4.84 (p=0.0278)

Se muestra el conteo de picudos que eligieron el lado de volátiles y que eligieron el lado de aire para cada tratamiento de volátiles; la frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. Los valores de la prueba de χ^2 Pearson para los resultados de volátiles vs. aire de cada tratamiento se muestran junto con el p-valor.

Tabla 4. Comparación del conteo de no elección y de elección de picudos del pimiento, *A. eugenii*, al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo Y.

Volátiles	Eligieron		χ^2 / (p valor)
	No	Si	
pimiento	5 (15.63%)	27 (84.38%)	1.01 (p=0.9615)
cebollín	5 (15.63%)	27 (84.38%)	
albahaca	5 (15.63%)	27 (84.38%)	
clavel de perro	7 (21.88%)	25 (78.13%)	
orégano brujo	6 (18.75%)	26 (81.25%)	
limoncillo	7 (21.88%)	25 (78.13%)	
Total	35 (18.23%)	157 (81.77%)	

Se muestra el conteo de picudos que no eligieron y el conteo de picudos que eligieron [del total de 32 picudos (n)] para cada tratamiento de volátiles. La frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. El valor de la prueba de χ^2 Pearson para el conteo de los picudos que eligieron y el conteo de los que no eligieron, comparando todos los tratamientos se muestra junto con el p-valor.

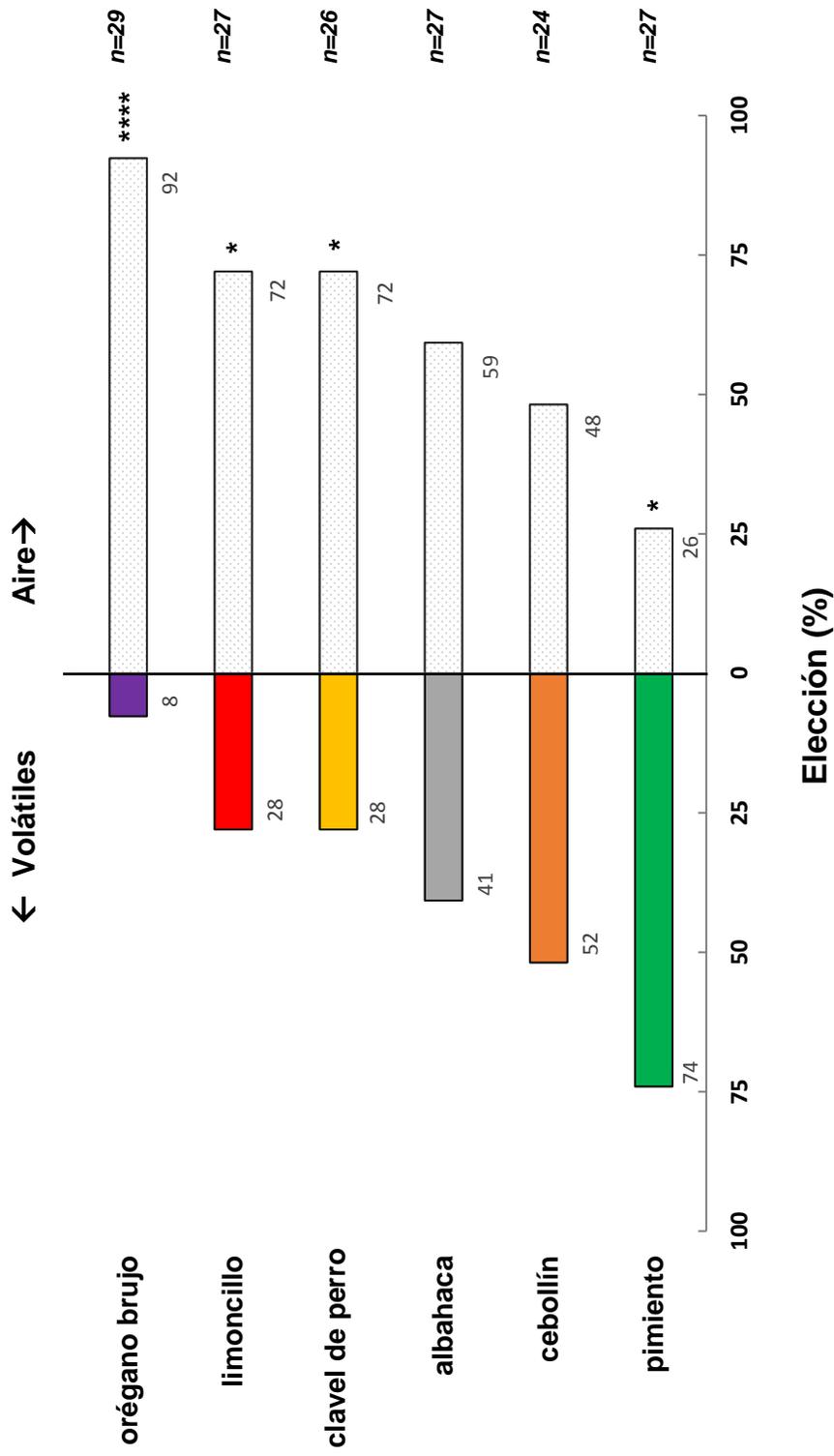


Figura 8. Porcentaje de elección de picudos de pimiento, *A. eugenii*, del lado de volátiles y del lado de aire al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en un olfatómetro de tubo Y. Se presenta el por ciento de elección del lado de volátiles (barras de color sólido) vs. el por ciento de elección de aire (barras punteadas). Se analizó la población que hizo una elección (n) dentro de una población total de 32 picudos. += $p \leq 0.1$, *= $p \leq 0.05$, **= $p \leq 0.01$, ***= $p \leq 0.001$, ****= $p < 0.0001$ en análisis de χ^2 .

‘Jalapeño’ (Velázquez, 2011) y a volátiles sintéticos identificados previamente en *Capsicum* spp. (Muñiz-Merino et al., 2014).

B. Experimento 2: Efecto de mezclas de volátiles

La Tabla 5 y la Figura 9 muestran que los tratamientos de mezclas de volátiles lim. + pim. y clav. + pim. obtuvieron un por ciento de picudos eligiendo el brazo con volátiles menor que el por ciento eligiendo el brazo con aire (22.2%, $p=0.0039$ y 26.9%, $p=0.0186$). El efecto repelente de estos dos tratamientos es consistente con el efecto obtenido en el Experimento 1 con los tratamientos de volátiles de limoncillo y de clavel de perro. Los tratamientos de orég. + pim., de ceb. + pim. y de alba. + pim. obtuvieron un por ciento de picudos eligiendo el brazo de volátiles no significativamente diferente al por ciento de picudos eligiendo el brazo con aire. Este comportamiento de elección indiferente es consistente con el comportamiento en respuesta a los tratamientos de los volátiles de las aromáticas de cebollín y de albahaca en el experimento 1; en el caso del tratamiento orég. + pim. el efecto repelente obtenido de los volátiles de material vegetativo de orégano brujo en el Experimento 1 no se presenta en este tratamiento que incluye también los volátiles del material vegetativo de pimienta. El tratamiento de volátiles de material vegetativo de pimienta, al igual que en el Experimento 1, fue el único con un por ciento de picudos eligiendo el lado de volátiles significativamente mayor al por ciento eligiendo el lado de aire (70.4%, $p=0.0343$).

No elección

En los experimentos con olfatómetro una parte de la población total no eligió ninguno de los brazos (brazo con flujo de volátiles o brazo con flujo de aire) en el tiempo de exposición de 10 min. Se consideraba que un picudo no realizó elección si al transcurrir el tiempo de exposición éste se encontraba en cualquier zona del brazo principal del tubo Y o en la zona de elección. En las Tablas 4 y 6 se muestran los resultados de un análisis, comparando el por ciento de picudos que realizó elección, con el por ciento que no realizó elección, en todos los tratamientos. Se obtuvo

Tabla 5. Comparación del conteo de elección de picudos del pimiento, *A. eugenii*, al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimiento y plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y.

Volátiles	Lado de Elección		χ^2 / p valor
	Volátiles	Aire	
pimiento	19 (70.37%)	8 (29.63%)	4.48 (p=0.0343)
ceb. + pim.	9 (37.50%)	15 (62.50%)	1.50 (p=0.2207)
alba. + pim.	13 (48.15%)	14 (51.85%)	0.04 (p=0.8474)
clav. + pim.	7 (26.92%)	19 (73.08%)	5.54 (p=0.0186)
orég. + pim.	10 (34.48%)	19 (65.52%)	2.79 (p=0.0947)
lim. + pim.	6 (22.22%)	21 (77.78%)	8.33 (p= 0.0039)

Se muestra el conteo de picudos que eligieron el lado de volátiles y que eligieron el lado de aire para cada tratamiento de volátiles. La frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. Los valores de la prueba de χ^2 Pearson para los resultados de volátiles vs. aire de cada tratamiento se muestran junto con el p-valor

Tabla 6. Comparación del conteo de no elección y de elección de picudos del pimiento, *A. eugenii*, al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y.

Volátiles	Eligieron		χ^2 / (p valor)
	No	Si	
pimiento	5 (15.63%)	27 (84.38%)	3.00 (p= 0.7000)
ceb. + pim.	8 (25.00%)	24 (75.00%)	
alba. + pim.	5 (15.63%)	27 (84.38%)	
tag. + pim.	6 (18.75%)	26 (81.25%)	
orég. + pim.	3 (9.38%)	29 (90.63%)	
lim. + pim.	5 (15.63%)	27 (84.38%)	
Total	32 (16.67%)	160 (83.33%)	

Se muestra el conteo de picudos que no eligieron y el conteo de picudos que eligieron [del total de 32 picudos (n)] para cada tratamiento de volátiles. La frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. El valor de la prueba de χ^2 Pearson para el conteo de los picudos que eligieron y el conteo de los que no eligieron, comparando todos los tratamientos se muestra junto con el p-valor.

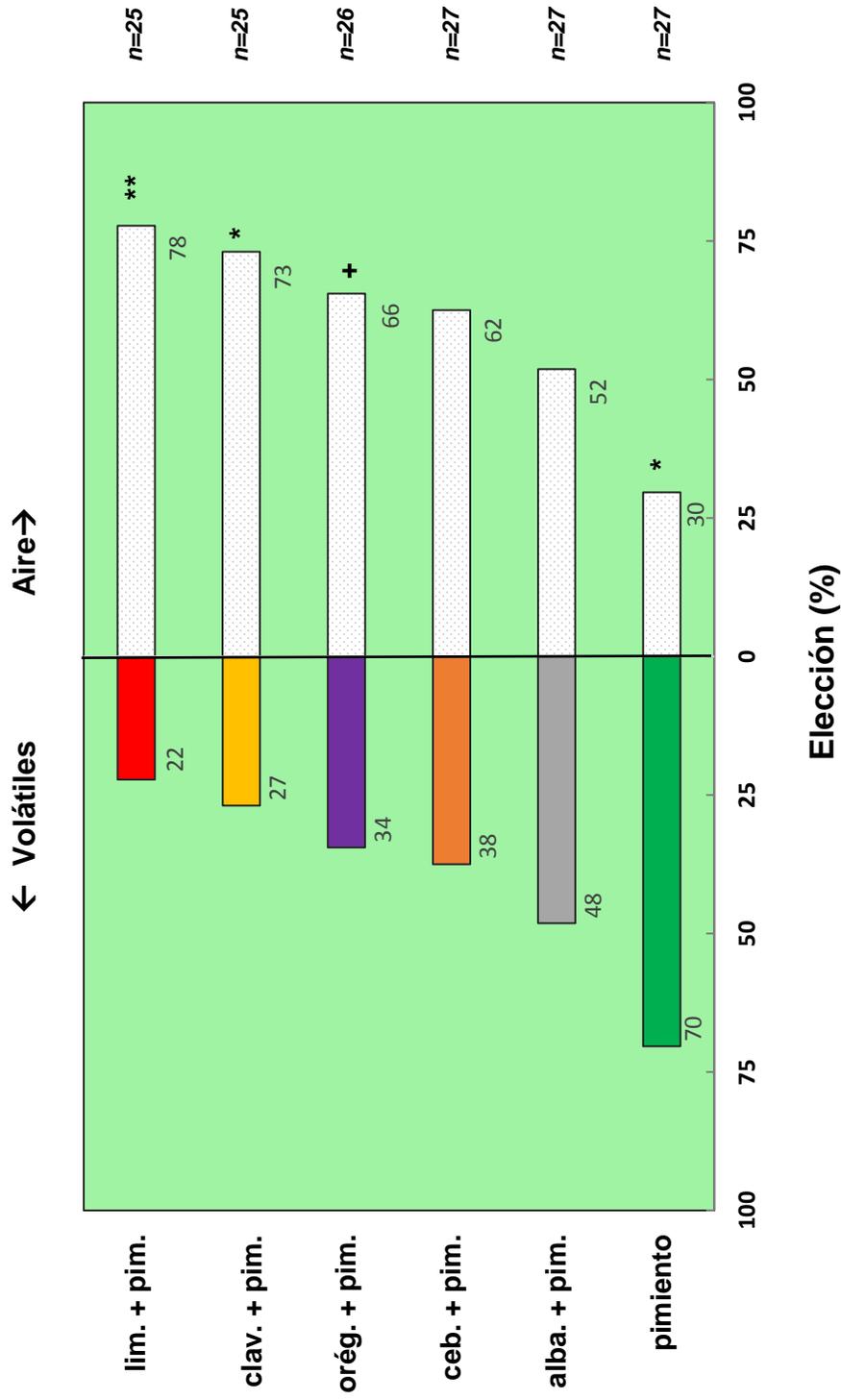


Figura 9. Porcentaje de elección de picudos de pimienta, *A. eugenii*, del lado de volátiles y del lado de aire al ser expuestos a volátiles de material vegetativo de plantas de pimienta y a mezcla de volátiles (material vegetativo de plantas de pimienta y de plantas aromáticas) en un olfatómetro de tubo Y. Se presenta el por ciento de elección del lado de volátiles (barras de color sólido) vs. el por ciento de elección de aire (barras punteadas). Se analizó la población que hizo una elección (n) dentro de una población total de 32 picudos. += $p \leq 0.1$, *= $p \leq 0.05$, **= $p \leq 0.01$, *= $p \leq 0.0001$, ****= $p < 0.0001$ en análisis de χ^2 .**

que no hubo diferencia significativa a través de los tratamientos ($\chi^2= 1.01$, $p= 0.9615$) en el Experimento 1 y tampoco hubo diferencia significativa a través de los tratamientos ($\chi^2=3.00$, $p=0.7000$) en el Experimento 2. Estos resultados nos demuestran que el por ciento de picudos no considerado en los análisis principales (aquellos que no hicieron elección) no varía significativamente según el tratamiento.

Experimentos con Placa Petri

Para los resultados de los experimentos con Placa Petri nos interesa identificar aquellos tratamientos donde un menor por ciento de picudos hizo contacto (químico-recepción de contacto) con el material vegetativo y donde este efecto persiste o se intensifica a través del tiempo. Son estos materiales vegetativos los que consideramos repelentes ya que los picudos evitan contactarlos o los contactan y evitan volver a contactarlos, lo que sucede cuando un insecto no acepta un material vegetativo como huésped.

C. Experimento 3: Efecto de exposición a material vegetativo

En la Tabla 7 y la Figura 10 podemos observar como en el nivel de 5 min. del factor tiempo todos los tratamientos tuvieron un por ciento significativamente menor de picudos haciendo contacto con el material vegetativo respectivo, en comparación con el por ciento no haciendo contacto. En el nivel de 15 min. todos los tratamientos de aromáticas mantuvieron este efecto; el tratamiento de limoncillo tuvo el efecto con mayor significancia (d.s.) seguido de los tratamientos de cebollín y orégano brujo (ambos con $p<0.0001$), luego clavel de perro ($p=0.0004$) y por último albahaca ($p=0.0047$). A los 30 min. también todos los tratamientos de aromáticas tuvieron un menor por ciento de picudos haciendo contacto; limoncillo permanece con el efecto de mayor significancia (d.s.), le siguen cebollín y orégano brujo que también permanecieron en el mismo nivel de significancia (ambos con $p<0.0001$), luego albahaca ($p=0.0004$) y por último clavel de

Tabla 7. Comparación del conteo de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, al ser expuestos a material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en placa Petri.

Tiempo	Material vegetativo	Contacto (material vegetativo)		χ^2 / (p valor)
		Si	No	
5 minutos	pimiento	8 (25.00%)	24 (75.00%)	8.00 (p=0.0047)
	cebollín	2 (6.25%)	30 (93.75%)	24.50 (p<0.0001)
	albahaca	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
	clavel de perro	9 (28.13%)	23 (71.88%)	6.13 (p=0.0133)
	orégano brujo	2 (6.25%)	30 (93.75%)	24.50 (p<0.0001)
	limoncillo	0 (0.00%)	32 (100.00%)	0.00 (d.s.)
15 minutos	pimiento	16 (50.00%)	16 (50.00%)	0.00 (p>0.9999)
	cebollín	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	albahaca	8 (25.00%)	24 (75.00%)	8.00 (p=0.0047)
	clavel de perro	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
	orégano brujo	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	limoncillo	0 (0.00%)	32 (100.00%)	0.00 (d.s.)
30 minutos	pimiento	21 (34.38%)	11 (65.63%)	3.13 (p=0.0771)
	cebollín	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00(p<0.0001)
	albahaca	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
	clavel de perro	7 (21.88%)	25 (78.13%)	10.13 (p=0.0015)
	orégano brujo	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	limoncillo	0 (0.00%)	32 (100.00%)	0.00 (d.s.)
60 minutos	pimiento	28 (87.50%)	4 (12.50%)	18.00 (p<0.0001)
	cebollín	18 (56.25%)	14 (43.75%)	0.50 (p=0.4795)
	albahaca	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
	clavel de perro	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
	orégano brujo	5 (15.63%)	27 (84.38%)	15.13 (p=0.0001)
	limoncillo	0 (0.00%)	32 (100.00%)	0.00 (d.s.)

Se muestra el conteo de picudos que hicieron contacto con el material vegetativo y el conteo de picudos que no hicieron contacto con el material vegetativo [del total de 32 picudos (n)] para cada tratamiento y la frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. Los valores de la prueba de χ^2 Pearson para los resultados de contacto vs. no-contacto de cada tratamiento se muestran junto con el p-valor.

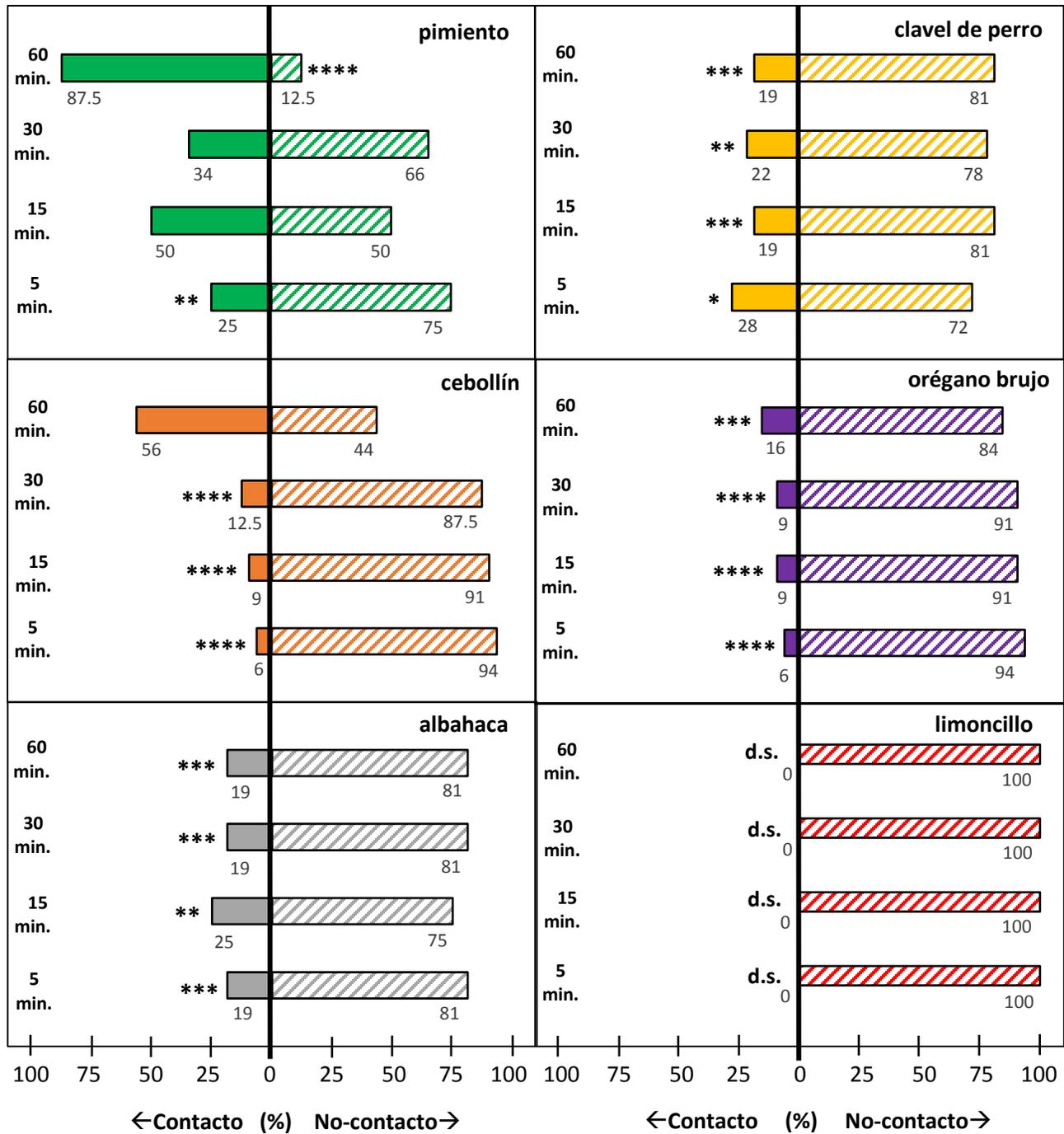


Figura 10. Porcentaje de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas de pimiento y de plantas aromáticas en placa Petri, en distintos tiempos. Se presenta el por ciento de contacto con pimiento (barras verdes), cebollín (barras anaranjadas), albahaca (barras grises), clavel de perro (barras amarillas), e) orégano brujo (barras violetas), limoncillo (barras rojas) vs. por ciento de no-contacto para cada tratamiento (barras rayadas de cada color respectivo). +=p≤0.1, *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001, ****=p<0.0001 y d.s.= diferencia significativa en análisis de χ^2 .

perro ($p=0.0015$). A los 60 min. este efecto persiste para todos los tratamientos de aromáticas exceptuando al tratamiento de cebollín; el efecto de limoncillo fue el de mayor significancia (d.s.) y los efectos de albahaca, clavel de perro y orégano brujo tuvieron el mismo nivel de significancia ($p=0.0004$, $p=0.0004$ y $p=0.0001$ respectivamente). A los 60 min. el tratamiento de cebollín se distingue de los demás tratamientos de aromáticas al tener un por ciento de picudos haciendo contacto con el material vegetativo que no difiere significativamente del por ciento de picudos no haciendo contacto. Con excepción del tratamiento cebollín todos los tratamientos de aromáticas tienen un efecto interpretado como repelente al picudo del pimiento en todos los niveles de tiempo. El cambio del porcentaje de picudos haciendo contacto al pasar de 30 min. a 60 min., en el tratamiento cebollín, nos indica que su efecto repelente se pierde a través del tiempo. Esto puede ser descrito como una *habituación* [disminución en respuesta a un estímulo con la exposición repetida a ese estímulo (Heard, 2000)], a los compuestos repelentes del material vegetativo de cebollín. Esta disminución en respuesta pudo ser causada por una cantidad o intensidad de estímulos atractivos que cancelaban los estímulos repelentes; es posible que los picudos estuvieran atraídos hacia el contenido de agua en la savia del material vegetativo de cebollín (según observaciones personales de los picudos contactando, con su aparato bucal, las partes acuosas del material vegetativo de cebollín). Particularmente el tratamiento de limoncillo tuvo un efecto totalmente marcado, 100.0% no-contacto, en todos los niveles del factor tiempo. El tratamiento de pimiento en los niveles de 15 min. y 30 min. tiene un por ciento de picudos haciendo contacto con el material vegetativo que no difiere significativamente del por ciento no haciendo contacto. Y a los 60 min. este fue el único tratamiento con un por ciento de picudos haciendo contacto significativamente mayor al por ciento no haciendo contacto (87.5%, $p<0.0001$); efecto esperado y distintivo del material vegetativo que corresponde a la principal planta huésped del picudo.

D. Experimento 4: Efecto de exposición a mezclas de materiales vegetativos

1. Contacto con material vegetativo de pimiento

En la Tabla 8 y la Figura 11 se muestran los por cientos de picudos haciendo contacto y no haciendo contacto con el material vegetativo de pimiento al ser expuestos a cada tratamiento (mezcla de material vegetativo de planta aromática respectiva + pimiento). A los 5 min. en todos los tratamientos hubo un por ciento significativamente menor de picudos haciendo contacto con el material vegetativo de pimiento, en comparación con el por ciento no haciendo contacto. Al pasar al nivel de tiempo de 15 min. este efecto permanece para los tratamientos ceb. + pim. (25.0%, $p=0.0047$), clav. + pim (28.1%, $p=0.0133$), lim. + pim. y pimiento (estos dos últimos con 31.3%, $p=0.0339$). En este mismo tiempo, para los tratamientos de alba. + pim. y orég. + pim., el por ciento de contacto con el material vegetativo de pimiento no es significativamente diferente al por ciento de no-contacto. Al pasar al nivel de tiempo de 30 min. en todos los tratamientos, exceptuando el tratamiento de lim. + pim., el por ciento de picudos haciendo contacto con el material vegetativo de pimiento no es significativamente diferente al por ciento de no-contacto. En el caso del tratamiento lim. + pim. el por ciento de picudos haciendo contacto fue ligeramente menor al por ciento no-haciendo contacto ($p=0.0771$). A los 60 min. la mayoría de los tratamientos tuvieron un por ciento de contacto indiferente al por ciento de no-contacto. La excepción es el tratamiento de orég. + pim.; éste pasó a tener un por ciento de picudos, haciendo contacto con el material vegetativo de pimiento, significativamente mayor al por ciento no haciendo contacto (68.8%, $p=0.0339$).

Particularmente en este análisis los tratamientos de clav. + pim. y ceb. + pim. presentan un cambio en el nivel de significancia, del valor p , cada vez que se aumentaba el nivel tiempo hasta llegar a los 30 min. y el tratamiento de pimiento presenta este cambio hasta los 60 min. Al pasar

Tabla 8. Comparación del conteo de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, con material vegetativo de plantas de pimiento al ser expuestos a material vegetativo de plantas de pimiento y a mezcla de material vegetativo (plantas de pimiento y plantas aromáticas) en placa Petri.

Tiempo	Material vegetativo	Contacto (material vegetativo-pimiento)		χ^2 / (p valor)
		Si	No	
5 minutos	pimiento	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00 (p<0.0001)
	ceb. + pim.	5 (15.63%)	27 (84.38%)	15.13 (p=0.0001)
	alba. + pim.	7 (21.88%)	25 (78.13%)	10.13 (p=0.0015)
	tag. + pim.	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00 (p<0.0001)
	orég. + pim.	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	lim. + pim.	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
15 minutos	pimiento	10 (31.25%)	22 (68.75%)	4.50 (p=0.0339)
	ceb. + pim.	8 (25.00%)	24 (75.00%)	8.00 (p=0.0047)
	alba. + pim.	12 (37.50%)	20 (62.50%)	2.00 (p=0.1573)
	tag. + pim.	9 (28.13%)	23 (71.88%)	6.13 (p=0.0133)
	orég. + pim.	14 (43.75%)	18 (56.25%)	0.50 (p=0.4795)
	lim. + pim.	10 (31.25%)	22 (68.75%)	4.50 (p=0.0339)
30 minutos	pimiento	17 (46.88%)	15 (53.13%)	0.13 (p=0.7237)
	ceb. + pim.	13 (40.63%)	19 (59.38%)	1.13 (p=0.2888)
	alba. + pim.	16 (50.00%)	16 (50.00%)	0.00 (p>0.9999)
	tag. + pim.	14 (56.25%)	18 (43.75%)	0.50 (p=0.4795)
	orég. + pim.	19 (59.38%)	13 (40.63%)	1.13 (p=0.2888)
	lim. + pim.	11 (34.38%)	21 (65.63%)	3.13 (p=0.0771)
60 minutos	pimiento	21 (65.63 %)	11 (34.38%)	3.13 (p=0.0771)
	ceb. + pim.	13 (40.63%)	19 (59.38%)	1.13 (p=0.2888)
	alba. + pim.	19 (59.38%)	13 (40.63%)	1.13 (p=0.2888)
	tag. + pim.	18 (56.25%)	14 (43.75%)	0.50 (p=0.4795)
	orég. + pim.	22 (68.75%)	10 (31.25%)	4.50 (p=0.0339)
	lim. + pim.	13 (40.63%)	19 (59.38%)	1.13 (p=0.2888)

Se muestra el conteo de picudos que hicieron contacto y que no hicieron contacto con el material vegetativo de plantas de pimiento [del total de 32 picudos (n)] para cada tratamiento y la frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. Los valores de la prueba de χ^2 Pearson para los resultados de contacto vs. no-contacto de cada tratamiento se muestran junto con el p-valor.

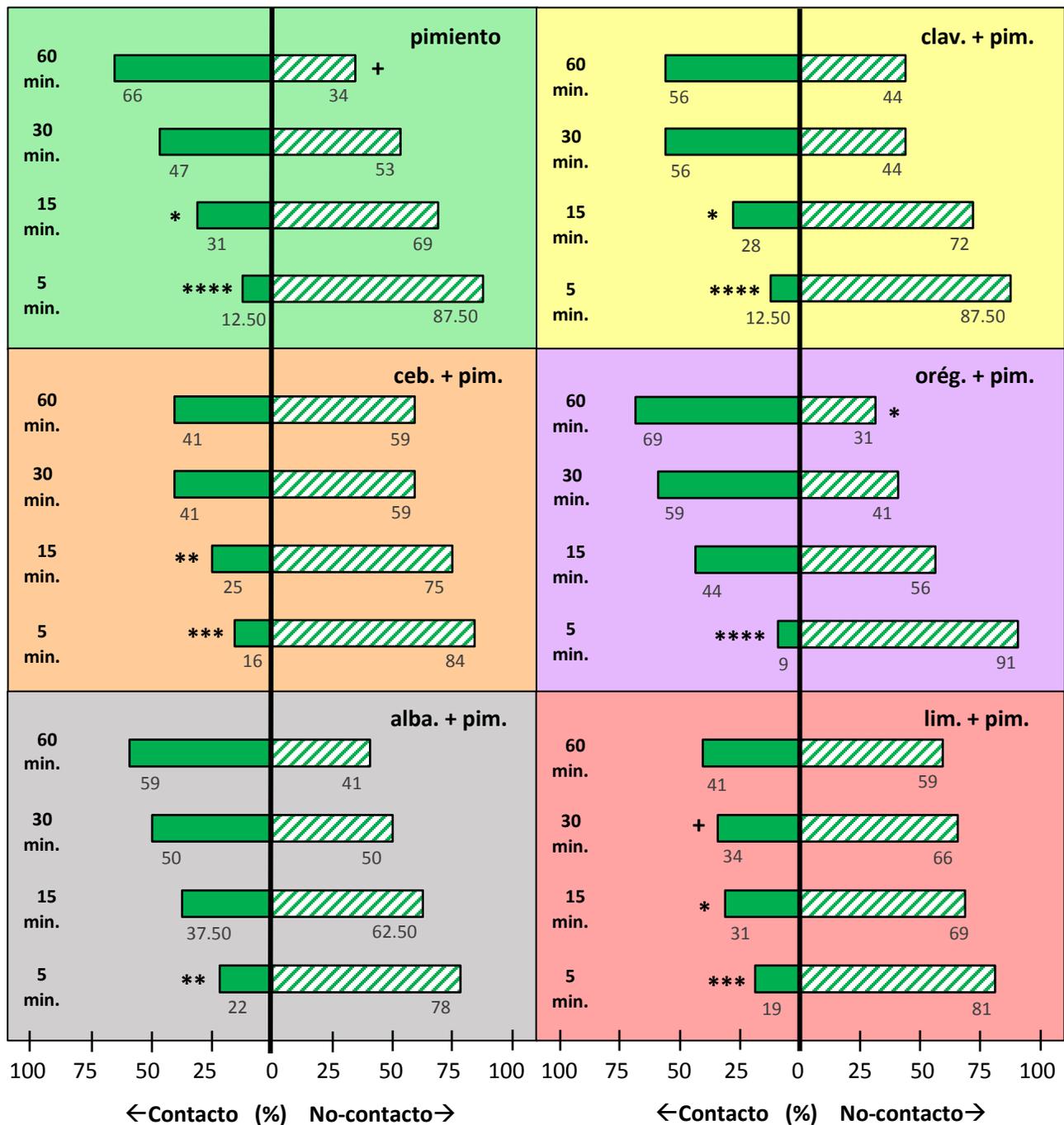


Figura 11. Porcentaje de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas de pimiento en placa Petri, en distintos tiempos. Se presenta el por ciento de contacto con el material vegetativo de pimiento (barras verdes) para los tratamientos pimiento (fondo verde), cebollín + pimiento (fondo anaranjado), albahaca + pimiento (fondo gris), clavel de perro + pimiento (fondo amarillo), orégano brujo + pimiento (fondo violeta), limoncillo + pimiento (fondo rojo) vs. por ciento de no-contacto con el material vegetativo de pimiento (barras rayadas verdes) para cada tratamiento. += $p \leq 0.1$, *= $p \leq 0.05$, **= $p \leq 0.01$, ***= $p \leq 0.001$, ****= $p < 0.0001$ y d.s.= diferencia significativa en análisis de χ^2 .

de 5 min. a 15 min. el por ciento de contacto significativamente menor de pimienta, clav. + pim. y ceb. + pim. ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$ y $p = 0.0001$ respectivamente) pasa a un nivel de significancia menor ($p = 0.0339$, $p = 0.0133$ y $p = 0.0047$ respectivamente), al pasar de 15 min. a 30 min. pasan a tener un por ciento de contacto sin diferencia significativa al por ciento de no-contacto ($p = 0.7237$, $p = 0.4795$ y $p = 0.2888$ respectivamente). Al pasar a los 60 min. el efecto indiferente en los tratamientos clav. + pim. y ceb. + pim. no tuvo cambio y el tratamiento pimienta pasa a tener un por ciento de contacto ligeramente mayor ($p = 0.0771$). Este efecto se puede interpretar como un aumento en escalada, del por ciento de picudos haciendo contacto, correspondiente al aumento en nivel de tiempo. Este aumento en escalada puede indicar una *sensibilización* [aumento gradual de la respuesta a un estímulo con la exposición repetida a ese estímulo (Heard, 2000)] al contacto con el material vegetativo de pimienta. A pesar de que este aumento en escalada, correspondiente al aumento en nivel de tiempo, se da para los tratamientos de pimienta, clav. + pim. y ceb. + pim., podemos describir también que en ningún tratamiento hubo cambios en los niveles de significancia del valor p que indicaran una reducción de picudos haciendo contacto cada vez que se pasaba de un nivel de tiempo menor a uno mayor.

2. Contacto con el material vegetativo de cada aromática

En la Tabla 9 y la Figura 12 se muestran los por cientos de picudos haciendo contacto y no haciendo contacto con el material vegetativo de la planta aromática correspondiente, al ser expuestos a cada tratamiento (mezcla de material vegetativo de la planta aromática + pimienta). En los tratamientos de clav. + pim., de lim. + pim. y de orég. + pim. hubo un por ciento significativamente menor de picudos haciendo contacto con la aromática respectiva en todos los niveles de tiempo. Estos resultados coinciden con los resultados para los tratamientos de clavel de perro, limoncillo y orégano brujo en el Experimento 3 donde también hubo por cientos de contacto

Tabla 9. Comparación del conteo de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto, en distintos tiempos, con material vegetativo de plantas aromáticas al ser expuestos a mezcla de material vegetativo (plantas de pimiento y plantas aromáticas) en placa Petri.

Tiempo	Material vegetativo	Contacto (material vegetativo-aromática)		χ^2 / (p valor)
		Contacto	No-contacto	
5 minutos	ceb. + pim.	10 (31.25%)	22 (68.75%)	4.50 (p=0.0339)
	alba. + pim.	12 (37.50%)	20 (62.50%)	2.00 (p=0.1573)
	tag. + pim.	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00 (p<0.0001)
	orég. + pim.	2 (6.25%)	30 (93.75%)	24.50 (p<0.0001)
	lim. + pim.	2 (6.25%)	30 (93.75%)	24.50 (p<0.0001)
15 minutos	ceb. + pim.	12 (37.50%)	20 (62.50%)	2.00 (p=0.1573)
	alba. + pim.	12 (37.50%)	20 (62.50%)	2.00 (p=0.1573)
	tag. + pim.	2 (6.25%)	30 (93.75%)	24.50 (p<0.0001)
	orég. + pim.	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	lim. + pim.	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00 (p<0.0001)
30 minutos	ceb. + pim.	15 (46.88%)	17 (53.13%)	0.13 (p=0.7237)
	alba. + pim.	8 (25.00%)	24 (75.00%)	8.00 (p=0.0047)
	tag. + pim.	4 (12.50%)	28 (87.50%)	18.00 (p<0.0001)
	orég. + pim.	1 (3.13%)	31 (96.88%)	28.13 (p<0.0001)
	lim. + pim.	6 (18.75%)	26 (81.25%)	12.50 (p=0.0004)
60 minutos	ceb. + pim.	18 (56.25%)	14 (43.75%)	0.50 (p=0.4795)
	alba. + pim.	3 (9.38%)	29 (90.63%)	21.13 (p<0.0001)
	tag. + pim.	5 (15.63%)	27 (84.38%)	15.13 (p=0.0001)
	orég. + pim.	0 (0.00%)	32 (100.00%)	0.00 (d.s.)
	lim. + pim.	5 (15.63%)	27 (84.38%)	15.13 (p=0.0001)

Se muestra el conteo de picudos que hicieron contacto y que no hicieron contacto con el material vegetativo de plantas aromáticas [del total de 32 picudos (n)] para cada tratamiento y la frecuencia relativa por fila, expresada en por ciento, de cada conteo se muestra en paréntesis. Los valores de la prueba de χ^2 Pearson para los resultados de contacto vs. no-contacto de cada tratamiento se muestran junto con el p-valor.

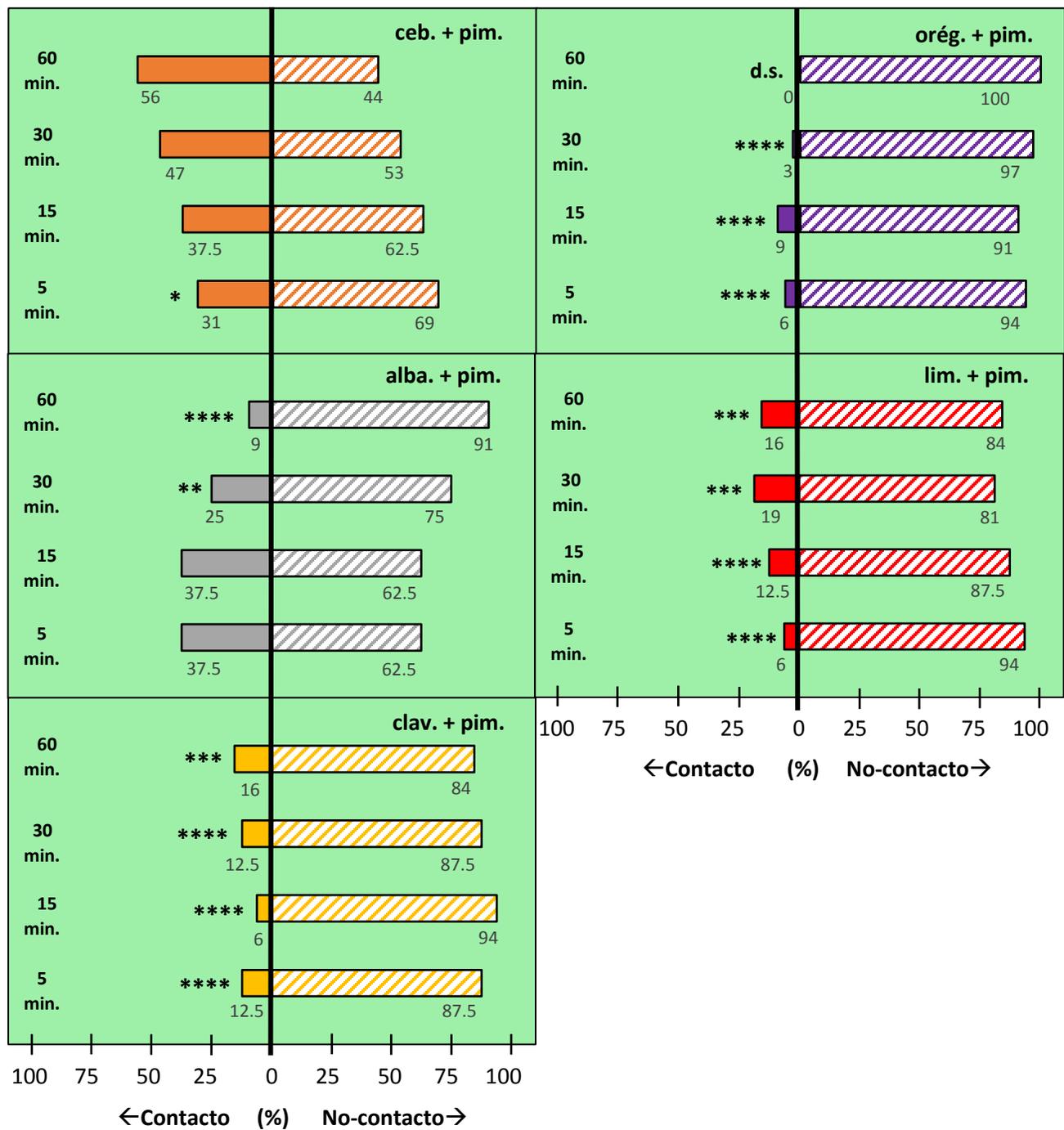


Figura 12. Porcentaje de picudos del pimiento, *A. eugenii*, haciendo contacto y no haciendo contacto con material vegetativo de plantas aromáticas en placa Petri, en distintos tiempos. Se presenta el por ciento de contacto con el material vegetativo de la planta aromática para los tratamientos a) cebollín + pimiento (barras anaranjadas), b) albahaca + pimiento (barras grises), c) clavel de perro + pimiento (barras amarillas), d) orégano brujo + pimiento (barras violetas), e) limoncillo + pimiento (barras rojas) vs. por ciento de no-contacto con el material vegetativo de la planta aromática (barras rayadas de cada color respectivo). += $p \leq 0.1$, *= $p \leq 0.05$, **= $p \leq 0.01$, ***= $p \leq 0.001$, ****= $p < 0.0001$ y d.s.= diferencia significativa en análisis de χ^2 .

significativamente menores en todos los niveles de tiempo. El tratamiento clav. + pim. mantuvo un nivel de significancia alto, del valor p , a los 5 min., los 15 min. y a los 30 min. ($p < 0.0001$ para los tres tiempos); a los 60 min, aunque bajó sutilmente ($p = 0.0001$), también tiene un nivel de significancia alto. En el tratamiento de lim. + pim. el nivel alto de significancia, del valor p , permaneció desde los 5 min. hasta los 15 min. (ambos tiempos con $p < 0.0001$), a los 30 min. bajó ligeramente su nivel de significancia ($p = 0.0004$) y este nivel permaneció a los 60 min. ($p = 0.0001$). En comparación con el tratamiento de limoncillo en el Experimento 3 (Figura 10), a pesar de tener una significancia, del p valor, alta en todos los niveles de tiempo, el efecto de repelencia totalmente marcado no se presenta en el tratamiento lim. + pim. El tratamiento de orég. + pim. tuvo un alto nivel de significancia que permaneció en los 5 min., los 15 min. y los 30 min. ($p < 0.0001$ en los tres tiempos); a los 60 min. aumentó a un efecto totalmente marcado (0.0% picudos haciendo contacto con aromática, (d.s.). Este efecto totalmente marcado a los 60 min. va de la mano de un aumento en contacto con el material vegetativo de pimiento para la misma unidad experimental (Figura 11); donde fue el único tratamiento (de los que contienen material vegetativo de aromática) que presentó un contacto con el material vegetativo de pimiento significativamente mayor. Al considerar también el hecho de que en el Experimento 3 (Figura 10) el efecto de no-contacto totalmente marcado no se presenta a los 60 min. en el tratamiento de orégano brujo sugerimos que en el tratamiento orég. + pim. fue la estimulación hacia el material vegetativo de pimiento la que intensificó el efecto repelente del material vegetativo de orégano brujo. Para el tratamiento de alba. + pim. el por ciento de contacto con aromática pasa de ser indiferente al por ciento de no-contacto a los 5 min. y 15 min., a ser un por ciento significativamente menor (25.0%, $p = 0.0047$) a los 30 min. y a un por ciento significativamente menor con un mayor nivel de significancia (9.38%, $p < 0.0001$) a los 60 min. En comparación con los resultados del tratamiento de albahaca en el

experimento 3 (donde hay un por ciento de contacto significativamente menor en todos los tiempos) aquí el por ciento de contacto (con aromática) fue significativamente menor solo a los 30 min y 60 min. Parece ser que de primera instancia la estimulación hacia el material vegetativo de pimiento cancela el estímulo repelente hacia el material vegetativo de albahaca, pero al pasar del tiempo los picudos presentan *sensibilización* hacia el estímulo repelente de albahaca. El tratamiento de ceb. + pim. fue el único tratamiento que tuvo por cientos de contacto con aromática indiferentes a los por cientos de no-contacto desde el nivel de tiempo de 15 min. hasta el nivel de 60 min. En comparación con los resultados del tratamiento cebollín en el experimento 3 (Figura 10) podemos notar que el material vegetativo de cebollín de forma individual tuvo un efecto repelente que perdura hasta los 30 min de exposición, pero en el tratamiento de ceb. + pim. el efecto repelente al contacto con aromática no se presenta desde los 15 min. Este resultado nos mostró que el estímulo atractivo hacia el material vegetativo de pimiento pudiera cancelar a cierto grado el estímulo repelente hacia el material vegetativo de cebollín de primera instancia (desde los 15 min.) causando que hagan contacto y que luego de establecer contacto con el material vegetativo de cebollín los picudos no reciben una intensidad de estímulos repelentes que evite el contacto de forma significativa e incluso pudiesen tener estímulos que promuevan (en cierto grado) el contacto con el material vegetativo de cebollín (contenido de agua en la savia).

VI. CONCLUSIONES

A. Efecto de volátiles en la elección

Los volátiles de los materiales vegetativos de orégano brujo, de limoncillo y de clavel de perro mostraron un efecto repelente hacia el picudo del pimiento. Las mezclas de los volátiles del material vegetativo de limoncillo y de los volátiles del material vegetativo de clavel de perro con los volátiles del material vegetativo de pimiento también tuvieron un efecto repelente al picudo del pimiento. En el caso del orégano brujo, cuando sus volátiles se mezclaron con los volátiles de pimiento se presentó un efecto sutilmente repelente ($p=0.0947$). Los volátiles de albahaca y de cebollín tuvieron un efecto indiferente en el picudo del pimiento. Y las mezclas de los volátiles de albahaca y de los volátiles de cebollín con los volátiles de pimiento también tuvieron un efecto indiferente en *A. eugenii*. Tal como se esperaba, en base a resultados de estudios previos (Adesso 2007; Velázquez, 2011; Muñiz-Merino et al., 2014) los picudos del pimiento mostraron un comportamiento de atracción hacia los volátiles del material vegetativo de su huésped principal, pimiento (*Capsicum annuum* L. 'Cubanelle') en ausencia de estímulos visuales.

B. Efecto del material vegetativo en el contacto

Los materiales vegetativos de limoncillo, de orégano brujo, de clavel de perro y de albahaca mostraron un efecto repelente al contacto del picudo del pimiento en todos los niveles de tiempo de estudio (5, 15, 30 y 60 min). El efecto repelente al contacto con el material vegetativo de cebollín no persiste al transcurrir del tiempo. Se presentó un efecto repelente a los 5, 15 y 30 min, pero a los 60 min de exposición los picudos no tuvieron un por ciento de contacto que indicara que rechazaban el material vegetativo de cebollín como huésped. Existe la posibilidad de que el contenido de agua o algún/os compuesto/s en la savia del material vegetativo de cebollín imparta estímulos atractivos al picudo del pimiento posterior a la quimiorrecepción de contacto con ésta. El

material vegetativo de limoncillo mostró una naturaleza totalmente repelente al contacto del picudo del pimiento (0.0% contacto) a través de todos los niveles de tiempo de estudio. Al transcurrir los 60 min, el material vegetativo de pimiento fue el único significativamente atractivo al contacto del picudo del pimiento, una respuesta esperada, representando su aceptación como planta huésped.

C. Efecto de unión de materiales vegetativos en el contacto con el material vegetativo de pimiento

Los materiales vegetativos de albahaca (que individualmente resultó repelente), de clavel de perro (que individualmente resultó repelente), de cebollín (que individualmente mostró una repelencia que no persiste al transcurrir del tiempo), y de limoncillo (que individualmente resultó repelente) cuando se unían con el material vegetativo de pimiento en la placa Petri no mostraron repeler el contacto con el material vegetativo de pimiento al transcurrir del tiempo. El efecto repelente no se presentó (es decir, no hubo un rechazo del material vegetativo de pimiento como huésped) a los 15, 30 y 60 min. en el tratamiento albahaca + pimiento y no se presentó a los 30 min. y 60 min en los tratamientos de clavel de perro + pimiento y de cebollín + pimiento. El tratamiento de limoncillo + pimiento mostró un efecto repelente al contacto con el material vegetativo de pimiento en un nivel de tiempo más alto, 30 min. (nivel de tiempo en el cual fue sutilmente repelente; $p=0.0771$); al transcurrir los 60 min. el efecto repelente no se presentó. En el tratamiento de pimiento los picudos mostraron un contacto ligeramente mayor con el material vegetativo ($p=0.0771$) al transcurrir los 60 min., lo que se interpreta como la aceptación (aunque no muy marcada, $p<0.10$) de su planta huésped. De forma general el picudo del pimiento no redujo su contacto con el material vegetativo de pimiento cada vez que se pasaba a un nivel de tiempo mayor en todos los tratamientos del Experimento 4. Esto nos indica que a pesar de que el material

vegetativo de pimienta está unido con el material vegetativo de las aromáticas de estudio (que de forma individual mostraron ser repelentes) los estímulos atractivos del material vegetativo de pimienta son de tal intensidad que son capaces de cancelar (en cierto grado y continuamente) los estímulos repelentes presentes. Esta cancelación de estímulos causa en los picudos la *habituación* (Heard, 2000) a los estímulos repelentes de las aromáticas a la vez que causa la *sensibilización* (Heard, 2000) a los estímulos atractivos del pimienta. El tratamiento que se destaca por lograr mantener un efecto repelente a un nivel más alto de tiempo aún con los estímulos atractivos del material vegetativo de pimienta fue el de limoncillo + pimienta. Ya que en este tratamiento la *habituación* a los estímulos repelentes del material vegetativo de limoncillo y el rechazo del material vegetativo de pimienta como huésped se presentaron en el nivel más alto de tiempo (60 min.). El material vegetativo de orégano brujo (que individualmente resultó repelente) unido con el material vegetativo de pimienta fue el único tratamiento con aromática que presentó un porcentaje significativamente mayor de picudos contactando el material vegetativo de pimienta (efecto logrado a los 60 min.). Los resultados del contacto con aromática (próxima sección) para este mismo tratamiento nos indican que este tratamiento se destaca por presentar una marcada acentuación de los efectos (repelencia y atracción) de cada material vegetativo (orégano brujo y pimienta) al transcurrir los 60 min.

D. Efecto de mezclas de materiales vegetativos en el contacto con el material vegetativo de cada aromática

El efecto repelente hacia el contacto, de *A. eugenii*, con los materiales vegetativos de clavel de perro, limoncillo y orégano brujo se presenta, y mantiene a través de todos los niveles de tiempo, aun cuando estos materiales vegetativos estaban mezclados con el material vegetativo de pimienta en el experimento 4. El efecto repelente impartido por el material vegetativo de limoncillo unido

con el material vegetativo de pimiento es menor al efecto totalmente repelente, en todos los niveles de tiempo, cuando se estudió individualmente. Los estímulos atractivos hacia el material vegetativo de pimiento reducen (o cancelan a cierto grado) los estímulos repelentes al contacto con el material vegetativo de limoncillo. En el tratamiento de material vegetativo de orégano brujo unido con el material vegetativo de pimiento el picudo presentó *sensibilización* a los estímulos repelentes del orégano brujo al pasar del tiempo, mostrando un efecto totalmente repelente al transcurrir 60 min. Para este mismo tiempo en este mismo tratamiento, hubo un contacto significativamente mayor con el material vegetativo de pimiento; efecto que se describe como “push-pull”, ya que la estimulación atractiva al contacto con el material vegetativo de pimiento y la estimulación repelente al contacto con el material vegetativo de orégano brujo se intensificaron la una a la otra.

Se interpreta que la atracción al material vegetativo de pimiento de primera instancia reduce (o cancela a cierto grado) el estímulo repelente al contacto con los materiales vegetativos de albahaca (hasta los 15 min.) y de cebollín (desde los 15 min.). Al pasar del tiempo (30 min. y 60 min.), luego de contactar el material vegetativo de albahaca los picudos presentan *sensibilización* a los estímulos repelentes al contacto con esta aromática. Luego de establecer contacto con el material vegetativo de cebollín los picudos no reciben una intensidad de estímulos repelentes que evite el contacto de forma significativa; es posible que estos reciban estímulos impartidos por la savia del cebollín que promuevan el contacto con esta aromática.

E. Posible efecto en el campo

1. Efecto de volátiles

Considerando que los volátiles de una misma área en el espacio viajan en el aire como “bolsillos de olores” que son interceptados por el insecto podríamos describir teóricamente como

los efectos encontrados se podrían traducir a nivel de campo. El efecto de los volátiles individuales de cada cultivo aromático de estudio lo podemos comparar con el efecto que tendrían los volátiles de una siembra de aromática sembrada adyacente una siembra de pimiento o de un borde denso de aromática (muchas filas) rodeando una siembra de pimiento ya que se esperaría que el picudo intercepte en un “bolsillo de olor”, proveniente de ese punto en el espacio, una gran cantidad de los volátiles de tal aromática. El efecto de los volátiles de cada aromática de estudio mezclados con los volátiles de pimiento, en teoría, lo podemos comparar con el efecto de los volátiles de aromáticas sembradas de forma intercalada en una siembra de pimiento, donde los volátiles de una misma área en el espacio se mezclarían fácilmente y el insecto interceptaría la mezcla de volátiles. En base a los resultados del efecto de los volátiles individuales se esperaría que, si se hace una siembra de los cultivos limoncillo, clavel de perro u orégano brujo al lado de una siembra de pimiento o si se siembran estos cultivos como borde en una siembra de pimiento, se presentase un efecto repelente impartido por sus volátiles que pudiera desviar al picudo del pimiento en búsqueda de su huésped (*Capsicum annuum* ‘Cubanelle’). Esto pudiera retrasar la llegada de *A. eugenii* a la siembra de pimiento. Y en base a los resultados del efecto de la mezcla de los volátiles de cada una de estas tres aromáticas con los volátiles de pimiento se esperaría que si alguna de estas aromáticas fuese sembrada de forma intercalada en una siembra de pimiento también se presentase un efecto repelente; efecto que pudiese evitar o reducir el aterrizaje del picudo.

2. Efecto de material vegetativo

Teóricamente el efecto obtenido al exponer a los picudos al material vegetativo de cada aromática de estudio lo podemos comparar con el efecto que se obtendría si el picudo en búsqueda de huésped es atraído por ciertos estímulos (por ejemplo: luz, color) a aterrizar; pero contacta (quimio-recepción de contacto) una o varias plantas que no son su huésped. Podemos tener una

idea de cómo el picudo se comportaría en un ambiente con estas plantas no-huéspedes si este no pudiera moverse de allí. Esto podría suceder si el picudo aterrizara en una siembra de aromática sembrada cercana a una siembra de pimiento o en un borde de plantas aromáticas que rodea una siembra de pimiento. En teoría, el efecto obtenido al exponer a los picudos al material vegetativo de cada aromática de estudio, mezclado con el material vegetativo de pimiento, lo podemos comparar con el efecto que se obtendría si el picudo hiciera múltiple contacto (con planta huésped y planta no-huésped); lo que pudiera suceder si se intercalan las plantas aromáticas en la siembra de pimiento.

En base a los resultados del efecto de los materiales vegetativos individuales si *A. eugenii* aterrizara en una siembra, o borde rodeando siembra de pimiento, de las siguientes aromáticas: albahaca, clavel de perro, orégano brujo o limoncillo se esperaría un efecto repelente al contacto con éstas. Se esperaría una mayor repelencia al contacto impartida por el limoncillo. Si aterrizara en una siembra, o borde rodeando siembra de pimiento, de la aromática cebollín se esperaría una repelencia al contacto con ésta que pierde su efecto al pasar del tiempo; incluso podemos pensar que si los picudos estuviesen sedientos buscarían hidratarse con la savia del cebollín (esta savia puede quedar expuesta si las hojas se parten por el impacto del viento).

En base a los resultados del efecto de las mezclas de materiales vegetativos de cada aromática de estudio con el material vegetativo de pimiento esperaríamos que si el picudo del pimiento aterrizara en una siembra de pimiento intercalada con las aromáticas clavel de perro, limoncillo u orégano brujo se presentase una repelencia al contacto con estas aromáticas. Y se esperaría que la repelencia al contacto con estas aromáticas permaneciera a través del tiempo (efecto desde los 5 min. hasta los 60 min. en los ensayos en placa Petri). Si la siembra estuviera intercalada con albahaca se esperaría que el efecto repelente al contacto con esta aromática se presentase al pasar

del tiempo luego de la experiencia de quimiorrecepción de contacto (efecto desde los 30 min. en ensayos en placa Petri). Si la siembra estuviera intercalada con cebollín no se esperaría un efecto repelente al contacto con esta aromática.

Estos efectos de repelencia al contacto con aromáticas a su vez pudieran causar un efecto de repelencia al contacto con las plantas de pimiento en una siembra intercalada. En base a los resultados esto se pudiera esperar en siembras intercaladas con clavel de perro, cebollín y limoncillo. Es de esperarse que al pasar del tiempo los estímulos atractivos del contacto con el pimiento cancelen los estímulos repelentes de estas aromáticas. Si la aromática intercalada es clavel de perro o cebollín se esperaría que repeliera el contacto con el pimiento solo de primera instancia (hasta los 15 min. en ensayos en placa Petri). Si la aromática intercalada es limoncillo se esperaría que repeliera por más tiempo el contacto con pimiento (hasta los 30 min. en ensayo de placa Petri).

F. Recomendaciones de trabajo futuro

Se recomienda realizar ensayos de comportamiento del picudo del pimiento a nivel de laboratorio con mayor diversidad de cultivos no-huéspedes. También se recomienda realizar ensayos de comportamiento de larvas de insectos que causan daño a órganos subterráneos de las plantas (ej: el piche de la batata, *Cylas formicarus* var. *elegantulus* Summers).

Otra recomendación es realizar acuerdos colaborativos entre las facultades de Ciencias Agrícolas y de Ingeniería de la UPR-RUM para el diseño y validación de equipo de olfatometría de insectos por parte de expertos en ingeniería. De esta forma se pudieran utilizar equipo de olfatometría con la capacidad de estudiar plantas completas y también equipo de olfatometría para el estudio de insectos que causan daño a órganos subterráneos de las plantas.

Se recomienda como estudio complementario la identificación de compuestos volátiles por cromatografía de gases acoplada a detección electroantenográfica, donde se utiliza la sensibilidad olfatoria del insecto para determinar qué químicos específicos el insecto puede oler dentro de mezclas complejas de compuestos. Se podrían realizar internados investigativos en “USDA Forest Service Southern Research Station” en Louisiana, E.U. donde tienen este equipo. También se pudiera hacer un acuerdo colaborativo entre las facultades de Ciencias Agrícolas y de Química de la UPR-RUM para diseñar el equipo de detección electroantenográfica y acoplarlo al equipo de cromatografía de gases existente.

Se recomienda estudiar los extractos de los cultivos cuyo material vegetativo resultó repelente para determinar su efecto como repelentes botánicos. Además, se recomienda estudiar el efecto de las estructuras físicas de los materiales vegetativos en el contacto. También estudiar el porcentaje de mortalidad de picudos de pimiento al consumir la savia del cebollín. Y se recomienda el estudio de los cultivos que resultaron repelentes (por medio de sus volátiles y/o material vegetativo) a nivel de campo con siembras intercaladas, siembras de borde y arreglo “repele-atrae” (“push-pull”). De esta forma se pueden obtener resultados representativos de su efecto en campo, donde entrarían otros factores en juego (ej: densidad del follaje del cultivo, otros volátiles, otros estímulos de luz y color, etc.).

Literatura citada

Abreu, E. y C. Cruz. 1985. The occurrence of the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 69: 223-224.

Abreu, E. y A. Armstrong. 2002. Daño causado por el picudo del pimiento. En: *Prácticas para el Manejo Integrado del Picudo del Pimiento en Puerto Rico*, ed. Pantoja A., Oficina de Publicaciones, Estación Experimental Agrícola, San Juan, P.R. pp. 18-19.

Adesso, K.M. 2007. Host location and utilization by the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano. Disertación para el grado de Doctora en Filosofía. University of Florida.

Adesso, K.M., H.J. McAuslane, P.A. Stansly y D.J. Schuster. 2007. Host-marking by female pepper weevils, *Anthonomus eugenii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 125:269-276.

Adesso, K.M., H.J. McAuslane y H.T. Alborn. 2011. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 138:1-11.

United States Department of Agriculture, Agriculture Research Service. 2016. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, Peppers, sweet, green, raw. Tomado de: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3069> [fecha de acceso: agosto 2017].

Amarawardana, L., P. Bandara, V. Kumar, J. Petterson, V. Ninkovic y R. Glinwood. 2007. Olfactory response of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) to volatiles from leek and chive: Potential for intercropping with sweet pepper. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 57:87-91.

Andersson, M.N., C. Löfstedt y R.D. Newcomb. 2015. Insect olfaction and the evolution of receptor tuning. *Frontiers in Ecology and Evolution* 3(53):1-14.

Anitha, S., V.L. Geethakumari y G. Raghavan Filial. 2001. Effect of intercrops on nutrient uptake and productivity of chilli-based cropping system. *Journal of Tropical Agriculture* 39:60-61.

- Armstrong, A. 2002. Biología y descripción del picudo del pimiento. En: Prácticas para el Manejo Integrado del Picudo del Pimiento en Puerto Rico, Pantoja A. ed., Oficina de Publicaciones, Estación Experimental Agrícola, San Juan, P.R. pp:15-17.
- Armstrong, A. y I. Cabrera. 2005. Insectos que atacan al pimiento. En: Conjunto tecnológico para la producción de pimiento: tipos ‘Cubanelle’ y ‘Campana’. Oficina de Publicaciones, Estación Experimental Agrícola, San Juan, P.R. pp.51-59.
- Arimura, G., K. Matsui y J. Takabayashi. 2009. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volátiles: Proximate factors and their ultimate functions. *Plant and Cell Physiology* 50(5):911-923.
- Banks, J.E. y B. Ekbom. 1999. Modelling herbivore movement and colonization: pest management potential of intercropping and trap cropping. *Agricultural and Forest Entomology* 1:165-170.
- Bernays, E.A. y R.F. Chapman. 2000. A neurophysiological study of sensitivity to a feeding deterrent in two sister species of *Heliothis* with different diet breadths. *Journal of Insect Physiology* 46(6):905-912.
- Bernays, E. y R. Chapman. 2017a. Chemoreception-specialized chemosensory structures. En: Encyclopædia Britannica. Tomado de:<https://www.britannica.com/science/chemoreception/Specialized-chemosensory-structures> [fecha de acceso: noviembre 2017].
- Bernays, E. y R. Chapman. 2017b. Chemoreception-finding and recognizing food. En: Encyclopædia Britannica. Tomado de: Tomado de: <https://www.britannica.com/science/chemoreception/Finding-and-recognizing-food>
- Botcher H. 1965. Miracle drugs. Zora, Zagreb. pp. 23–139.
- Bruce, J.A. y J.A. Pickett. 2011. Perception of plant volatiles blends by herbivorous insects-Finding the right mix. *Phytochemistry* 72:1605-1611.
- Brutton, B.D. 1989. Relationships between pepper weevil and internal mold of sweet pepper. *Plant Disease* 73(2):170-173.
- Bruyne, M., Foster K. y J.R. Carlson. 2001. Odor coding in the *Drosophila* antenna. *Neuron* 30:537-552.

Bugg, R.L. 1990. Farmspacing with insectary plants. *Permaculture Activist*. Summer. p. 1, 6-9.

Bugg, R.L. y C. Waddington. 1994. Using cover crops to manage arthropods of orchards: A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 50(1):11-28.

Cabrera, I., E. Abreu, A. Armstrong y A. Pantoja. 2002. Integración del agroecosistema y manejo integrado del picudo del pimiento en Puerto Rico. En: *Prácticas para el Manejo Integrado del Picudo del Pimiento en Puerto Rico*, Pantoja A. ed., Oficina de Publicaciones, Estación Experimental Agrícola, San Juan, P.R. pp. 44-55.

Cabrera, I., G. Fornaris, E. Rosa y A. Vélez. 2011. Evaluación del daño de *Helicoverpa zea* y *Anthonomus eugenii* en diferentes variedades de pimiento de cocinar (Resumen) Sociedad Puertorriqueña de Ciencias Agrícolas. Reunión Científica Anual, Ponce, Puerto Rico.

Cabrera, I. y A.L. Vélez. 2006a. Manejo de las poblaciones de *Thrips tabaci* L. (Thysanoptera:Thripidae) y *Liriomyza trifolii* B. (Diptera:Agromyzidae) en cebolla con cultivos acompañantes. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 90(1-2):125-128

Cabrera, I. y A.L. Vélez. 2006b. Cultivos acompañantes e insecticidas para controlar las poblaciones de *Thrips tabaci* L. y *Liriomyza trifolii* B. en cebolla. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 90(1-2):115-123

Capinera, J. L. 2002. Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences. Tomado de: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN55500.pdf> [fecha de acceso: agosto 2015].

Chapman, R.F. 1982. Regulation of food intake by phytophagous insects. En: *Exogenous and Endogenous Influences on Metabolic and Neural Control*, A.D.F. Addink, N. Spronk eds., 1:19-30. Oxford: Pergamon.

Chapman, R.F. y E.A. Bernays. 1989. Insect behavior at the leaf surface and learning as aspects of host plant selection. *Experientia* 45:215-22.

Chapman, R.F. 2003. Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 48:455-84.

- Chapman, R. 2008. Taste and contact chemoreception. En: Encyclopedia of Entomology, Capinera J.L. ed. Springer, Dordrecht. pp. 3701-3705.
- Chen, B., J. Wang y L. Zhang. 2011. Effect of intercropping pepper with sugarcane on populations of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids. Crop Protection 30(3):253-258.
- Correa, E.G. 1999. Enemigos naturales y distribución del picudo del pimiento, *Anthonomus eugenii* Cano Coleoptera Curculionidae en Puerto Rico. Tesis para el grado de Maestría en Ciencias. Universidad de Puerto Rico en Mayagüez.
- De Costa, W.A.J.M. y M.K.K.W. Perera. 1998. Effects of bean population and row arrangement on the productivity of chilli/dwarf bean (*Capsicum annuum/Phaseolus vulgaris* L.) intercropping in Sri Lanka. Journal of Agronomy and Crop Science 180:53–58.
- Dicke, M. y I.T. Baldwin. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: Beyond the ‘cry for help’. Trends in Plant Science 15(3):167-175.
- Departamento de Agricultura, División de Estadísticas Agrícolas. 2015. Estadísticas del Ingreso Bruto Agrícola Preliminares 2014-2015. Tomado de: <http://www2.pr.gov/agencias/Agricultura/estad%C3%ADsticas/Documents/INGRESO%20BRUTO%20AGRICOLA.pdf> [fecha de acceso: noviembre 2017].
- Eller, F.J., R.J. Bartelt, B.S. Shasha, D.J. Schuster y D.G. Riley. 1994. Aggregation pheromone for the pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): identification of field activity. Journal of Chemical Ecology 20:1537-1555.
- Elmore, J.C., A.C. Davis y R.E. Campbell. 1934. The pepper weevil. U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin 447:1-28.
- Fajinmi, A.A. y C.A. Odebode. 2010. Evaluation of maize/pepper intercropping model in the management of pepper veinal mottle virus, genus *Potyvirus*, family Potyviridae on cultivated pepper (*Capsicum annuum* L.) in Nigeria. Archives of Phytopathology and Plant Protection 43(15):1524-1533.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. Biological interactions between plants and insects. Recent Advances in Phytochemistry 10:1-40.

Finch, S. y R.H. Collier. 2000. Host-plant selection by insects- a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96:91-102.

Fisher, C. y T.R. Scott. 1997. Flavour Compounds. En: Food flavours biology and chemistry. The Royal Society of Chemistry, UK. pp. 15-55.

Frank, S.D. 2010. Biological control of arthropod pests using banker plant systems: Past progress and future directions. *Biological Control* 52(1):8-16.

Gershenzon, J. 1994. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *Journal of Chemical Ecology* 20(6):1281-1328.

Gordon, R. 1984. Control químico y biología del picudo del pimiento, *Anthonomus eugeni* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en Puerto Rico. Tesis de maestría, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez.

Gordon, R. y A. Armstrong. 1990. Biología del picudo del pimiento, *Anthonomus eugeni*, Cano (Coleoptera: Curculionidae), en Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 74(1):69-73.

Heard, T.A. 2000. Concepts in insect host-plant selection behavior and their application to host specificity testing. Proceedings: Host specificity testing of exotic arthropod biological control agents: The Biological Basis for Improvement in Safety. Tomado de: <https://www.invasive.org/publications/xsymposium/proceed/for4.pdf> [fecha de acceso: septiembre 2015].

Hirao, T. y N. Arai. 1991. On the role of gustatory recognition in host-plant selection by the silkworm, *Bombyx mori* L. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 35(3):197-206.

Huang, N., A. Enkegaard, L.S. Osborne, P.M.J. Ramakers, G.J. Messelink, J. Pijnakker y G. Murphy. 2011. The banker plant method in biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 30(3):259-278.

Hulugalle, N.R. y S.T. Willatt. 1987. Seasonal variation in the water uptake and leaf water potential of intercropped and monocropped chillies. *Experimental Agriculture* 23:273-282.

- Hussein, M.Y. y N. Abdul Samad. 1993. Intercropping chilli with maize or brinjal to suppress populations of *Aphis gossypii* Glov., and transmission of chilli viruses. *International Journal of Pest Management* 39(2):216-222.
- Iacovone, A., A.S. French, F. Tellier, A. Cusumano, G. Clément, C. Gaertner, E. Conti, G. Salerno y F. Marion-Poll. 2016. The role of contact chemoreception in the host location process of an egg parasitoid. *Journal of Insect Physiology* 91-92:63-75.
- Inoue, M., S. Hayashi y L. E. Craker. 2017. Culture, history and applications of medicinal and aromatic plants in japan, En: *Aromatic and medicinal plants - Back to nature*, El-Shemy ed., H.A. InTech, Tomado de: <https://www.intechopen.com/books/aromatic-and-medicinal-plants-back-to-nature/culture-history-and-applications-of-medicinal-and-aromatic-plants-in-japan> [fecha de acceso: noviembre 2017].
- In-Kyung, K., A.M. Abd El-Aty, S.Ho-Chul, H. Burm-Lee, K. In-Seon y S. Jae-Han. 2007. Analysis of volatile compounds in fresh healthy and diseased peppers (*Capsicum annuum* L.) using solvent free solid injection coupled with gas chromatography-flame ionization detector and confirmation with mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 45(3):487-494.
- Kabura, B.H., B. Musa y P.E. Odo. 2008. Evaluation of the yield components and yield of onion (*Allium cepa* L.)–pepper (*Capsicum annuum* L.) intercrop in the Sudan Savanna. *Journal of Agronomy* 7(1): 88-92.
- Kahn, B. 2010. Intercropping for field production of peppers. *HortTechnology* 20(3):530-532.
- Khan, Z.R., C.A. Midega y A.M. Hooper. 2010. Exploiting phytochemicals for developing a push-pull crop protection strategy for cereal farmers in Africa. *Journal of Experimental Botany* 61(15):4185-4196.
- Landis, D.A., S.D. Wratten y G.M. Gurr. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology* 45:175-201.
- Larue-KontiĆ, A.A.C., R.A. Raguso y R.R. Junker. 2016. Experimental manipulation of floral scent bouquets restructures flower-visitor interactions in the field. *Journal of Animal Ecology* 85(2):396-408.
- Luo Lin-er, van Loon JJA y L.M. Schoonhoven. 1995. Behavioural and sensory responses to some neem compounds by *Pieris brassicae* larvae. *Physiological Entomology* 20(2):134-140.

- Magdalena, R. y L. Serrano. 1997. Efecto de extractos botánicos sobre el picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano) Resultados preliminares en El Salvador. *Agronomía Mesoamericana* 8(1):99-107.
- Mallangouda, B., G.S. Sulikeri, B.G.Murthy y N.C. Prathibha. 1995. Productivity and economics of chilli (*Capsicum annuum*)-based intercropping systems under different fertility levels. *Indian Journal of Agronomy*. 40:502–504.
- Matsui, K. 2006. Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* 9(3):274–280.
- Mendez, J. 2014. Los compuestos químicos, esencia y aroma de las plantas. *ContactoS* 92:21-25.
- Muñiz-Merino M., J. Cibrián-Tovar, C. Hidalgo-Moreno, N. Bautista-Martínez, H. Vaquera-Huerta y C. Aldama-Aguilera. 2014. Compuestos volátiles que atraen al picudo (*Anthonomus eugenii* Cano) del chile (*Capsicum* spp.) y presentan sinergia con su feromona de agregación. *Agrociencia* 48:819-832.
- Nafziger, T.D. y H.Y. Fadamiro. 2011. Suitability of some farmscaping plants as nectar sources for the parasitoid wasp, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae): Effects on longevity and body nutrients. *Biological Control* 56(3):225-229.
- National Agriculture Statistics Service. 2014. 2012 census of agriculture, Puerto Rico, island and municipio data. Tomado de: http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2012/Full_Report/Outlying_Areas/prv1.pdf [fecha de acceso: septiembre 2016].
- Olasantan, F.O., A.W. Salau y E.E. Onuh. 2007. Influence of cassava (*Manihot esculenta*) intercrop on growth and fruit yields of pepper (*Capsicum* spp.) in south-western Nigeria. *Experimental Agriculture* 43:79–95.
- Osborne, L.S., Z. Landa, D.J. Taylor y R.V. Tyson. 2005. Using banker plants to control insects in greenhouse vegetables. *Proceedings of the 118th Annual Meeting of the Florida State Horticultural Society* 118:127-128.
- Pare, P.W. y J.H. Tumlinson. 1997. De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiology* 114:1161–1167.
- Pare, P.W. y J.H. Tumlinson. 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology* 121(2):325-332.

- Parolin, P., C. Bresch y N. Desneux. 2012. Secondary plants used in biological control: A review. *International Journal of Pest Management* 58(2):91–100.
- Patrock, R.J. y D.J. Schuster. 1992. Feeding, oviposition, and development of the pepper weevil (*Anthonomus eugenii* Cano), on selected species of Solanaceae. *International Journal of Pest Management* 38(1):65-69.
- Patrock, R.J., D.J. Schuster y E.R. Mitchell. 1992. Field evidence for an attractant produced by the male pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 75:138-144.
- Petrovska, B.B. 2012. Historical Review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Review* 6(11):1-5.
- Prabhakar, B.S. y V. Shukla. 1990. Crop land use efficiency in sequential intercropping systems with vegetables. *Indian Journal of Horticulture* 47(4):427–430.
- Ratnadass, A., P. Fernandes y J. Avelino. 2012. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: A review. *Agronomy Sustainable Development* 32:273–303.
- Reineccius. 2005. An Overview of flavor perception. En: *Flavor Chemistry and Technology*. Taylor and Francis Group, FL. pp. 3-22.
- Rifell, J. y J. Hildebrand. 2016. Adaptative processing in the insect olfactory system. En: *The ecology of animal senses: Matched filters for economical sensing*, Von der Emde G., E. Warrant eds. Springer International Publishing, Switzerland. pp. 3-24.
- Riley, D. y A. N. Sparks. 1995. The pepper weevil and its management. Publicación L-5069. AgriLIFE EXTENSION, Texas A&M System.
- Roades, D.F. 1983. Herbivore population dynamics and plant chemistry. En: Denno RF, McClure MS, eds. *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. New York. pp.155-220.
- Rodríguez-Leyva, E. 2006. Life history of *Triaspis eugenii* Wharton and Lopez-Martinez (Hymenoptera: Braconidae) and evaluation of its potential for biological control of pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). Disertación para el grado de Doctor en Filosofía. University of Florida, USA.

Rossini, C. y A. González. 2010. Alomonas, feromonas, kairomonas. Uruguay Ciencia 10:26-27.

Rusell, R.K., P.H. Dalton y P.A.S. Breslin. 2008. Flavor interactions at the sensory level. En: Flavor Perception, Taylor A.J. y D.D. Roberts eds. Blackwell Publishing, UK pp. 228-249.

Sanderson, J.P. y J.P. Nyrop. 2008. Development of a banker plant system for biological control of thrips in greenhouses. Disponible en: <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/209136.htm> [fecha de acceso: julio 2015].

Schuster, D. 2007. Suppression of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera:Curculionidae) pepper fruit infestation with releases of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera:Pteromalidae). Journal of Biocontrol Science and Technology 17(4):345-351.

Shields, V.D.C. y B.K. Mitchell. 1995a. Sinigrin as a feeding deterrent in two crucifer-feeding, polyphagous lepidopterous species and the effects of feeding stimulant mixtures on detergency. Philosophical Transactions of the Royal Society London B 347:439-446.

Shields, V.D.C y B.K. Mitchell. 1995b. Responses of maxillary styloconic receptors to stimulation by sinigrin, sucrose and inositol in two crucifer-feeding polyphagous lepidopterous species. Philosophical Transactions of the Royal Society London B 347:447-457.

Shields, V.D.C. y B.K. Mitchell. 1995c. The effect of phagostimulant mixtures on deterrent receptor(s) in two-crucifer-feeding, polyphagous lepidopterous species. Philosophical Transactions of the Royal Society B 347:459-464.

Simpson, S.J. 1995. Regulation of a meal: chewing insects. En: Regulatory Mechanisms in Insects Feeding, Chapman R.F. y G. de Boer eds. Springer, Boston, MA. pp.137-156.

Sparks, J.T., J.D. Bohbot, J.C. Dickens. 2015. Olfactory disruption: Toward controlling important insect vectors of disease. Progress in Molecular Biology and Translational Science 130:81-108.

Städler, E.1984. Contact Chemoreception. En: Chemical Ecology of Insects. Bell W.J. y R.T. Cardé eds., Springer, Boston, MA. pp.3-35.

Tilman, D., K.G. Cassman y P.A. Matson. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418:671–677.

Tucakov, J. 1971. Healing with plants – phytotherapy. Culture, Beograd: Culture pp. 180–90.

Universidad Nacional de Costa Rica, Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas. 2018. Manual de Plaguicidas de Centroamérica, Base de Datos. En: <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu> (fecha de acceso: mayo 2018)

Unisicker, S., G. Kunert y J. Gershenzon. 2009. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology*. 12(4):479-485.

Uriza-Avila, D.E., A. Rebolledo-Martínez y L. Rebolledo-Martínez. 2005. Short cycle crops intercropped with pineapple: An option to increase productivity. *Acta Horticulturae* 666:287–294.

Vantol R.W.H.M., J.H. Visser y M.W. Sabelis. 2002. Olfactory responses of the vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*, to tree odours. *Physiological Entomology* 27:213-222.

Vattala, H.D., S.D. Wratten, C.B. Phillips y F.L. Wäckers. 2006. The influence of flower morphology and nectar quality on the longevity of a parasitoid biological control agent. *Biological Control* 39(2):179-185.

Velázquez, J.C. 2011. Compuestos volátiles que median la interacción entre *Anthonomus eugenii* Cano y *Capsicum annuum* L. Tesis para el grado de Doctor en Ciencias. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Texcoco, estado de México.

Webster, B., Bruce, T., Dufour, S., Birkemeyer, C., Birkett, M., Hardie, J. y J. Pickett, 2008. Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid, *Aphis fabae*. *J. Chem. Ecol.* 34: 1153-1161.

Webster, B., S. Gezan, T. Bruce, J. Hardie y J. Pickett. 2010. Between plant and diurnal variation in quantities and ratios of volatile compounds emitted by *Vicia faba* plants. *Phytochemistry* 71(1):81-89.

Wiert, C. 2006. Ethnopharmacology of medicinal plants. New Jersey: Humana Press pp. 1-50.

Zhang, Z., X. Sun y Z. Luo. 2013. The manipulation mechanism of push-pull habitat management strategy and advances in its application. *Acta Ecologica Sinica* 33(2):94-101.

Zheljazkov, V.D. y L.E. Craker. 2016. Overview of medicinal and aromatic crops. En: *Medicinal and aromatic crops: Production, Phytochemistry, and Utilization*. American Chemical Society. pp 1-12. Tomado de: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2016-1218.ch001>[fecha de acceso: noviembre 2017].