

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DEL PERÚ**

**Escuela de Posgrado**



Identificación de compuestos volátiles en las plagas de la papa:  
*Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y  
*Premnotrypes fractirostris* (Coleoptera: Curculionidae)

Tesis para obtener el grado académico de Maestro en Química que  
presenta:

Carlos Alberto Lizana Córdova

Asesor:

Dr. Carlos **Gabriel** Martel **Gora**


Lima, 2024

### Informe de Similitud

Yo, Carlos Gabriel Martel Gora, docente de la Escuela de Posgrado de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesor(a) de la tesis/el trabajo de investigación titulado "Identificación de compuestos volátiles en las plagas de la papa: *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) y *Premnotrypes fractirostris* (Coleoptera: Curculionidae)", del autor **Carlos Alberto Lizana Córdova**, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 14 %. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software *Turnitin* el 17/09/2024.
- He revisado con detalle dicho reporte y la Tesis o Trabajo de Suficiencia Profesional, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lima, 17 de septiembre de 2024.

Martel Gora, Carlos Gabriel	
DNI: 43664882	Firma: 
ORCID: 0000-0001-9892-1999	



*Dedicado a mi padre Oswaldo Lizana, a mis compañeros del laboratorio ICOBA y a todos aquellos que me apoyaron en esta etapa de mi vida*

## **Agradecimientos**

A mi asesor de tesis, el Dr. Carlos Martel, por su invaluable guía, amplio conocimiento y apoyo durante todas las fases de esta investigación. Al Dr. Alfredo Ibáñez, quien fue parte fundamental en los conocimientos adquiridos necesarios para poder realizar esta presente investigación. Para ambos, les agradezco haber confiado en mí y haberme escogido para formar parte de este proyecto y brindarme las herramientas para poder realizarlo de la mejor manera. Asimismo, de manera muy especial, le expreso mi más sincero agradecimiento a la Dra. Erika Calla Quispe, quien, con su apoyo en el laboratorio, enseñanzas, orientación, consejos, recomendaciones y constante seguimiento en el proceso de mi tesis, hizo que mejorara de manera significativa mis conocimientos sobre temas especializados en instrumentación que no solo me sirvieron para la presente investigación sino que también me servirán para futuras investigaciones, enriqueciendo mi formación profesional y preparándome para mi carrera como investigador.

Mis estudios de Maestría y la tesis han sido financiada gracias al gentil apoyo de CONCYTEC y del PROGRAMA NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y ESTUDIOS AVANZADOS – PROCIENCIA (Convenio N° 185-2020-FONDECYT).

Asimismo, agradecer a los miembros del instituto de Ciencias Ómicas y Biotecnología Aplicada (ICOBA) que me ayudaron a adaptarme y sentirme en confianza para poder realizar mis ensayos con la mayor comodidad posible, siempre con el respeto y buenas vibras en sus comentarios.

A mi padre, Oswaldo Lizana que, si bien no está presente de manera física en este plano terrenal, sus enseñanzas sobre la perseverancia y responsabilidad me ayudaron siempre a cumplir mis objetivos trazados. Asimismo, a mi madre Julia Córdova quien es un gran soporte en mi vida y me ha apoyado durante todo este proceso sin restricciones.

Un especial agradecimiento a mi amada novia Ana Atalaya, quien me ha brindado no solo su amor sino el soporte necesario para no rendirme y seguir avanzando en nuestros proyectos personales y académicos, siendo el pilar más importante en mi formación no solo profesional sino también como un mejor ser humano.

## Resumen

La papa, *Solanum tuberosum*, es un cultivo de gran importancia en la economía local peruana, ya que es la principal fuente de ingresos para miles de productores y una de las fuentes de carbohidratos más importantes en la alimentación de la población local. Sin embargo, su cultivo se ve expuesto a factores ambientales que ponen en riesgo su productividad. Por ejemplo, existen plagas de insectos que ocasionan una reducción de la producción de papa de hasta un 100%. La polilla *Phthorimaea operculella* y el gorgojo de la papa *Premnotrypes fractirostris*, son plagas que frecuentemente afectan los cultivos de papa en las zonas de los Andes centrales y pueden generar daños de entre el 20 y 90%, cuando no son controladas adecuadamente en cosecha y post cosecha, bajando la calidad del producto y generando pérdidas económicas. Una solución altamente utilizada es el uso de pesticidas. Sin embargo, esto genera problemas medio ambientales y en la salud humana por su toxicidad y bioacumulación. Una alternativa es la atracción mediante el uso de químicos atractivos producidos por las mismas plagas (e.g. las feromonas sexuales), las cuales son amigables con el medio ambiente y son altamente específicos. La presente tesis tiene como objetivo identificar compuestos volátiles, potencialmente feromonales, los cuales son producidos por adultos de diferente sexo y estado sexual de *Ph. operculella* y *Pr. fractirostris*. Para ello, se criaron en laboratorio los insectos y se colectaron sus compuestos volátiles, los cuales fueron analizados a través de cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas. Entre los compuestos volátiles producidos por ambas especies se pudo identificar alcanos, alcoholes, ácidos grasos, acetatos, ésteres, entre otros. Cada especie tiene un patrón particular de compuestos volátiles. Si bien, no se detectaron diferencias en emisión de compuestos volátiles entre machos y hembras dentro de cada especie, si se registraron diferencias entre individuos con diferente experiencia sexual en *Ph. operculella* y en compuestos cuticulares en *Pr. fractirostris*.

Palabras clave: semioquímicos, volatilómica, *Phthorimaea operculella*, *Premnotrypes fractirostris*.

## Índice General

Resumen .....	5
Lista de Abreviaturas .....	11
1. Introducción .....	12
1.1 Formulación del problema de investigación.....	13
1.2 Pregunta de investigación .....	14
2. Objetivos .....	14
2.1 Objetivo general.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3. Marco Teórico .....	15
3.1 Actividad agropecuaria e impacto económico .....	15
3.2 Plagas que afectan la producción de papa.....	16
3.2.1 <i>Phthorimaea operculella</i> .....	16
3.2.2 <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	18
3.3 Semioquímicos .....	20
3.4 Métodos de control .....	25
3.4.1 Control químico .....	25
4. Metodología .....	28
4.1 Equipos y reactivos:.....	28
4.2 Colecta y crianza .....	28
4.3 Ritmo circadiano de comportamiento de copula de los insectos .....	30
4.4 Obtención de compuestos químicos.....	30
4.4.1 Señales químicas de largo alcance.....	30
4.4.2 Señales químicas de corto alcance.....	32
4.5 Identificación de compuestos químicos .....	32
5. Resultados .....	34
5.1 Ritmo circadiano del comportamiento de cópula de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	34
5.2 Ritmo circadiano del comportamiento de cópula de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	34

5.3	Identificación química de compuestos de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	35
5.3.1	Compuestos volátiles de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	35
5.3.2	Compuestos cuticulares de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	37
5.4	Identificación química de compuestos de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	40
5.4.1	Compuestos volátiles de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	41
5.4.2	Compuestos cuticulares de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	46
6.	Discusiones.....	48
7.	Conclusiones .....	50
8.	Perspectivas futuras.....	51
9.	Referencias bibliográficas.....	52



## Índice de Figuras

Figura 1. Producción mundial de papa en el 2022 .....	15
Figura 2. Producción mundial de papa por continente en el 2022.....	15
Figura 3. Producción de papa y área cosechada en el Perú .....	16
Figura 4. Ciclo de vida de la polilla <i>Phthorimaea operculella</i> .....	17
Figura 5. Ciclo de vida de la polilla <i>Phthorimaea operculella</i> en las etapas de siembra, emergencia, desarrollo vegetativo y cosecha.....	177
Figura 6. Dimorfismo sexual entre (A) hembra y (B) macho de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	18
Figura 7. Ciclo de vida del gorgojo de los Andes <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	19
Figura 8. Ciclo de vida del gorgojo de los Andes <i>Premnotrypes fractirostris</i> en las etapas de siembra, emergencia, desarrollo vegetativo, cosecha de la papa .....	19
Figura 9. Uso de control con feromonas en campos de cultivo .....	26
Figura 10. Comparación de machos de la <i>Phthorimaea operculella</i> en un campo con trampas de feromonas y otro sin trampas de feromonas .....	27
Figura 11. Colecta de papas infestadas con las plagas de (A) gorgojos y (B) polillas. ....	29
Figura 12. Insectos plagas de papa (A) hembra y (B) macho de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	299
Figura 13. Comportamiento de copula de la (A) parejas de polillas <i>Phthorimaea operculella</i> y (B) parejas de escarabajos <i>Premnotrypes fractirostris</i> . ....	30
Figura 14. Esquema de la colecta de compuestos volátiles de ambos insectos .....	31
Figura 15. Extracto cuticular de (A) escarabajo <i>Premnotrypes fractirostris</i> y Extracto de abdominal de (B) la polilla <i>Phthorimaea operculella</i> . ....	32
Figura 16. Porcentaje de copula de parejas de polilla <i>Phthorimaea operculella</i> .....	34
Figura 17. Porcentaje de copula de las parejas del escarabajo <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	35

Figura 18. Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles volátiles de adultos de la <i>Phthorimaea operculella</i> clasificados por sexo y experiencia sexual .....	366
Figura 19. Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales volátiles en adultos <i>Phthorimaea operculella</i> según su sexo y experiencia sexual.....	39
Figura 20. Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles cuticulares de adultos de la <i>Phthorimaea operculella</i> clasificados por sexo y experiencia sexual.....	40
Figura 21. Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales cuticulares en adultos <i>Phthorimaea operculella</i> según su sexo y experiencia sexual.....	42
Figura 22. Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales volátiles en adultos <i>Premnotrypes fractirostris</i> según su sexo y por tiempo de colecta.....	455
Figura 23. Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles volátiles de adultos del <i>Premnotrypes fractirostris</i> clasificados por sexo y experiencia sexual .....	46
Figura 24. Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales cuticulares en adultos <i>Premnotrypes fractirostris</i> según su sexo.....	47
Figura 25. Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles cuticulares de adultos del <i>Premnotrypes fractirostris</i> clasificados por sexo y experiencia sexual.....	47

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Compuestos químicos volátiles y glandulares reportados en insectos.....	23
<b>Tabla 2.</b> Condiciones instrumentales del análisis de GC-MS.....	33
<b>Tabla 3.</b> Compuestos químicos volátiles detectadas en adultos de <i>Phthorimaea operculella</i> (abundancia $\times 10^3 \pm \text{SD}$ ).....	38
<b>Tabla 4.</b> Cantidad media (ng/IN $\pm \text{SD}$ ) de compuestos cuticulares en adultos de <i>Phthorimaea operculella</i> .....	41
<b>Tabla 5.</b> Compuestos químicos volátiles detectadas en adultos de <i>Premnotrypes fractirostris</i> (abundancia $\times 10^4 \pm \text{SD}$ ).....	44
<b>Tabla 6.</b> Cantidad media (ng/IN $\pm \text{SD}$ ) de compuestos cuticulares en adultos de <i>Premnotrypes fractirostris</i> .....	46



## Lista de Abreviaturas

ANOVA	Análisis de varianza
EI	Ionización electrónica
Exp	Adulto experimentado
Fx	Adulto hembra experimentada
Fv	Adulto hembra virgen
Fv-T1	Adulto hembra virgen- turno 1
Fv-T2	Adulto hembra virgen- turno 2
GC	Cromatografía de gases
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
MS	Espectrometría de masas
Mx	Adulto macho experimentado
Mv	Adulto macho virgen
Mv-T1	Adulto macho virgen- turno 1
Mv-T2	Adulto macho virgen- turno 2
PCA	Análisis de componentes principales
PERMANOVA	Análisis de varianza permutacional mutivariante
RI	Índice de retención Kovats
TIC	Cromatografía de iones totales
VOC	Compuestos orgánicos volátiles

## 1. Introducción

En la actualidad, la papa, *Solanum tuberosum*, es uno de los cultivos más importantes a nivel global debido a su alto consumo y valor nutricional. La papa es producida en más de 125 países alrededor del mundo siendo el cuarto alimento más cultivado del mundo solo después del trigo, el maíz y el arroz (FAO, 2024). En el Perú, la papa es el principal cultivo en superficie sembrada y representa el 6.1% del PBI agropecuario siendo producida por 600 mil pequeñas unidades agrarias (BCR, 2024; MIDAGRI, 2023) totalizando alrededor de 6 millones toneladas métricas producidas por año (MIDAGRI, 2023). La papa es una de las principales fuentes de carbohidratos, sin embargo, la producción de este valioso tubérculo tiene diferentes amenazas (Montesdeoca, 2013; Veneros, 2014) que requieren atención inmediata en la siembra y cosecha para que las pérdidas sean mínimas y que no influya de manera negativa a la buena productividad de la papa. Las plagas de insectos que afectan la productividad de la papa son principalmente polillas (Lepidoptera), escarabajos (Coleoptera) y moscas (Diptera), siendo las especies de escarabajos *Premnotrypes* comúnmente conocidos como el gorgojo de los Andes y las polillas *Phthorimaea operculella*, *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* las más agresivas (Montesdeoca, 2013; Borrero et al., 2018), estas plagas afectan cultivos de papa producidos a elevaciones mayores a los 3200 msnm, los adultos tienen una dieta principalmente de hojas, tallos, tubérculo de la planta de la papa y maleza de diferentes hortalizas (Coronado, 2012).

Los gorgojos de la papa atacan a los tubérculos principalmente antes del periodo de cosecha, mientras que las polillas durante su almacenamiento (CIP, 2012). El mayor daño a la papa es ocasionado por las larvas de los gorgojos que penetran y consumen el tubérculo, causando pérdidas de hasta el 90% del total de la cosecha (INIA, 2020; MIDAGRI, 2023). Si bien las especies de *Premnotrypes* se restringen en los Andes, las polillas *Phthorimaea* ha sido reportada en 90 países alrededor del mundo. La presencia de esta plaga se encuentra en casi todos los sistemas de papa tropical y subtropicales en continentes como África, Asia y América (Montesdeoca, 2013).

En busca de alternativas sostenibles para el control de estas plagas, se ha propuesto el uso de compuestos naturales atractivos producidos por las mismas plagas (e.g. feromonas), los cuales son compuestos químicos utilizados para la comunicación entre individuos de la misma especie. El uso de feromonas es ya utilizado para atraer

a las polillas macho hacia trampas (Borrero et al., 2018; Ando & Yamakawa, 2011), aunque hasta el momento no se tiene reportado el uso de compuestos feromonales en biotampas para el gorgojo de la papa. Sin embargo, en la literatura se han reportado estudios relacionados a la producción química de otros escarabajos como *Alphitobius diaperinus* y como varía la producción química de este escarabajo en función al sexo y experiencia sexual (Calla, 2022; Calla et al., 2022; Mayorga, 2024). Teniendo este precedente es importante considerar estos factores al estudio de la producción química en insectos y al comportamiento de estos.

El control efectivo de las plagas de papa, como el gorgojo de los Andes y la polilla de la papa, es crucial para una agricultura sostenible. La presente tesis propone estudiar la producción química de estas plagas con el fin de identificar los compuestos químicos volátiles y cuticulares presentes en especies de *Ph. operculella* en función al sexo y experiencia sexual y *Pr. fractirostris* en función del sexo. El conocimiento de estos compuestos específicos permitirá comprender el comportamiento de estos insectos y permitirá el futuro desarrollo de biotampas para el control de las plagas de la papa, siendo amigables con el medio ambiente y seguras para la salud humana.

### **1.1 Formulación del problema de investigación**

En la actualidad, el Perú se posiciona como el primer productor latinoamericano en papa la cual es producida de manera tradicional y extensiva (MIDAGRI, 2023). Estas cosechas son producidas por pequeños productores agrícolas altoandinas que abastecen el mercado local hasta un 70% en todas las regiones de Perú. Por tal motivo, los pesticidas y diferentes compuestos químicos poco amigables con el ambiente son utilizados por su bajo costo y alta efectividad. Sin embargo, estos pesticidas poseen una baja degradación y alta acumulación en los suelos que logran contaminar y migrar a las diversas partes de la planta (Aldás, 2012; OMS, 2022; Pérez & Forbes, 2011). Los diferentes problemas relacionados a los pesticidas llegan a afectar al ambiente, consumidor final y al mismo pequeño agricultor que utiliza este tipo de productos (Cruz, 2017).

La papa se ve afectada por plagas de insectos como el gorgojo de los Andes y polillas. Estos insectos dejan sus huevos en los tubérculos los cuales eclosionan y las larvas ingresan al tubérculo minando su superficie para ingresar y consumir partes internas que contienen alto nivel almidón siendo la base fundamental de su dieta en su etapa

larval (CIP, 2012). Es así como estos insectos pueden afectar la producción de la papa entre un 20-70% con relación al daño producido por los escarabajos junto a un 5-20% en caso de las polillas, esto solo en cosecha. Sin embargo, las polillas tienen un poder de destrucción que puede llegar de 5-100% en daño al tubérculo en almacén si no son controlados adecuadamente (CIP, 2012; Coronado, 2012). Incluso haciendo uso de los pesticidas para combatir estas plagas de insectos cierta cantidad de papas en los cultivos terminan siendo infectadas debido a la resistencia desarrollada por estos insectos a estos pesticidas (Lazo & Gamboa, 1997; Botina, 2015). Por tal motivo, se busca constantemente alternativas a los pesticidas que sean viables y amigables con el medio ambiente.

## 1.2 Pregunta de investigación

¿Cuáles son los compuestos volátiles y cuticulares presentes en las plagas de la papa *Phthorimaea operculella* (Lepidoptero: Gelechiidae) y *Premnotrypes fractirostris* (Coleoptera: Curculionidae) y cuál es el efecto del sexo y experiencia sexual en esta producción química?

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

- Identificar los compuestos volátiles y cuticulares producidos por *Phthorimaea operculella*, la polilla de la papa, y *Premnotrypes fractirostris*, el gorgojo de la papa.

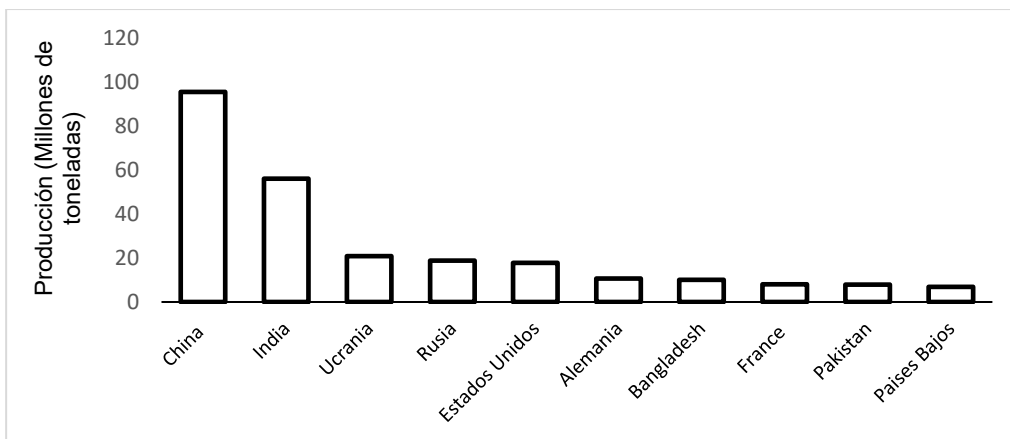
### 2.2 Objetivos específicos

- Identificar que compuestos volátiles se encuentran presentes en los insectos adultos de la polilla *Phthorimaea operculella* y el escarabajo adulto *Premnotrypes fractirostris*.
- Identificar si la composición química volátil en los insectos estudiados está relacionada con el sexo y la experiencia sexual de los insectos adultos.

### 3. Marco Teórico

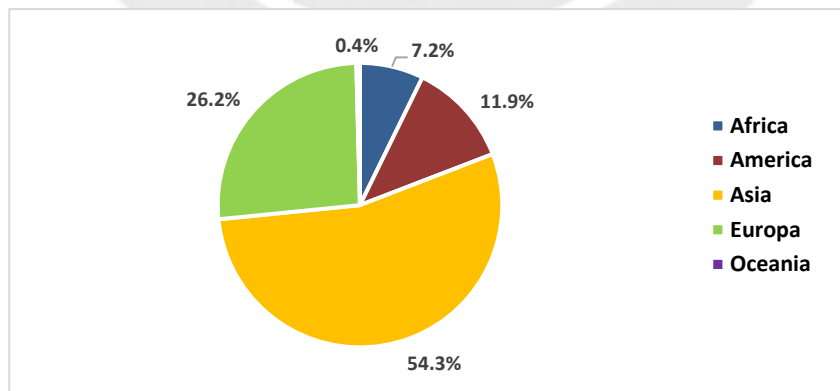
#### 3.1 Actividad agropecuaria e impacto económico

China es actualmente el principal productor mundial de papa encabezando la lista de los 10 países de producción de papa (FAO, 2024). En efecto en el año 2022 se ha registrado una producción de 95.6 millones de toneladas para China, 56.2 millones de toneladas para India y 20.9 millones de toneladas para Ucrania (Figura 1).



**Figura 1.** Producción mundial de papa en el 2022. Tomado de FAO (2024).

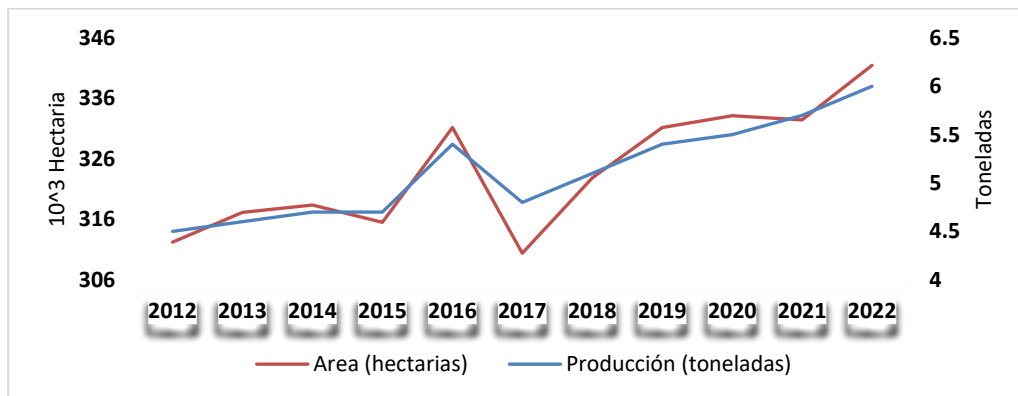
La participación a nivel mundial por continente posiciona a Asia en primer lugar con un 54.3% de participación total, seguido por Europa con un 26.2% y América con un 11.9% (FAO, 2024) (Figura 2).



**Figura 2.** Producción mundial de papa por continente en el 2022. Tomado de FAO (2024).

Perú ha tenido una evolución gradual de producción de papa desde el 2011 con 4.07 millones de toneladas hasta el 2021 con una producción de 5.66 millones de

toneladas, posicionando a Perú como el principal productor de papa a nivel de Latinoamérica (FAO, 2023). Efectivamente, en la Figura 3 se observa que la producción y área cosechada de papa por tonelada fue incrementando por año desde el 2012 hasta el 2022 teniendo una tendencia al alza, siendo que entre los años 2016 y 2017 bajo de manera abrupta de 5.39 millones de toneladas a 4.77 millones de toneladas en el 2017 (FAO, 2024).



**Figura 3.** Producción de papa y área cosechada en el Perú. Tomado de FAO (2024).

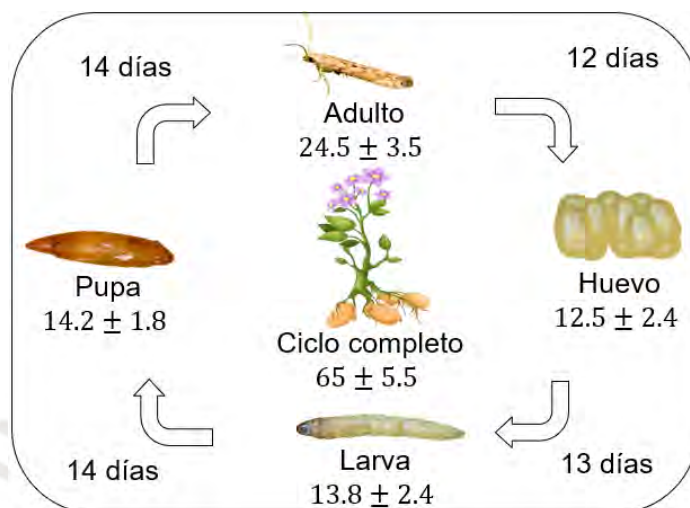
## 3.2 Plagas que afectan la producción de papa

### 3.2.1 *Phthorimaea operculella*

Esta especie de polilla es cosmopolita con origen tropical registrada en América, África, Australia y Asia (Veneros, 2014). La adaptabilidad de esta especie le ha permitido sobrevivir en diferentes ecosistemas de las regiones tropicales y subtropicales (Rondon, 2010).

La plaga de *Ph. operculella* es una de las plagas más dañinas en la producción de papa (Pittí, 2020). La polilla hembra adulta coloca sus huevos en todas las etapas de la papa las cuales son; siembra, en el cual se coloca la semilla de papa; emergencia, donde surge los primeros brotes de la rama y las hojas; desarrollo vegetativo, en donde la parte vegetativa y la flor completan su desarrollo y en almacén, en el cual se almacenan las semillas de papa para las posteriores cosechas (CIP, 2012). Esta especie causa un mayor daño en el estado larval, cuando penetran el tubérculo para alimentarse de la pulpa. Las polillas pueden afectar entre 20% y 90% de la cosecha total (Pittí, 2020; Vélez, 1997).

En etapa adulta, las polillas pueden vivir hasta un mes, logrando completar entre 2 a 12 generaciones por año (Raman, 1984), bajo condiciones de laboratorio a 20°C y 48% HR, con un ciclo estimado de vida de 65 días (Figura 4 y 5). Su ciclo de vida depende directamente de la temperatura, la cual afecta las fases del insecto de manera inversa, a mayor temperatura menos días de ciclo de vida (Raman, 1984).



**Figura 4.** Ciclo de vida de la polilla *Phthorimaea operculella*. Adaptado de CIP (2012).



**Figura 5.** Ciclo de vida de la polilla *Phthorimaea operculella* en las etapas de siembra, emergencia, desarrollo vegetativo y cosecha. Tomado de CIP (2012).

Los individuos de *Ph. operculella* en fase de huevo son microscópicos y de color blanco opaco. En fase larval pueden medir de 10 - 12 mm y son de color crema a tonos rosados cuando está por cambiar a estado de pupa. En estado de pupa tiene un color marrón oscuro brillante de aproximadamente 8 - 10 mm de largo (Salem et al., 2021). En estado adulto miden entre 7 - 9 mm de longitud con aspecto fino, alas grises con manchas negras y con terminaciones de flecos (CIP, 2012; Econex, 2024; Kroschel et al., 2016). Los adultos hembras se pueden diferenciar de los machos

mediante diferencias en la forma de sus manchas, esto debido que en las hembras presenta una mancha en el centro de sus alas, mientras que en los machos se presentan en forma de líneas discontinuas en cada ala, ver Figura 6 (Kroschel et al., 2016).

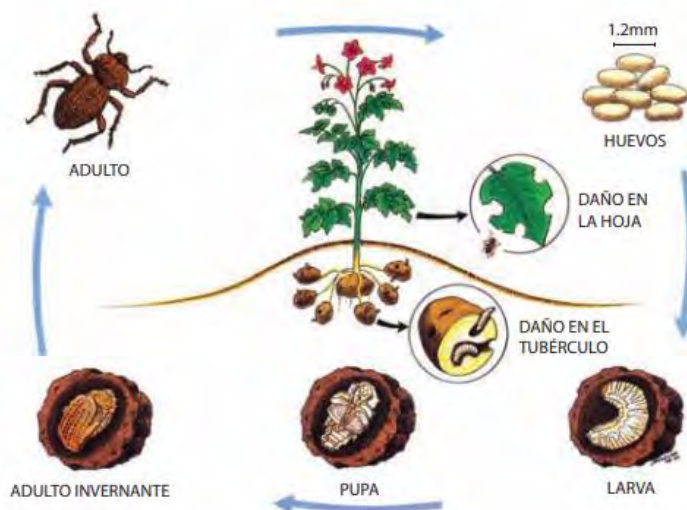


**Figura 6.** Dimorfismo sexual entre (A) hembra y (B) macho de *Phthorimaea operculella*. Tomado de Kroschel et al. (2016).

En fase de larva, las polillas de *Ph. operculella* realizan comeduras o minas irregulares bajo la cáscara de la papa, dejando a su paso sus excretas en la cascara (Econex, 2024). Las larvas también pueden perforar los tallos desde el cuello hasta la parte superior de la planta. El tamaño de la perforación depende directamente del tamaño de la larva (Pittí, 2020). En las hojas, las larvas producen minas lagunares, grandes e irregulares entre 2 - 3 cm de diámetro. Las minas se caracterizan por tener un borde irregular y un centro hueco (Pittí, 2020).

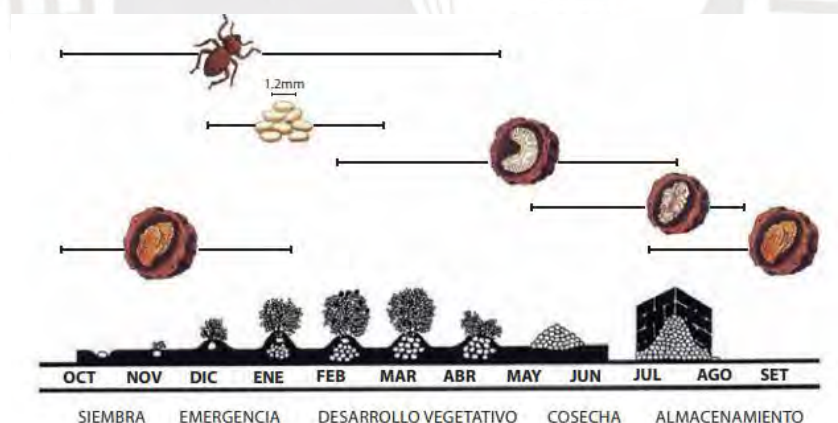
### **3.2.2 *Premnotypes fractirostris***

Esta especie de escarabajos también conocido como el gorgojo de los Andes o gusano blanco, son una plaga importante en América del Sur (Bravo-Portocarrero et al., 2021; Loayza, 2021). Se originó en el altiplano andino, donde se cultiva la papa desde hace miles de años, ver Figura 7 (Loayza, 2021; Mamani, 2021).



**Figura 7.** Ciclo de vida de *Premnotrypes fractirostris*. Tomado de CIP (2012).

Los gorgojos adultos colocan sus huevos en las diferentes etapas de la papa; desde la siembra, emergencia, y la etapa de floración. Posterior a ello, pasan a su fase de pupa (3 - 4 meses) en los cuales se acondicionan en trozos de tierra dentro del mismo tubérculo o en el suelo, para finalmente emerger como adultos, ver Figura 8 (CIP, 2012; Mamani, 2021).



**Figura 8.** Ciclo de vida del gorgojo de los Andes *Premnotrypes fractirostris* en las etapas de siembra, emergencia, desarrollo vegetativo, cosecha de la papa. Tomado de CIP (2012).

Estos escarabajos en la etapa de huevo presentan forma oval alargada, color blanco opaco (0.9 - 1.2 mm, Carrasco, 1961). La fase de larva es la más conocida por su presencia en el tubérculo en diferentes zonas de la planta, su aspecto va tomando la forma oval-alargada, apoda, rechoncha, blanquecino transparente al eclosionar del huevo, que a medida que va desarrollando se va tomando amarillo anaranjado (CIP, 2012). En la fase pupa son de color blanco-cremoso, con una longitud entre 7 - 8 mm.

En la fase de adulta, las hembras pueden colocar de 13 hasta 52 huevos (Mamani, 2021). En la etapa de siembra y cosecha, el gorgojo puede dañar las semillas, las hojas, los tallos y los tubérculos de la papa. Las larvas del gorgojo se alimentan de las semillas y del tubérculo en la cosecha, lo que puede reducir la germinación y el rendimiento de la producción de este tubérculo (Canales, 2014; Carrasco, 1961). Además, estas larvas se alimentan de las hojas, lo que puede causar defoliación y reducción del rendimiento de la producción. Estas larvas son agresivas con otras partes de la planta como los tallos, de los cuales se alimentan, ocasionando debilitamiento de la planta y aumentando la susceptibilidad a las enfermedades (Canales, 2014). Las larvas del gorgojo también pueden alimentarse de los tubérculos de la papa, lo que puede causar daños severos, incluso la pérdida total de la cosecha ya que los metabolitos secundarios como mecanismo de defensa del mismo tubérculo cambian la textura, sabor y calidad lo que hace que no pueda ser comercializados. En la etapa de cosecha de la papa, el gorgojo puede dañar los tubérculos de la papa almacenados. Las larvas del gorgojo se alimentan de los tubérculos almacenados, lo que puede causar pérdidas significativas de calidad y rendimiento (CIP, 2012). Sin embargo, estas papas dañadas por los gorgojos aun sirven de alimento para los cerdos o ganado, a diferencia de los tubérculos atacados por polillas (Torres et al., 1993). Los controles más utilizados para combatir esta plaga son el (i) control cultural al eliminar los restos de cultivo de los campos después de la cosecha, el (ii) control biológico, al liberar insectos o animales que se alimenten de las larvas del gorgojo, el (iii) control químico al utilizar insecticidas directamente en la planta y en los tubérculos almacenados y el (iv) control postcosecha al almacenar los tubérculos de papa en condiciones adecuadas con plantas de eucalipto y muña para prevenir la infestación por el gorgojo. La elección del método de control más adecuado dependerá de la gravedad de la infestación, el tipo de cultivo y las condiciones climáticas (CIP, 2012; INIA, 2020).

### **3.3 Semioquímicos**

Los compuestos químicos producidos por los organismos vivos juegan un papel fundamental en su funcionamiento, comportamiento y la comunicación entre individuos de su propia especie e individuos de diferentes especies (Acevedo, 2020; Brezolin et al., 2018; Romero-López et al., 2005). Estos compuestos se pueden dividir principalmente en hormonas y semioquímicos, las cuales son responsables de

funciones como la atracción, la agresión, los afrodisiacos, los antiafrodisiacos, agregación y la señalización de alarma (Alvarado, 2020; Bakthavatsalam, 2016).

Las hormonas son compuestos químicos que actúan dentro del cuerpo de un organismo para regular funciones importantes como el crecimiento, el desarrollo y la reproducción. Las hormonas son producidas por glándulas especializadas y se transportan por el torrente sanguíneo hasta los órganos y tejidos donde actúan (Bellés, 2009; Yan & Liebig, 2021).

Los semioquímicos son compuestos químicos que actúan entre organismos de la misma o diferente especie para transmitir información entre ellos (Acevedo, 2020; Heuskin et al., 2011; Rumbos et al., 2019). Los semioquímicos como los aleloquímicos son utilizados en el control de plagas (Garzón, 2016), siendo los alomonas una de las más utilizadas por su acción repelente y las kairomonas, por su acción atrayente (Bakthavatsalam, 2016; Pitts et al., 2014; Yew & Chung, 2015). Sin embargo, las feromonas también son fuertemente estudiadas para el control de plagas tales como las feromonas de alarma (acción de alerta y repelente), sexuales (disminuye la reproducción) y agregación (acción de aglomerar o agrupar) (Bakthavatsalam, 2016; Romero-López et al., 2005; Yew & Chung, 2015).

Las feromonas son compuestos químicos producidos por un organismo para comunicarse con otros de la misma especie. Las feromonas se utilizan para una variedad de propósitos, incluyendo la comunicación sexual, la señalización del territorio y la defensa (Acevedo, 2020; Bakthavatsalam, 2016; Romero-López et al., 2005; Tafoya et al., 1997; Yew & Chung, 2015). Mientras que, los aleloquímicos son compuestos químicos producidos por un organismo para comunicarse con otros de diferentes especies. Los aleloquímicos pueden tener una variedad de efectos sobre otros organismos, incluyendo la atracción o repulsión, mediante el uso de los receptores olfativos que en caso de insectos son las antenas (Alvarado, 2020; Bakthavatsalam, 2016; Tunstall & Warr, 2012).

El uso de compuestos feromonales para el control de plagas es una alternativa con mucho potencial, respetuosa con el medio ambiente y altamente efectivas (Borrero et al., 2018). A pesar de su baja disponibilidad y factibilidad en su uso, el control feromonal sigue siendo una alternativa prometedora. De acuerdo con la bibliografía que está relacionado al control mediante feromonas, la identificación de feromonas y compuestos químicos presente en insectos es crucial para el desarrollo de biotampas y futuros controles químicos que permitan disminuir el uso de pesticidas que son

agresivos y poco biodegradables (Ando & Yamakawa, 2011; Araúz et al., 2020; Attygalle et al., 1996; Bartelt et al., 2009).

La polilla *Ph. operculella* ha sido estudiada por diversos autores que han logrado identificar la composición feromonal sexual producidas por hembras vírgenes las cuales son (*E,Z*)-4,7-tridecadienyl acetato y (*E,Z,Z*)-4,7,10-tridecatrienyl acetato en una relación de 1:1.5 respectivamente (Persoons et al., 1976; Raman, 1984; Raman, 1988; Raman, 1982; Ryohei et al., 1976). Sin embargo, no se ha reportado la composición química de los escarabajos *Premnotrypes*.

La composición de compuestos químicos volátiles y glandulares se han reportado en otras especies de Lepidópteras y escarabajos, evidenciando el gran interés en el estudio e información de los compuestos químicos que emiten, no solo feromonas sexuales sino también de los demás compuestos que involucran su actividad comunicativa y están presentes en las plagas de insectos, ver Tabla 1.

La producción química en insectos cumple diversas funciones que permiten un desarrollo adecuado en condiciones específicas, de acuerdo con el entorno. Sin embargo, la genética, el desarrollo, la nutrición, las enfermedades, sexo, experiencia sexual y hormonas del insecto son factores internos que pueden influir en su capacidad para producir estos compuestos químicos. Por ejemplo, una dieta deficiente o una infección por un patógeno pueden debilitar al insecto y reducir su producción química (Pittí et al., 2020). Mientras que, las temperaturas extremas, la humedad, radiación, químicos presentes en el entorno, la competencia por recursos entre diferentes especies y la presencia de depredadores o parásitos son factores externos que pueden inhibir la producción química de los insectos. Por ejemplo, la polilla *Ph. operculella* se adaptan al entorno frente a la variación de las condiciones ambientales (Kroschel & Schaub, 2013), por tal motivo, es considerada una plaga cosmopolita, la cual tiene presencia en casi todos los sistemas de papa tropical y subtropicales en continentes (Coronado, 2012; Montesdeoca, 2013).

**Tabla 1.** Compuestos químicos volátiles y glandulares reportados en insectos.

Insecto	Especie	Tipo de compuesto	Compuesto químico	Referencia
Polilla	<i>Phthorimaea operculella</i>	Volátiles	Acetato de (E,Z)-4,7-tridecadienilo, (E,Z,Z)-4,7,10-acetate de tridecatrienilo.	Persoons et al., 1976, Raman, 1984, Ryohei et al., 1976.
Polilla	<i>Symmetrischema tangolias</i>	Volátiles	Acetato de (E,Z)-3,7-tetradecadien-1-ol, (E)-3-tetradecen 1-ol, acetato de (Z)-5-tetradecen-1-ol, (Z)-7-tetradecen-1-ol	Griepink et al., 1995
Polilla	<i>Tecia solanivora</i>	Volátiles	n- acetato de dodecilo, n- (E)-acetato de 3- dodecenilo, acetato de n-(Z)-3- dodecenilo, acetato de n-(E)-5- tetradecenilo, acetato de n-(Z)-5- tetradecenilo, n- (E, E)-9,11- acetato de tetradecenilo, acetato de (E)-3-dodecenilo	Bosa et al., 2005, Nesbitt et al., 1985
Polilla	<i>Eldana saccharina</i>	Volátiles y no volátiles glandulares	trans-3,7-dimetil-6-octen-4-olida, 4-hydroxybenzaldehído, acido (Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienoico, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanol, alcohol 4-hydroxi-3-methoxybencilico, 1-octadecanotiol, 16-hexadecanolida, 18-octadecanolida, (Z)-9-hexadecenal, cis-3,7-dimetil-6-octen-4-olida, acido hexadecanoico, 1-hexadecanol, cis-2-[(Z)-8-pentadecenil]-5-hydroxi- 1,3-dioxano, cis-2-[(Z)-8-pentadecenil]-4-hydroximetil- 1,3-dioxolano, trans-2-[(Z)-8-pentadecenil]-4-hydroximetil-1,3-dioxolano, trans-2-[(Z)-8-pentadecenil]-5-hydroxi- 1,3-dioxano	Burger et al., 1993

**Tabla 1.** Continuación

Insecto	Especie	Tipo de compuesto	Compuesto químico	Referencia
Polilla	<i>Euzophera Pyriella</i>	Volátiles	(Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol, (Z)-9-tetradecadien-1-ol, acetato de (Z)-8-dodecenilo, acetato de (Z)-9-tetradecenilo, acetato de (Z,E)-9,12-tetradecenilo	Ma et al., 2014, Ma et al., 2016.
Polilla	<i>Bombyx mori</i>	Volátiles	(E,Z)-10,12-hexadecadien-1-ol	Petroski & Stanley, 2009
Polilla	<i>Sesamia nonagrioides</i>	Volátiles	(Z)-11 acetato de hexadecenilo, (Z)-11 hexadecen-1-ol	Sreng & Sreng, 1988
Polilla	<i>Plutella xylostella</i>	Volátiles	(Z)-11-hexadecenal, (Z)-11-hexadecenilo	Tamaki et al., 1977
Polilla	<i>Spodoptera exigua</i>	Volátiles y no volátiles glandulares	(Z,E)-9,12- acetato de tetradecenilo, acetato de (Z)-9-tetradecenilo, acetato de (Z)-11-hexadecenilo, (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol, (Z)-9-tetradecadien-1-ol	Acín, 2009
Polilla	<i>Copitarsia pos. uncinata</i>	Volátiles y no volátiles glandulares	Tetradecano, 4,11-dimetil tetradecano, 2,6,19-trimetil tetradecano, tetradec-9-en-1-ol, acetato de tetradec-9-en-1-il, acetato de tetradec-1-il, nonadecano, 1-hexadecanol, octadec-9,12,15-trienal, 2,4,10-trimetil eicosano, tetracosano, pentacosano, hexacosano, heptacosano.	Altamar et al., 2015
Escarabajo	<i>Diorhabda elongata</i>	Volátiles	(E,Z)-2,4-heptadien-1-ol, (E,Z)-2,4-heptadienal	Petroski & Stanley, 2009
Escarabajo	<i>Alphitobius diaperinus</i>	Volátiles y no volátiles glandulares	1,4-benzoquinona (PBQ), $\alpha$ -pineno, canfeno, $\beta$ -pineno, 2-metil-1,4-benzoquinona (MBQ), (S)-limoneno, 1-undeceno, 2-etil-1,4-benzoquinona (EBQ), decanal, 1,4-hidroquinona, 2-metil-1,4-hidroquinona, tujopseno, 2-etil-1,4-hidroquinona, $\alpha$ -acoradieno, $\alpha$ -curcumeno, $\beta$ -bisaboleno, $\beta$ -sesquifelandreno	Hassemer et al., 2015, Griepink et al., 1995

**Tabla 1.** Continuación

Insecto	Especie	Tipo de compuesto	Compuesto químico	Referencia
Escarabajo	<i>Alphitobius diaperinus</i>	Volátiles	(R)-(+)-limoneno, (E)-β-ocimeno, (S)-(+)-linalol, (R)-(+)-dauceno, 2-nonanona, hexano, 1,1-dietoxietano, tolueno, m-xileno, (S)-(+)-α-pineno, 1,1-dietoxi-3-metil butano, 6-metil-5-hepten-2-ona, (R)-(+)-α-pineno, decano, 5-metildecano, 1-metoxi-4-metil benceno, 2-etil-1-hexanol, 1-octanol, 1-undeceno, nonanal.	Singh & Johnson, 2012, Mayorga, 2024.
Escarabajo	<i>Scyphophorus acupunctatus</i>	Volátiles	2-metil-4-heptanol, 2-metil-4-octanol	Ruiz et al., 2003
Escarabajo	<i>Scapanes australis</i>	Volátiles	2-butanol, 3-hidoxi-2-butanona, 2,3-butanodiol	Rochat et al., 2002
Escarabajo	<i>Anthonomus rubi</i>	Volátiles	(Z,Z)-3,3-dimetilciclohexiliden etanol, (cis)-1-metil-2-(1-metiletenil) ciclobutano etanol, 2-(1-metiletenil)-5-metil-4-hexen-1-ol, (Z)-3,3-dimetilciclohexiliden acetaldehído, (E)-3,3-dimetilciclohexiliden) acetaldehído, (E,E)-1-(1-metiletil)-4-metilene, 8-metil-2,7-ciclododecadieno	Innocenzi et al., 2001
Escarabajo	<i>Anthonomus eugenii</i>	Volátiles	(Z)-2-3,3-dimetilciclohexiliden) etanol, (Z)-3,3-dimetilciclohexiliden acetaldehído, (E)-3,7-dimetil-2,6-octadienoato, (E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	Eller et al., 1994

### 3.4 Métodos de control

#### 3.4.1 Control químico

Los pesticidas son sustancias o mezclas de sustancias tóxicas que se utilizan para controlar, prevenir, eliminar, contener o repeler plagas de insectos, roedores, aves, malezas, hongos y otros organismos y que pueden causar daños a la salud humana o el medio ambiente (Cruz, 2017; Llancari, 2024). En los cultivos de papa son comunes

el uso de insecticidas a base de piretroides que evitan la proliferación de insectos plaga. Estos pesticidas son elegidos por su bajo costo, fácil uso y accesibilidad (Lazo & Gamboa, 1997; Llancari, 2024). Sin embargo, el uso de insecticidas genera daños a la salud humana y medio ambiente, al ser altamente tóxico (Aldás, 2012; OMS, 2022). Aun con la alta efectividad lograda al inicio de su uso, los insectos han desarrollado resistencia ante estos insecticidas, obligando al agricultor a utilizar mayor cantidad de insecticidas para los campos de cultivo de papa, generando mayor toxicidad en el suelo y contaminación al medio ambiente (Lazo & Gamboa, 1997; Botina, 2015).

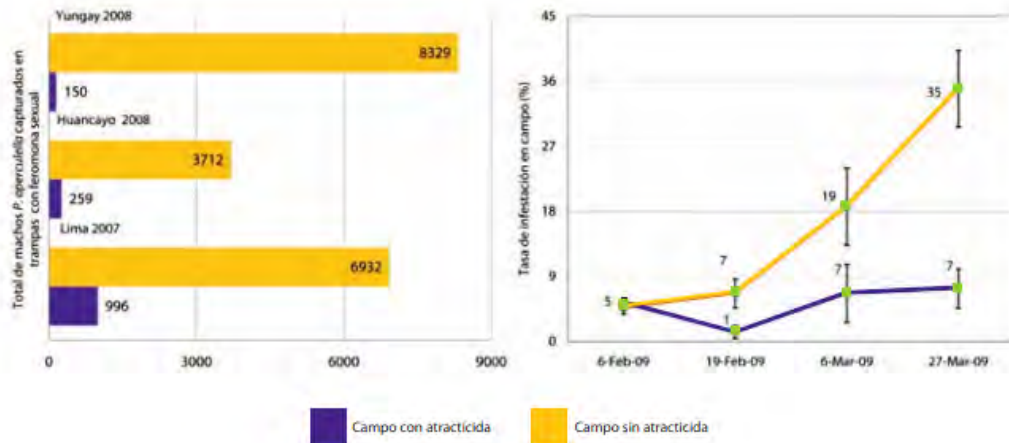
Como alternativa a los pesticidas el uso de feromonas dentro de dispositivos físicos (Robles, 2022; López et al., 2012), ver Figura 9, ha generado interés en varios usuarios. Las feromonas más usadas para el control de plagas son las feromonas sexuales, las cuales son producidas generalmente por la hembra, logrando que el macho se sienta atraído y pueda caer en la trampa (Bakthavatsalam, 2016; Acevedo, 2020; Romero-López et al., 2005; Yew & Chung, 2015). Las ventajas frente al uso de pesticidas es que son eco-amigables, no necesitan entrar en contacto con la cosecha y pueden ser utilizadas en todas las etapas de la cosecha (Figura 9). Sin embargo, la síntesis de estos compuestos químicos es caro y poco accesible para los agricultores. Además, el uso de estas feromonas tiene que estar acompañado de investigaciones de la ecología del insecto plaga para generar planes de controles más eficientes y específicos para la especie de plaga a eliminar (Borrero et al., 2018; CIP, 2012).



**Figura 9.** Uso de control con feromonas en campos de cultivo. Tomado de CIP (2012).

Es así como usar solo feromonas sexuales en trampas para la captura de *Ph.*

*operculella* produjo un bajo rendimiento de captura de estos insectos además de aumentar la población en el campo (ver Figura 10; Bakthavatsalam, 2016; CIP, 2012). Al no usar un sistema adicional de eliminación de la plaga se puede producir mayor población de estas en el campo.



**Figura 10.** Comparación de machos de la *Phthorimaea operculella* en un campo con trampas de feromonas y otro sin trampas de feromonas. Tomado de CIP (2012).

## 4. Metodología

### 4.1 Equipos y reactivos:

#### Equipos:

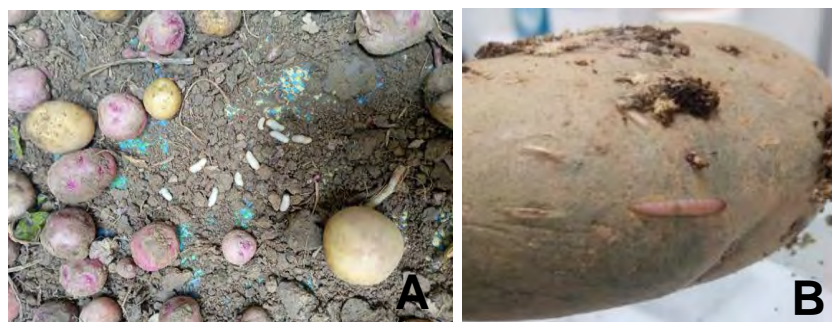
- GC/MS (Thermo Scientific) del laboratorio de Royal Botanic Gardens Kew
- GC/MS (Thermo Scientific) del laboratorio ICOBA - PUCP
- Vórtex, Thermo Scientific
- Estufa, Ecocell - MMM Group)
- Centrífuga, Heraeus Megafuge 16 R
- Bomba de Aire, Spectrex Air sampler
- Flujómetro 0,1 - 1 L/min (Hydronix)
- Ultra congelador (- 20° C).
- Cámara de clima controlado, Memmert HPP750, Memmert GmbH

#### Reactivos utilizados para el procedimiento de extracción:

- N-Hexano (grado LC-MS), Sigma Aldrich
- N-Pentano (grado LC-MS), Honeywell
- N-Hexadecano (grado LC-MS), Sigma Aldrich
- Metanol (grado LC-MS), Sigma Aldrich
- Carbotrap B, Orbo TM-34
- Tenax TA, malla 60-80, Sigma Aldrich

### 4.2 Colecta y crianza

Las plagas de polillas y escarabajos se colectaron en cultivos de papas en el Anexo de uñas distrito y provincia de Huancayo, departamento de Junín, (12°1'29.2" S, 75°11'3.5" W) a una altitud entre 4000–4200 msnm, en agosto del 2022, ver Figura 11.

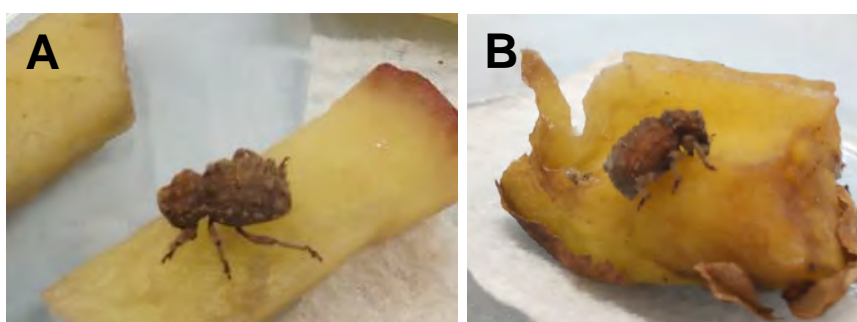


**Figura 11.** Colecta de papas infestadas con las plagas de (A) gorgojos y (B) polillas.

Las plagas fueron transportadas en cadena fría hacia el laboratorio del ICOBA, Lima. Larvas de polillas y escarabajos se criaron por separado en cajas de vidrio (80 x 30 x 60 cm), las cuales fueron mantenidas bajo condiciones climáticas controladas a una temperatura constante de 20 °C, humedad relativa de 48 % y un fotoperíodo de 12:12 h (luz: oscuridad) con fotofase 07:00 a 19:00 h y escotofase 19:00 a 07:00 h.

Estas cajas fueron monitoreadas tres veces por semana con el fin de alimentarlos y realizar la busca de nuevas pupas. La identificación del sexo en la fase de pupa fue realizada siguiendo (Tuncer & Aker, 2017). Luego, ambos sexos por separado fueron aislados en placa Petri (60x15 cm). Los adultos fueron identificados siguiendo la clave de polillas y curculiónidos (Alcázar & Cisneros, 1999; Pérez & Forbes, 2011; Marvaldi & Lanteri, 2005; Kuschel, 1956).

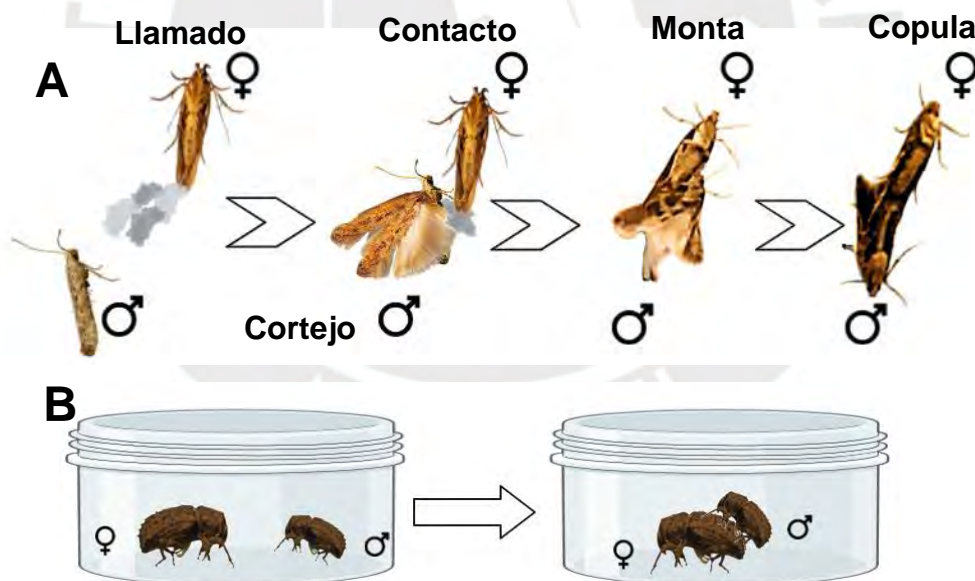
Posteriormente, en una caja de vidrio se dejaron aparear 20 hembras adultas y 20 machos de polilla, las cuales se alimentaron con agua y miel de abeja mediante un papel toalla húmedo. Los adultos individualizados se denominaron no experimentados o vírgenes (v) para ambas especies *operculella* y *fractirostris*. Por otro lado, los adultos que fueron criados en grupos de machos y hembras fueron considerados sexualmente experimentados (exp). Todos los adultos se consideraron sexualmente maduros después de los 2 días en su etapa adulta, ver Figura 12.



**Figura 12.** Insectos plagas de papa (A) hembra y (B) macho de *Premnotrypes fractirostris*

### 4.3 Ritmo circadiano de comportamiento de copula de los insectos

Se evaluó el comportamiento de copula de adultos de polillas *Ph. operculella* a lo largo de 24 horas por 3 días, siguiendo las condiciones ambientales de crianza. Para ello, se colocó una pareja de adultos en un vial (1.5 cm de diámetro y 8 cm de largo) y se registró los comportamientos de tocamiento, (contacto por medio del uso de sus antenas o el movimiento de las alas en el proceso de cortejo, antes o después de la copula), monta (cuando el macho se posiciona por encima de la hembra arqueando y exponiendo su genitalia) y cópula (cuando el macho inserta su genital en el órgano sexual de la hembra). Las parejas de adultos fueron cambiados al siguiente día de realizado el experimento. Asimismo, se evaluó el comportamiento de tocamientos en adultos de escarabajos *Pr. fractirostris* a lo largo de 24 horas por 5 días, siguiendo las condiciones de crianza. Para ello, se colocó una pareja de adultos en una placa Petri (10 cm de diámetro y 1.5 cm de alto) y se registró la hora del tocamiento, monta y copula. Las parejas de los escarabajos adultos fueron cambiados al siguiente día de realizado el experimento, ver Figura 13.



**Figura 13.** Comportamiento de copula de la (A) parejas de polillas *Phthorimaea operculella* y (B) parejas de escarabajos *Premnotrypes fractirostris*.

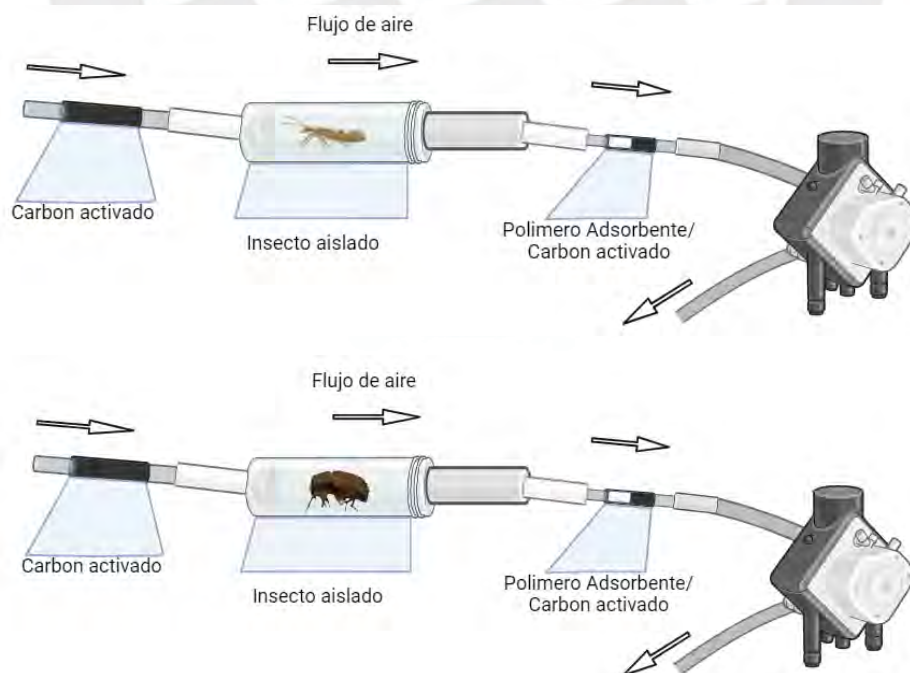
### 4.4 Obtención de compuestos químicos

#### 4.4.1 Señales químicas de largo alcance

Un adulto de *Ph. operculella* de cada sexo y experiencia sexual fue colocado en una

cámara de vidrio (1 cm de diámetro y 15 cm de longitud) junto a un papel filtro impregnado con 100  $\mu$ L de agua durante 24 h. Posterior a ello, se ventiló por 1 hora a una velocidad constante de 0,15 L/min a través de filtros de carbón activado. El blanco (BK) fue sometido bajo las mismas condiciones experimentales que las muestras, con la diferencia de no contar con adultos en su interior. Los compuestos volátiles fueron colectados mediante el uso de chromatoprobes (fibra de vidrio/ Carbotrap (5  $\mu$ g) / Tenax (5  $\mu$ g) / Fibra de vidrio) con espesor de 0.8 mm por 4 horas. Las muestras obtenidas (muestras Fv: n=10, Mv: n=10, Fx: n=10, Mx: n=10, BK: n=9) fueron analizadas por GC-MS, ver Figura 14.

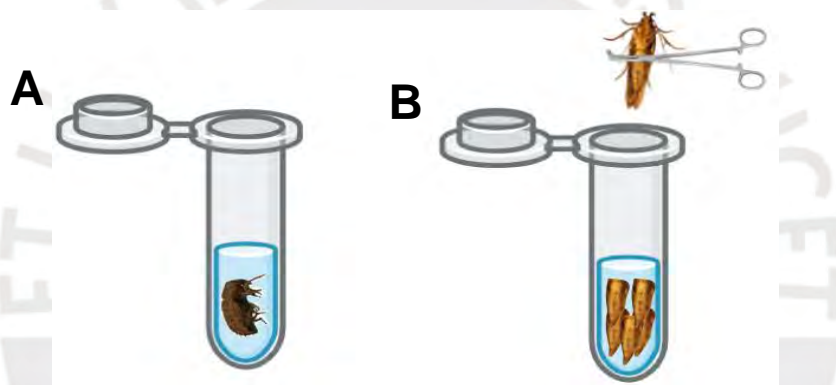
Adicionalmente, un escarabajo *Pr. fractirostris* de cada sexo fue colocado en una cámara de vidrio (1 cm de diámetro y 15 cm de longitud) junto a un papel filtro impregnado con 100  $\mu$ L de agua (1.5  $\times$  1.5 cm) durante 24 h. Posterior a ello, se ventiló por 1 hora a una velocidad constante de 0,15 L/min a través de filtros de carbón activado. El BK fue sometido bajo las mismas condiciones experimentales que las muestras, con la diferencia de no contar con adultos en su interior. Los compuestos volátiles se colectados mediante el uso de chromatoprobe por 4 horas. Las muestras obtenidas (Fv-T1: n=9, Fv-T2: n=9, Mv-T1: n=10, Mv-T2: n=10, BK: n=9) fueron analizadas por GC-MS (ver Figura 14).



**Figura 14.** Esquema de la colecta de compuestos volátiles de ambos insectos.

#### 4.4.2 Señales químicas de corto alcance

Individualmente las polillas se congelaron por 15 min a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , luego se diseccionaron los adultos para obtener el abdomen. Posterior a ello, cinco abdómenes del mismo sexo y experiencia sexual se extrajeron con  $200\text{ }\mu\text{L}$  de hexano a  $2000\text{ rpm}$  por 2 min. Los extractos se concentrados a  $200\text{ }\mu\text{L}$  y se adicionó  $1\text{ }\mu\text{L}$  de  $200\text{ ppm}$  de hexadecano (estándar interno). Finalmente, las muestras fueron almacenados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis químico, ver Figura 15. Los escarabajos adultos de *Pr. fractirostris*, se congelaron individualmente por 15 min a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posterior a ello, se sumergió un escarabajo en  $200\text{ }\mu\text{L}$  de hexano a  $2000\text{ rpm}$  por 2 min (F:  $n=10$ , M:  $n=10$ ). Luego, los extractos fueron concentrados a  $200\text{ }\mu\text{L}$  y se le adicionó  $1\text{ }\mu\text{L}$  de  $200\text{ ppm}$  de estándar interno. Finalmente, las muestras fueron almacenaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para ser analizado posteriormente (ver Figura 15).



**Figura 15.** Extracto cuticular de (A) escarabajo *Premnotrypes fractirostris* y Extracto de abdominal de (B) la polilla *Phthorimaea operculella*.

#### 4.5 Identificación de compuestos químicos

Las colectas volátiles y los extractos cuticulares se analizaron mediante GC-MS (EI), en la Tabla 2, se describen las condiciones instrumentales utilizadas.

En el análisis de datos se realizó mediante el software MS-DIAL v4.9. Los datos no procesados con formato raw se convirtieron a un formato .abf para el análisis por el MS-DIAL. Este software realizó el alineamiento de los espectros cromatográficos para luego ser normalizados en base al TIC. Luego, se realizó un filtrado mediante el análisis de componentes principales (PCA) y oneway- ANOVA ( $P\text{value}\leq 0.05$ ) para filtrar señales en función del blanco. Para la filtración final se consideró la intensidad promedio de las muestras sea mayor a cinco veces el promedio de los blancos. La identificación química se realizó al comparar los espectros de masas y los valores de

los índices de retención de Kovats con las bases de datos de PubChem, Chempider, Pherobase y NIST.

**Tabla 2.** Condiciones instrumentales del análisis de GC-MS.

GC-MS	Thermo Scientific
Fuente de Ionización	EI
Energía de ionización	70 Ev
Intervalo de escaneo	45-600 m/z
Columna	DB-5 (30 m x 0.25 mm d.i., 0.25 $\mu$ m de espesor)
Temperatura de inicio	15 min/50°C
Rampa	250 °C a 10 °C/min
Temperatura final	20 min 250 °C
Temperatura de inyector	250 °C
Temperatura de detector	340 °C
Gas Portador	He (1,5 mL/min)
Volumen de inyección	1 $\mu$ l
Modo de inyección	Splitless

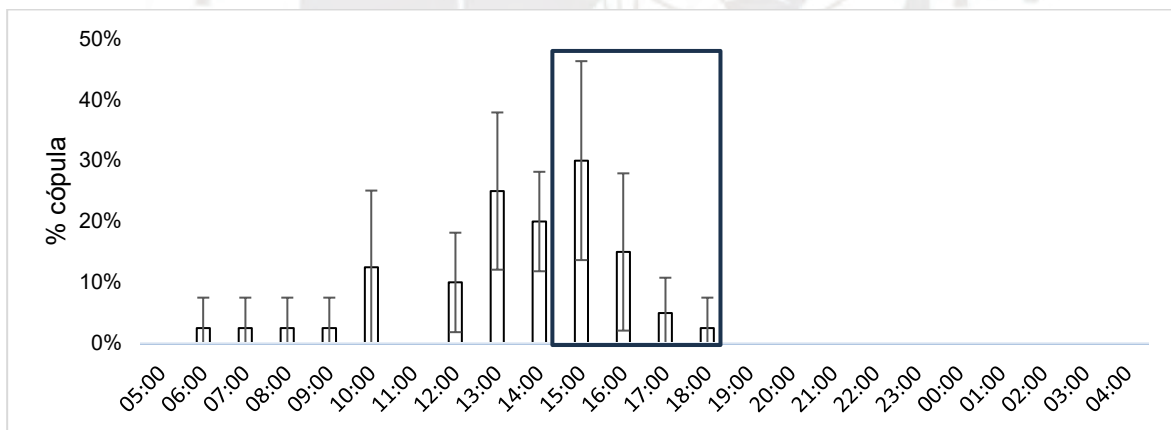
Para evaluar la diferencia de la producción química en función del sexo, la experiencia sexual y turno de colecta se realizó bajo el análisis de varianza multivariante permutacional (PERMANOVA) el cual utilizó la matriz de similitud de Bray-Curtis. Las permutaciones llegaron a un total de 99999 y se realizaron correcciones basados en Holm. Para visualizar gráficamente las posibles diferencias en los perfiles químicos según los factores, se lleva a cabo un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) que se fundamenta en la matriz de similitud de Bray-Curtis. Para realizar ambos análisis para las polillas se consideraron el “sexo” como un factor fijo y a la “experiencia sexual” como factor que esta anidado dentro del “sexo”. Mientras que para los escarabajos se consideraron el “sexo” como un factor fijo y “turno de colecta” como factor que esta anidado dentro del “sexo”. Se realizaron los análisis NMDS y PERMANOVA utilizando el paquete *vegan* (Oksanen et al., 2020). Además, la corrección de Holm con paquete *RVAideMemoire* (Hervé, 2021) de R.

## 5. Resultados

### 5.1 Ritmo circadiano del comportamiento de cópula de *Phthorimaea operculella*

El comportamiento de cópula mostrado por estas polillas inició con el cortejo que realiza el macho. Luego, la hembra exhibe su genitalia, arqueando brevemente su abdomen, emitiendo presumiblemente señales químicas de corto alcance para atraer al macho. Al mismo tiempo el macho mueve sus antenas en dirección a la hembra y vuela hacia ella. Al entrar en contacto con la hembra, esta arquea su abdomen y expulsa su genitalia, hasta que logra conectar con la genitalia del macho para iniciar la cópula. Luego, el macho realiza un giro de 180° hasta terminar la cópula, con duración promedio de 3 h.

En la Figura 16 se observa el porcentaje de copula de las parejas *Ph. operculella*, observándose una mayor incidencia de apareamiento entre 13:00-16:00 horas. Por ello, las coletas de compuestos químicos producidos por adultos *Ph. operculella* se realizaron en rango de tiempo.

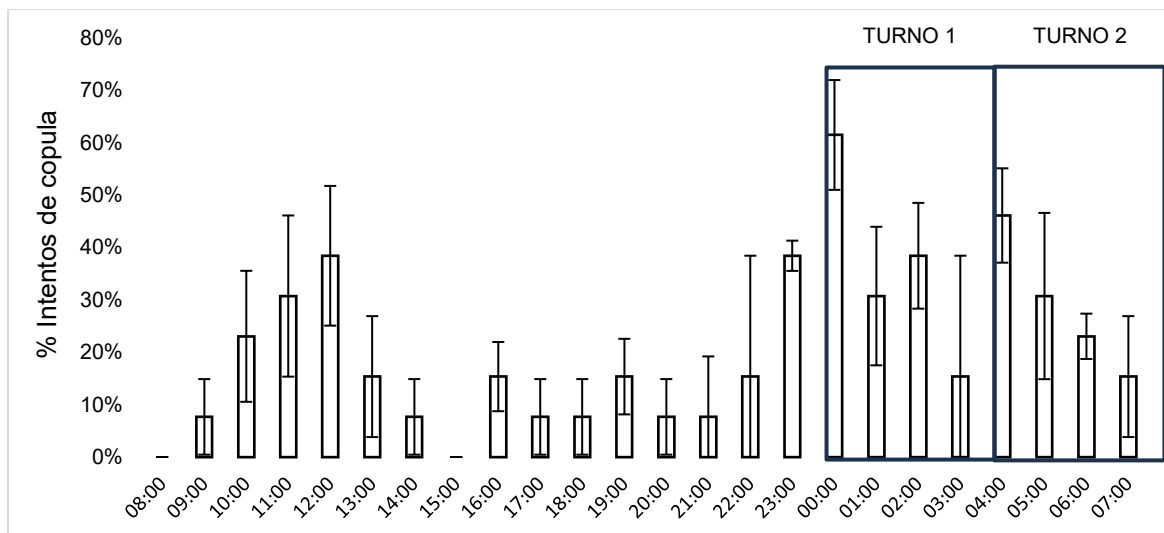


**Figura 16.** Porcentaje de copula de parejas de polilla *Phthorimaea operculella*.

### 5.2 Ritmo circadiano del comportamiento de cópula de *Premnotrypes fractirostris*

El comportamiento de cópula mostrado por *Pr. fractirostris* inició con el acercamiento del macho hacia alguna hembra que estaba cerca al alimento. Luego, el macho intentó montarla por el lado posterior, arqueando su abdomen.

En la Figura 17, se observa el porcentaje de intento de copula de las parejas *Pr. fractirostris*, con una frecuencia entre 23:00-07:00 h. Por ello, las colectas de compuestos en *Pr. fractirostris* se realizó entre las 23:00-3:00 h y 03:00-07:00 h.



**Figura 17.** Porcentaje de copula de las parejas del escarabajo *Premnotypes fractirostris*.

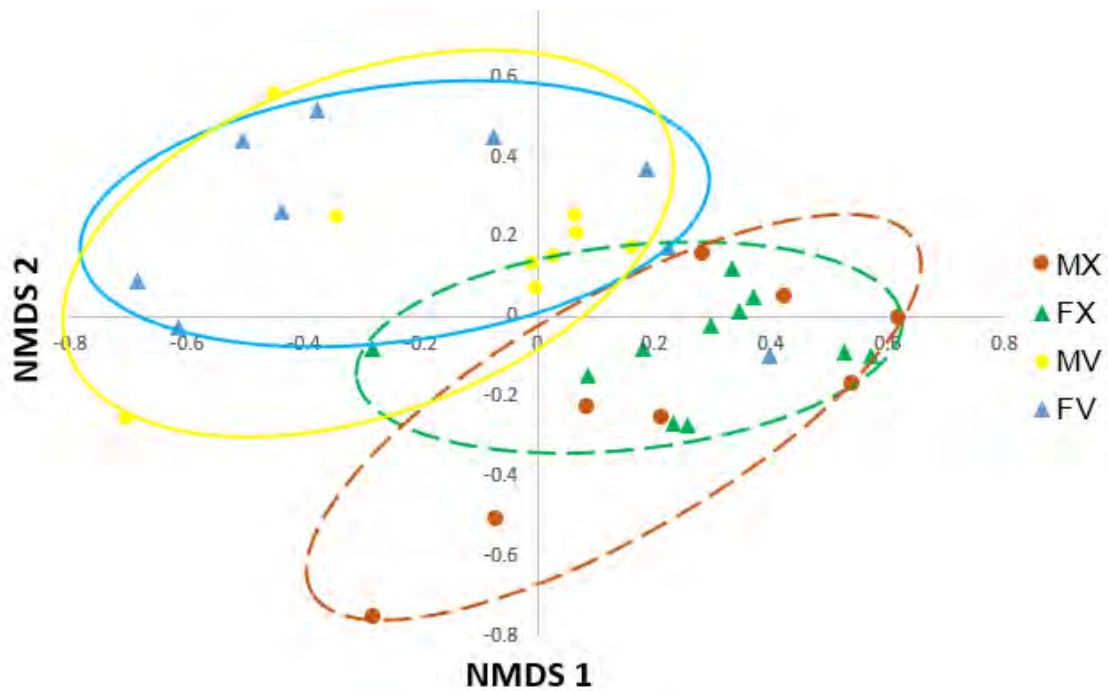
### 5.3 Identificación química de compuestos de *Phthorimaea operculella*

#### 5.3.1 Compuestos volátiles de *Phthorimaea operculella*

Se identificaron 17 compuestos volátiles producidos por adultos de *Ph. operculella*, los cuales pertenecen a las familias de alcanos, alcoholes, ácidos grasos, acetatos y ésteres (Tabla 3, Figura 19). Además, el ácido octanoico, hexadecano y ácido tetradecanoico son compuestos de mayor abundancia relativa presentes en los adultos experimentados, el hexadecano es el compuesto volátil más abundante en las hembras vírgenes, mientras que el acetato de (*E,Z,Z*)-4,7,10-tridecatrienilo acetato está presente en mayor abundancia relativa en los machos vírgenes. Asimismo, el ácido octanoico y (*Z*) 6-dodeceno solo están presentes en los adultos experimentados, mientras que el 1-tetradecanol solo está presente en dos adultos vírgenes.

El análisis de PERMANOVA no mostró diferencias significativas en los perfiles volátiles según el sexo (Pseudo- $F_{(2,98)}=0,373$ ;  $p=0,7717$ ) o la experiencia sexual de los adultos de *Ph. operculella* ( $p=0,7108$ ). Sin embargo, si se encontró diferencias significativas en los perfiles volátiles según la experiencia sexual como factor anidado al sexo (Pseudo- $F_{(2,98)}=5,3778$ ;  $p=0,0003$ ). Efectivamente, el perfil volátil de la Fx es

significativamente diferente al de la Fv ( $p=0,0062$ ) y del Mv ( $p=0,002$ ). Sin embargo, el perfil volátil del Mx no mostró diferencias significativas con relación Mv ( $p=0,094$ ), Fv ( $p=0,086$ ) y del Fx ( $p=1,0$ ). Además, el perfil volátil del Mv no mostró diferencias significativas al de Fv ( $p=1,0$ ). La similitud del perfil volátil según el sexo y la experiencia sexual de machos y hembras de *Ph. operculella* es mostrado en el análisis NMDS, ver Figura 18.



**Figura 18.** Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles volátiles de adultos de la *Phthorimaea operculella* clasificados por sexo y experiencia sexual. NMDS (estrés=0,1149) basada en similitudes de Bray-curtís. Fv, hembra virgen; Fx, hembra experimentada; Mv, macho virgen; Mx, macho experimentado.

### 5.3.2 Compuestos cuticulares de *Phthorimaea operculella*

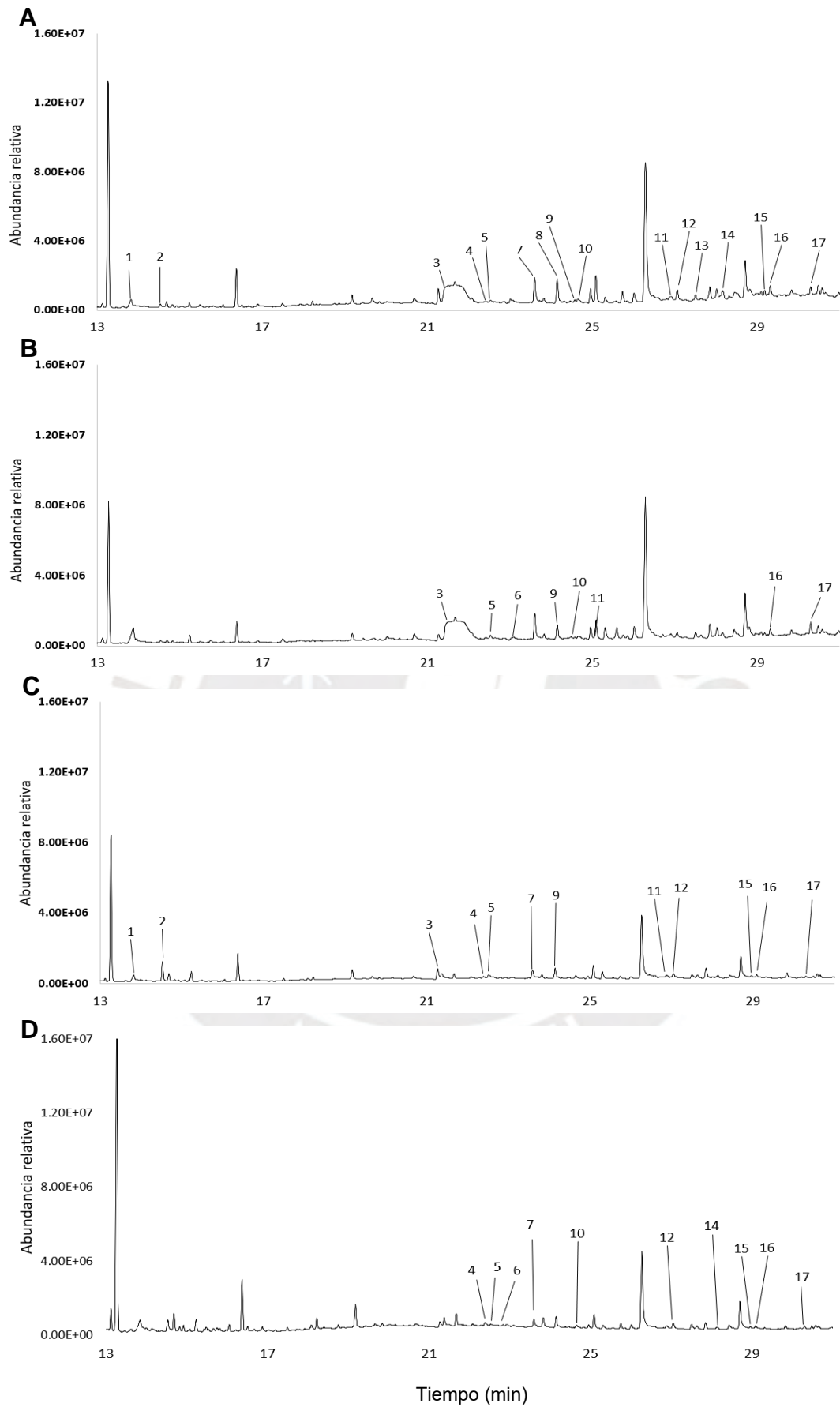
Se identificaron 11 compuestos cuticulares en los abdómenes de los adultos de *Ph. operculella*, los cuales pertenecen a las familias de alcanos y ácidos grasos (Tabla 4 y Figura 21). Además, el ácido oleico es el compuesto de mayor abundancia presente en machos vírgenes y en hembras experimentadas. El 3- metil heptadecano es el compuesto cuticular más abundante en hembras vírgenes y está presente también en machos vírgenes.

El análisis de PERMANOVA mostró diferencias significativas en los perfiles cuticulares según el sexo; Pseudo- $F_{(0,74)}=12,796$ ;  $p<0,0001$ ), y la experiencia sexual ( $p<0,0001$ ). Adicionalmente, se encontraron diferencias significativas en los perfiles cuticulares según la experiencia sexual como factor anidado al sexo (Pseudo- $F_{(0,74)}=5,542$ ;  $p<0,0001$ ). Efectivamente, el perfil cuticular de la Fx es significativamente diferente al de la Fv ( $p=0,0318$ ), Mv ( $p=0,0058$ ) y del Mx ( $p=0,0002$ ). El perfil cuticular del Mx mostró diferencias significativas con relación al Mv ( $p=0,00012$ ) y de la Fv ( $p=0,0002$ ). Además, el perfil cuticular de la Fv es significativamente diferente al Mv ( $p=0,021$ ) y Mx ( $p=0,0002$ ).

**Tabla 3.** Compuestos químicos volátiles detectadas en adultos de *Phthorimaea operculella* (abundancia  $\times 10^3 \pm SD$ )

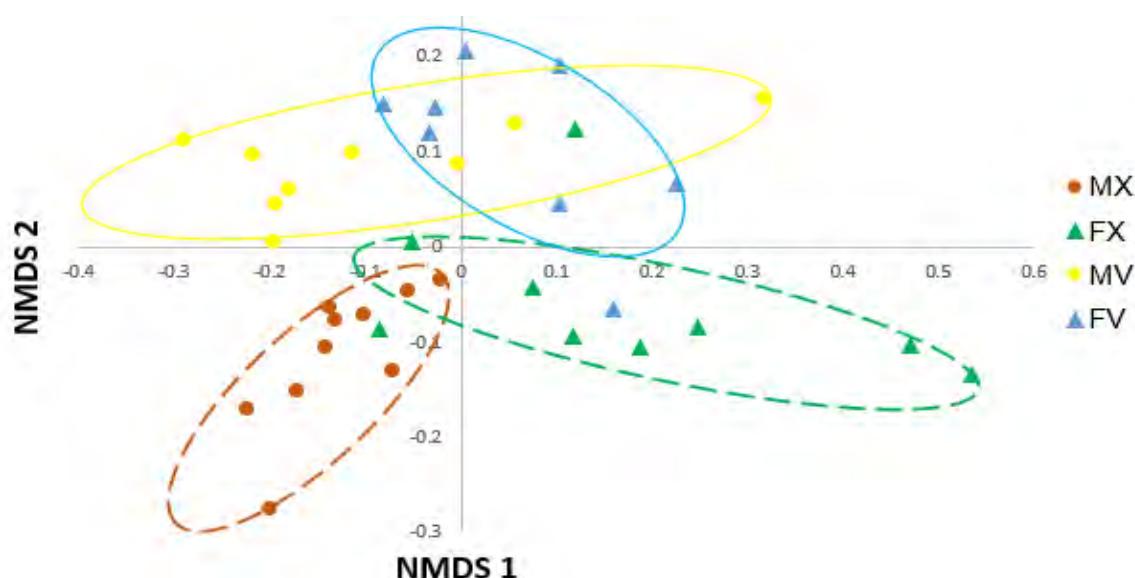
Pico	Compuesto químico	Fórmula molecular	RI* Calculado	Tiempo de retención (min)	Fx N=10	Fv N=9	Mx N=10	Mv N=10
1	Ácido octanoico	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	1159	13.89	634.17 ± 588.02	ND	348.26 ± 452.63	ND
2	6-(Z)- dodeceno	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	1191	14.53	122.35 ± 116.20	ND	175.30 ± 197.47	ND
3	Hexadecano	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	1599	21.38	308.71 ± 854.31	186.97 ± 290.37	349.53 ± 847.48	ND
4	(E, Z, Z) - 4,7,10 - Acetato tridecadienilo	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	1669	22.40	67.22 ± 111.29	ND	28.84 ± 48.30	169.57 ± 152.06
5	Unknown	Unknown	1667	22.41	502.88 ± 1330.38	47.61 ± 91.09	6.75 ± 5.55	115.96 ± 316.92
6	1-tetradecanol	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O	1679	22.53	ND	91.46 ± 31.85	ND	107.43 ± 98.16
7	Ácido tetradecanoico	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	1754	23.60	249.14 ± 112.80	ND	266.63 ± 335.30	187.87 ± 94.26
8	n-pentadecanol	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O	1779	23.96	6.65 ± 2.52	ND	ND	ND
9	Octadecano	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	1792	24.12	26.42 ± 78.36	5.93 ± 10.27	2.61 ± 1.81	ND
10	Acetato (E) -11-tetradecenil	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	1822	24.49	24.34 ± 7.14	28.04 ± 15.34	ND	28.14 ± 23.47
11	Unknown	Unknown	1981	26.54	7.74 ± 8.04	12.99 ± 14.24	17.86 ± 13.99	ND
12	Ácido tetradecanoico, etil ester	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	2008	26.93	15.63 ± 16.70	ND	22.66 ± 41.01	6.33 ± 9.63
13	Unknown	Unknown	2035	27.25	3.10 ± 2.23	ND	ND	ND
14	Heneicosano	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	2100	28.04	11.50 ± 11.92	ND	ND	10.83 ± 15.20
15	Unknown	Unknown	2183	29.01	14.30 ± 10.60	ND	11.77 ± 16.48	23.56 ± 53.90
16	Docosano	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	2201	29.20	4.28 ± 3.46	1.60 ± 2.59	1.84 ± 2.38	4.99 ± 13.00
17	Tricosano	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	2300	30.31	9.05 ± 5.16	4.10 ± 4.59	6.11 ± 7.35	6.01 ± 6.60

\* Índice de retención (RI) calculado utilizando la columna DB-5MS



**Figura 19.** Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales volátiles en adultos *Phthorimaea operculella* según su sexo y experiencia sexual. (A) Fx, (B) Fv, (C) Mx, (D) Mv. Los picos en la gráfica representan los compuestos identificados.

La similitud del perfil cuticular según el sexo y experiencia sexual de machos y hembras de *Ph. operculella* es mostrado en el análisis NMDS, ver Figura 20.



**Figura 20.** Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles cuticulares de adultos de la *Phthorimaea operculella* clasificados por sexo y experiencia sexual. NMDS (estrés=0,1126) basada en similitudes de Bray-curtís. Fv, hembra virgen; Fx, hembra experimentada; Mv, macho virgen; Mx, macho experimentado.

## 5.4 Identificación química de compuestos de *Premnotrypes fractirostris*

### 5.4.1 Compuestos volátiles de *Premnotrypes fractirostris*

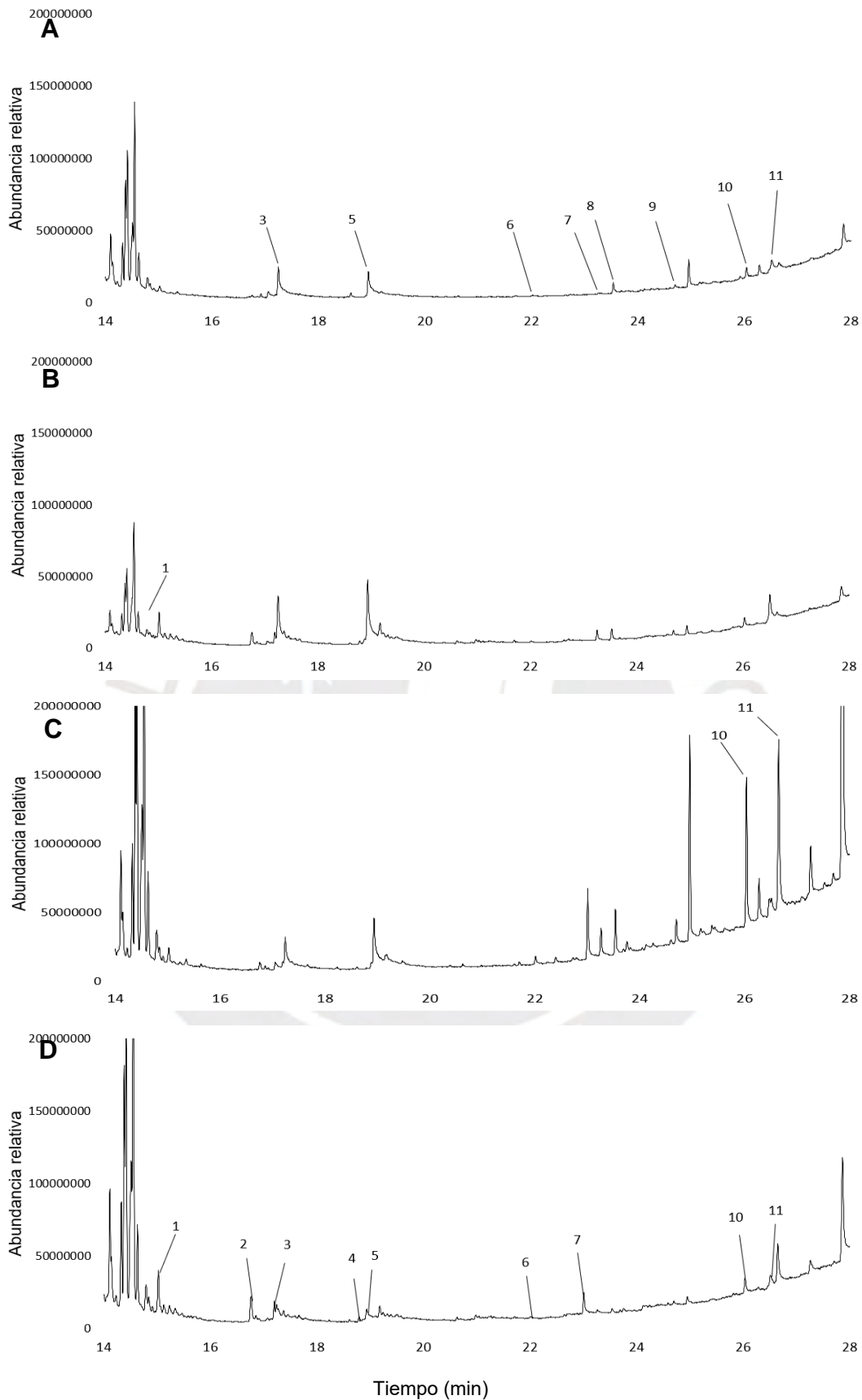
Se identificaron 23 compuestos volátiles producidos por adultos de *Pr. fractirostris*, los cuales pertenecen a las familias de terpenos, alcanos, alcoholes, ácidos grasos, acetatos y ésteres (Tabla 5, Figura 22). Además, el tolueno y el 1,3- dimetilbenzeno son compuestos de mayor abundancia relativa presentes en adultos del primer turno de colecta. El butanol es el compuesto volátil más abundante en ambos sexos del segundo turno de colecta, mientras que el 2-butoxi etanol está presente en machos de ambos turnos. Asimismo, el dodecano es está presente en ambos sexos de ambos turnos en diferentes abundancias relativas.

El análisis de PERMANOVA no mostró diferencias significativas en los perfiles volátiles según su sexo (Pseudo- $F_{(1,72)}=2,198$ ;  $p=0,09$ ) o del turno de colecta ( $p=0,1037$ ). Además, no se encontraron diferencias significativas en los perfiles volátiles según los turnos de colecta anidado al sexo (Pseudo- $F_{(1,72)}=1,50$   $p=0,19$ ).

**Tabla 4.** Cantidad media (ng/IN  $\pm$  SD) de compuestos cuticulares en adultos de *Phthorimaea operculella*.

Pico	Compuesto químico	Fórmula molecular	RI* Calculado	Tiempo de retención (min)	Fx N=9	Fv N=9	Mx N=8	Mv N=9
1	3- metilheptadecano	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	1740	15.00	ND	13.07 $\pm$ 11.54	ND	12.92 $\pm$ 13.42
2	Nonadecano	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	1906	16.75	ND	ND	ND	55.89 $\pm$ 79.11
3	n-ácido hexadecanoico	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	1959	17.28	1.41 $\pm$ 1.72	ND	ND	8.49 $\pm$ 17.38
4	Unknown	Unknown	2117	18.79	ND	ND	ND	43.69 $\pm$ 73.44
5	Ácido oléico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	2135	18.95	186.22 $\pm$ 270.24	ND	ND	334.36 $\pm$ 116.94
6	Pentacosano	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	2497	22.02	87.24 $\pm$ 219.67	ND	ND	46.56 $\pm$ 76.42
7	Unknown	Unknown	2659	23.26	21.31 $\pm$ 14.73	ND	ND	31.92 $\pm$ 26.78
8	Heptacosano	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	2701	23.56	16.67 $\pm$ 23.65	ND	ND	ND
9	Unknown	Unknown	2854	24.67	25.68 $\pm$ 58.64	ND	ND	ND
10	Unknown	Unknown	3055	26.03	54.95 $\pm$ 13.29	ND	204.13 $\pm$ 65.85	71.74 $\pm$ 55.88
11	Unknown	Unknown	3151	26.64	297.2 $\pm$ 23.99	ND	287.64 $\pm$ 105.97	209.41 $\pm$ 201.44

\* Índice de retención (RI) calculado utilizando la columna DB-5MS



**Figura 21.** Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales cuticulares en adultos *Phthorimaea operculella* según su sexo y experiencia sexual. (A) Fx, (B) Fv, (C) Mx, (D) Mv. Los picos en la gráfica representan los compuestos identificados.

Efectivamente, el perfil volátil de Fv-T1 no es significativamente diferente al de la Fv-T2 ( $p=0.81$ ); Mv-T1 ( $p=0.68$ ) y del Mv-T2 ( $p=0.15$ ). Además, Mv-T1 no es significativamente diferente al del Fv-T2 ( $p=0.82$ ) y Mv-T2 tampoco es significativamente diferente a Fv-T2 ( $p=0.68$ ) y Mv-T1 ( $p=0.15$ ).

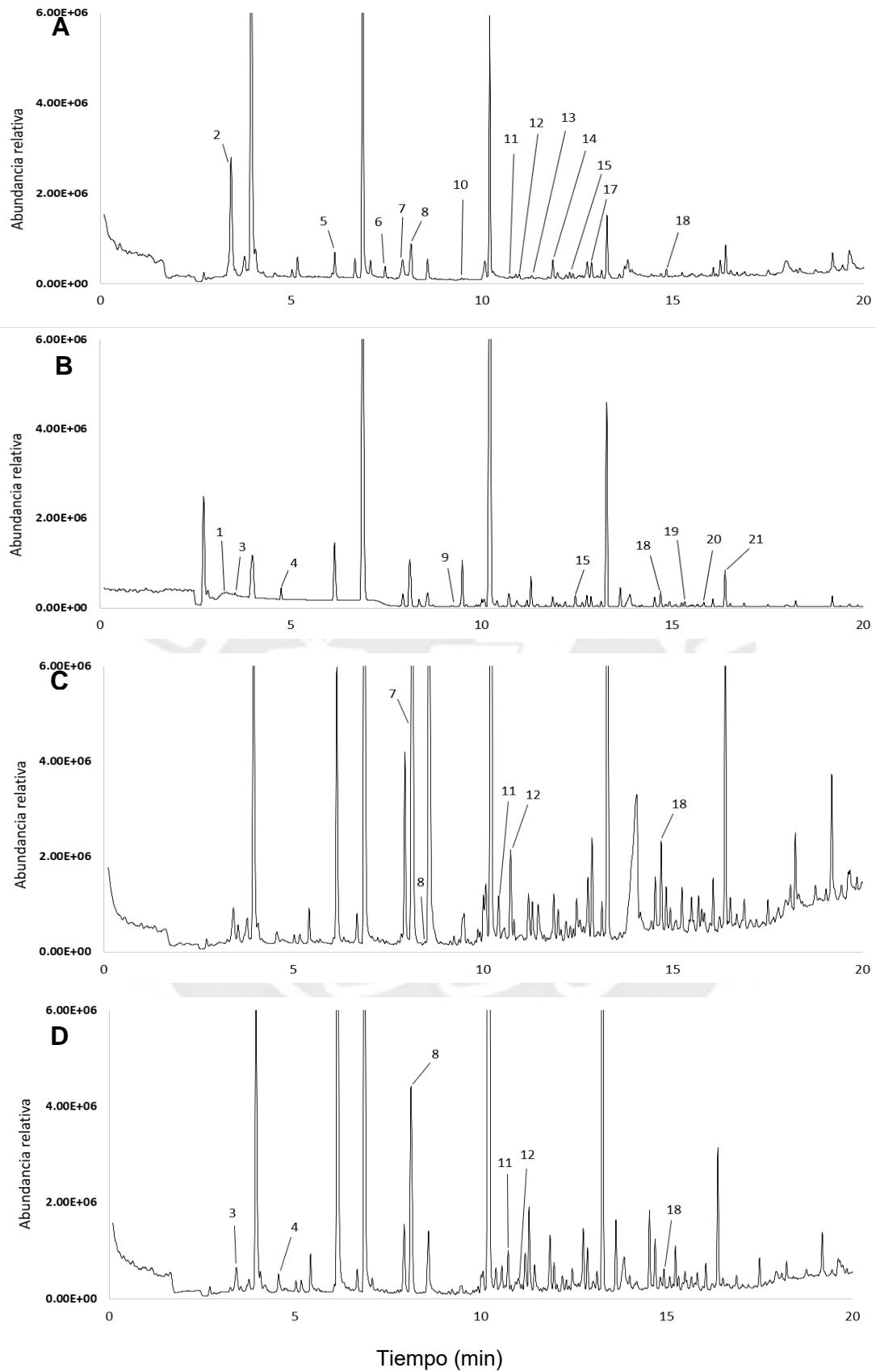
La similitud del perfil volátil según el sexo y el turno de colecta de machos y hembras de *Pr. fractirostris* es mostrado en el análisis NMDS, ver Figura 23.



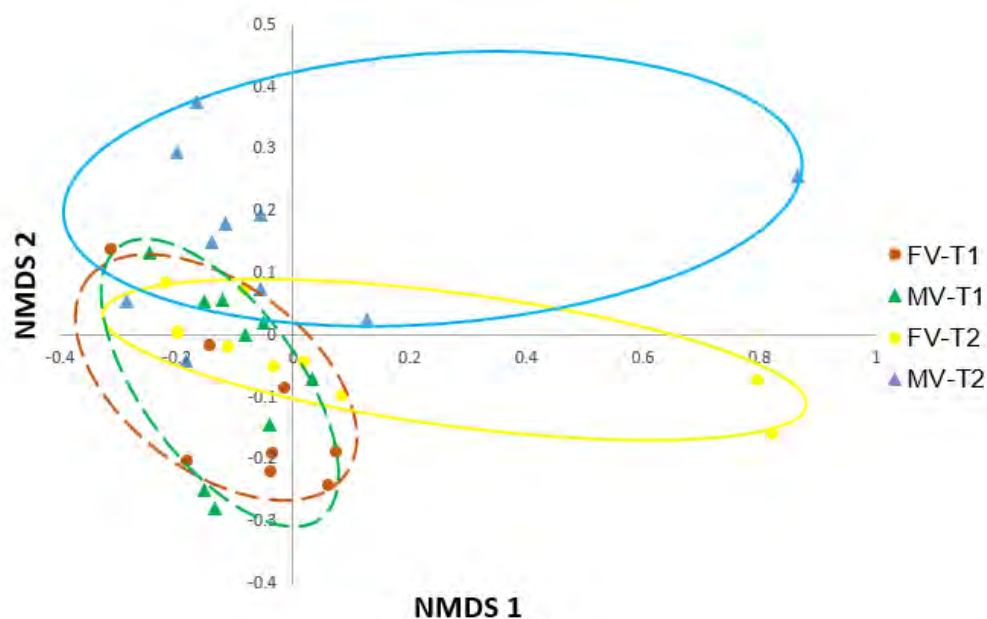
**Tabla 5.** Compuestos químicos volátiles detectadas en adultos de *Premnotrypes fractirostris* (abundancia  $\times 10^4 \pm SD$ )

Pico	Compuesto químico	Fórmula	RI*	Tiempo de	Fv-T1	Fv-T2	Mv-T1	Mv-T2
		molecular	Calculado	retención (min)	N=9	N=9	N=10	N=10
1	Unknown	Unknown	601	3.66	ND	0.62 ± 0.47	ND	ND
2	Metilciclopentano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	645	4.26	45.06 ± 41.28	ND	ND	ND
3	1- Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	666	4.57	ND	44.99 ± 43.45	ND	61.09 ± 81.33
4	2-Hexanona	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	694	4.96	ND	0.24 ± 0.51	ND	3.99 ± 10.54
5	Tolueno	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	767	6.13	1001.90 ± 763.34	ND	ND	ND
6	Dimetil-3,5 Ciclohexanona	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	836	7.38	30.98 ± 45.74	ND	ND	ND
7	Dimetil -1,3- Benceno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	896	8.59	300.01 ± 245.29	ND	314.62 ± 221.27	ND
8	2-butoxietanol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	903	8.72	5.09 ± 8.67	ND	1.42 ± 2.66	0.10 ± 0.13
9	Dimetilsulfona	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	911	8.89	ND	5.86 ± 4.64	ND	4.00 ± 4.85
10	α-Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	939	9.47	261.57 ± 371.36	ND	ND	ND
11	β-Pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	991	10.55	1.08 ± 1.18	ND	1.23 ± 0.86	ND
12	Decano	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	1000	10.74	35.26 ± 34.38	ND	37.39 ± 30.45	ND
13	3-Careno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1017	11.08	0.93 ± 1.09	ND	ND	ND
14	Unknown	Unknown	1041	11.58	0.60 ± 0.71	ND	ND	ND
15	Unknown	Unknown	1095	12.65	63.52 ± 79.37	7.82 ± 8.79	ND	ND
16	Nonanal	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	1097	12.72	ND	ND	ND	21.20 ± 18.00
17	Undecano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	1100	12.76	89.29 ± 76.84	ND	ND	ND
18	Dodecano	C <sub>11</sub> H <sub>26</sub>	1196	14.62	0.19 ± 0.19	0.12 ± 0.09	0.27 ± 0.30	0.20 ± 0.21
19	Ácido nonanoico	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	1258	15.76	ND	6.09 ± 3.84	ND	ND
20	1- Decanol	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O	1262	15.83	ND	11.86 ± 9.15	ND	ND
21	Tridecano	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	1296	16.44	ND	24.85 ± 20.00	ND	ND
22	Acido 9- octadecanoico, etil ester	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	2141	28.51	ND	ND	ND	11.50 ± 11.17
23	Unknown	Unknown	2223	29.46	ND	ND	ND	41.20 ± 32.16

\* Índice de retención (RI) calculado utilizando la columna DB-5MS



**Figura 22.** Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales volátiles en adultos *Premnotyptes fractirostris* según su sexo y por tiempo de colecta. (A) Fv-T1, (B) Fv-T2, (C) Mv-T1, (D) Mv-T2. Los picos en la gráfica representan los compuestos identificados.



**Figura 23.** Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles volátiles de adultos del *Premnotrypes fractirostris* clasificados por sexo y experiencia sexual. NMDS (estrés=0,0965) basada en similitudes de Bray-curtís. Fv-T1, hembra virgen del primer turno; Mv-T1, macho virgen del primer turno; Fv-T2, hembra virgen del segundo turno; Mv-T2, macho virgen del segundo turno.

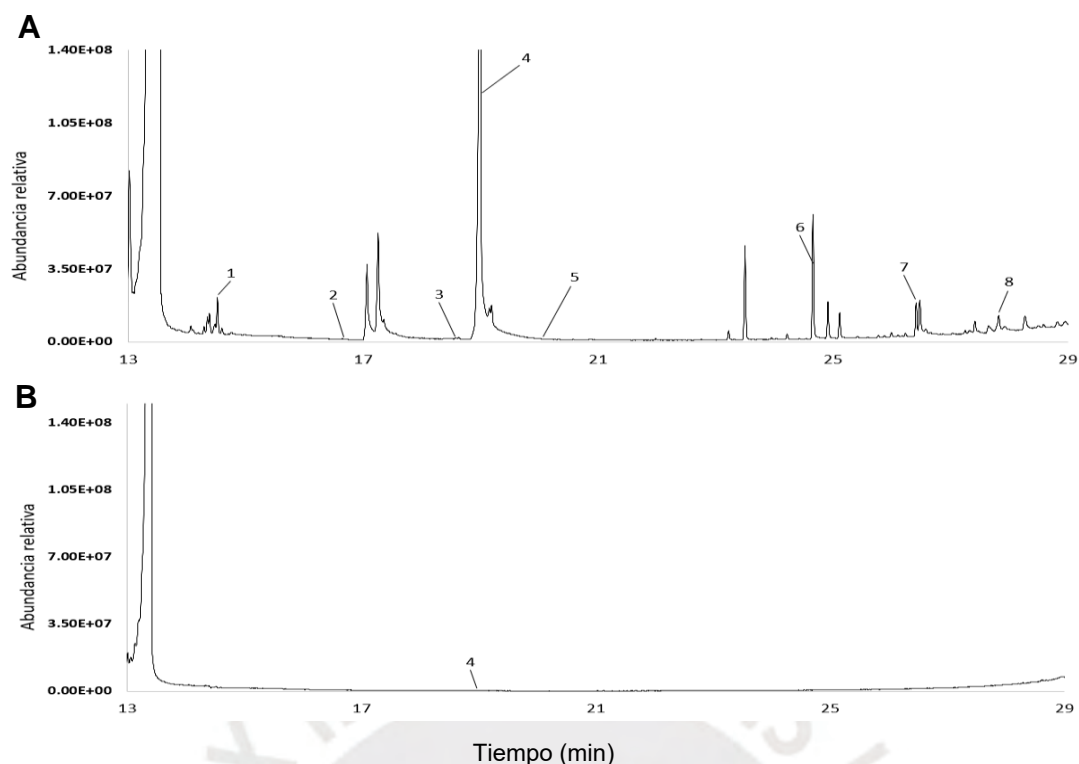
#### 5.4.2 Compuestos cuticulares de *Premnotrypes fractirostris*

Se detectaron 10 compuestos cuticular en los adultos de *Pr. fractirostris*, de los cuales el heptadecano fue identificado (Tabla 6 y Figura 24).

**Tabla 6.** Cantidad media (ng/IN  $\pm$  SD) de compuestos cuticulares en adultos de *Premnotrypes fractirostris*

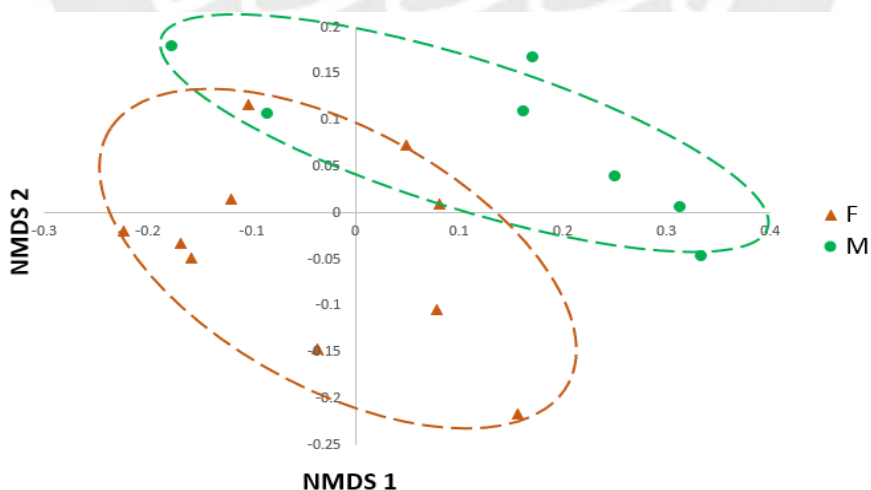
Pico	Compuesto químico	Fórmula molecular	RI* Calculado	Tiempo de retención (min)	F N=10	M N=10
1	Heptadecano	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	1696	14.48	95.01 $\pm$ 72.67	ND
2	Unknown	Unknown	1899	16.66	2.1 $\pm$ 1.35	ND
3	Unknown	Unknown	2105	18.64	10.42 $\pm$ 19.2	ND
4	Unknown	Unknown	2147	19.02	208.36 $\pm$ 646.83	5.92 $\pm$ 9.22
5	Unknown	Unknown	2242	19.87	3.61 $\pm$ 3.53	ND
6	Unknown	Unknown	2862	24.68	30.99 $\pm$ 56.29	ND
7	Unknown	Unknown	3126	26.43	98.02 $\pm$ 167.97	ND
8	Unknown	Unknown	3350	27.8	95.73 $\pm$ 167.9	ND

\* Índice de retención (RI) calculado utilizando la columna DB-5MS



**Figura 24.** Espectro cromatografía GC-MS (EI) de señales cuticulares en adultos *Premnotrypes fractirostris* según su sexo (A) F, (B) M. Los picos en la gráfica representan los compuestos identificados.

El análisis de PERMANOVA mostro diferencias significativas en los perfiles cuticulares según el sexo; Pseudo- $F_{(3,10)}=4,2803$ ;  $p=0,023$ ). Efectivamente, el perfil cuticular de la F es significativamente diferente al de la M ( $p=0,023$ ), ver Figura 25.



**Figura 25.** Escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS) de perfiles cuticulares de adultos del *Premnotrypes fractirostris* clasificados por sexo y experiencia sexual. NMDS (estrés=0,0940) basada en similitudes de Bray-curtís. Fv, hembra virgen; M, macho virgen.

## 6. Discusiones

La producción química de insectos, usualmente pueden ser afectadas por diferentes factores tales como es el sexo, experiencia sexual, edad, humedad, temperatura, alimentación, ritmo circadiano de copula, interacción con plantas u otros organismos (Borrero, 2018; Yan & Liebig; 2021). En el presente trabajo se ha determinado que en el caso de las polillas *Ph. opercuella*, la composición química volátil se ve afectada por la experiencia sexual anidada al sexo y el perfil cuticular se ve afectada por el sexo y la experiencia sexual. Mientras que en el escarabajo *Pr. fractirostris* el perfil volátil no se ve afectada por el sexo ni el tiempo de colecta. Sin embargo, el factor determinante en la producción química cuticular fue el sexo.

### Ritmo circadiano y producción química de la polilla *Ph. opercuella*

Si bien esta polilla tiene actividad nocturna y se oculta en la maleza o tubérculos (Espinoza et al., 2014), los resultados demostraron que también pueden reproducirse en horarios diurnos. En estudios relacionados al ritmo circadiano de lepidópteras, la actividad reproductiva en algunas especies como *Diatraea saccharalis* (Sandoval, 2019) y *Pectinophora gossypiella* (De Melo et al., 2012) es nocturna y en diferentes horarios, indicando que es posible la diferencia de horarios al momento de la producción de feromonas para realizar el llamado al macho. Asimismo, los resultados de la producción química de compuestos volátiles de la polilla *Ph. operculella* demostró la presencia de hexadecano, el cual ha sido reportado como un compuesto glandular de *Copitarsia pos. uncinata* (Altamar et al., 2015). Aunque, el (E,Z,Z)-4,7,10-acetato tridecatrienilo ha sido reportado como parte del bouquet feromonal sexual producidas por hembras de *Ph. operculella* (Persoons et al., 1976, Raman, 1984, Ryohei et al., 1976), se determinó que este compuesto también es producido por los machos. Probablemente se deba a que el bouquet de feromonas sexuales para esta polilla no solo contiene este compuesto. Por tal motivo, pueda ser emitida por el macho. Además, es probable que la producción de este compuesto se deba más a un estímulo de agregación que un estímulo sexual, por ejemplo, en estudios relacionados a otros insectos se ha demostrado que en especies como *A. diaperinus* (Calla, 2022), producen señales que son emitidos por ambos sexos y estos están relacionados a la experiencia sexual, lo que indicaría la posibilidad que ambos sexos compartan compuestos químicos importantes en su comunicación. Otros compuestos identificados en el presente trabajo tales como 1 - tetradecanol presentes en las

polillas de ambos sexos y el n- pentadecanol solo en polillas hembras, también son producidos por otras especies de Lepidopteras del género *Adoxophyes* (Noguchi et al., 1985), con esto demostramos que la producción química de alcoholes es compartida por otras especies de polillas.

La producción de compuestos cuticulares tales como n- ácido hexadecanoico y el ácido oleico identificados en el presente estudio para polillas de ambos sexos, no han sido reportadas en otras Lepidopteras. Sin embargo, ambos compuestos si han sido reportados en el escarabajo, por ejemplo, *Bembidion obtusidens* que produce estos compuestos volátiles en una relación de 2:1 (Evans, 1982), otros escarabajos que también han reportado ambos compuestos cuticulares son *Laemostenus punctatus*, *Duvalius milutini* y *Pheggomisetes ninae* (Vesović et al., 2015). No obstante, el escarabajo *Pheggomisetes ninae* también comparte compuestos cuticulares como pentacosano y heptacosano que fueron identificados en polillas de ambos sexos. Con esto demostramos que existen compuestos cuticulares de polillas *Ph. operculella* presentes en la producción química de algunos escarabajos.

### **Ritmo circadiano y producción química del escarabajo *Pr. fractirostris***

Los resultados del ritmo circadiano del escarabajo *Pr. fractirostris* demostraron su actividad nocturna (Yábar et al., 2006). Sin embargo, los intentos de copula y tocamientos, no solo son nocturnos sino están presentes prácticamente las 24 horas, pero con menor frecuencia. Esto indicaría la necesidad de interactuar entre ellos (machos y hembras), lo que sugiere que este comportamiento se deba a la atracción al momento de tocarse. Asimismo, los resultados de la producción química de compuestos volátiles en escarabajos *Pr. fractirostris* demostraron la presencia tolueno en hembras y butanol presente en ambos sexos. El tolueno ha sido reportado como compuesto volátil en el escarabajo *A. diaperinus* (Mayorga, 2024) y el butanol es un compuesto presente en escarabajos como *Anoxia australis* (Rochat et al., 2002) y *Pachylomerus femoralis* (Burger & Petersen, 1991). También es importante destacar la presencia de compuestos volátiles como  $\alpha$ -Pineno,  $\beta$ -Pineno, undecano y dodecano que están presentes en escarabajos hembras, estos compuestos se han reportado en escarabajos de otras especies, por ejemplo, *A. diaperinus* (Griepink et al., 1995; Hassemer et al., 2015, Mayorga, 2024). Además, el compuesto volátil undecano esta reportado como alomona para los escarabajos *Notagonum submetallicum* (Moore, 1979) y *Thamiaraea fuscicornis* (Gnanasunderam et al., 1981) y feromona de alarma

para el género *Anchomenus* (Bonacci et al., 2011). Además, el compuesto volátil encontrado en ambos sexos (dodecano) es un compuesto reportado para otras especies de escarabajos del género *Morion* (Will et al., 2000) también como una alomona. Estas similitudes indican que probablemente el undecano y dodecano son compuestos importantes para la comunicación del *Pr. fractirostris*.

## 7. Conclusiones

- Los resultados obtenidos demostraron que la producción química volátil es afectada de manera significativa en las polillas *Ph. operculella*, tomando como factor la experiencia sexual anidada al sexo.
- Se demostró que la producción química cuticular para la polilla *Ph. operculella*, es afectada de manera significativa tomando como factor el sexo y experiencia sexual.
- Se demostró que la producción química volátil del escarabajo *Pr. Fractirostris* no presenta diferencia significativa en función al sexo ni al tiempo de colecta.
- Se demostró que la producción química cuticular del escarabajo *Pr. Fractirostris*, es afectada de manera significativa tomando como factor el sexo.
- Las polillas *Ph. operculella*, mostró un ritmo circadiano asociado a la copula, el cual tuvo una mayor actividad sexual entre 13:00 y 16:00 horas bajo condiciones de laboratorio.
- El escarabajo *Pr. Fractirostris*, mostró un ritmo circadiano asociado a la copula, el cual tuvo una mayor actividad sexual entre 23:00 y 6:00 horas bajo condiciones de laboratorio.
- Se identificaron 17 compuestos volátiles en polillas adultas de *Ph. operculella* que pertenecen a las familias de alcanos, alcoholes, ácidos grasos, acetatos y ésteres. Entre ellos, se identificó hexadecano que fue reportado en otras polillas. Además, (E,Z,Z)-4,7,10- acetato tridecatrienilo se encuentra presente en ambos sexos. También, alcoholes como 1-tetradecanol, n-pentadecanol están presentes en otras especies de polillas.
- Se identificaron 11 compuestos cuticulares en polillas adultas de *Ph. operculella* que pertenecen a las familias de alcanos y ácidos grasos. Entre ellos, el ácido hexadecanoico, ácido oleico, pentacosano y heptacosano son compuestos presentes en ambos sexos que no han sido reportadas en polillas, pero si en diferentes especies de escarabajos.

- Se identificaron 23 compuestos volátiles en los adultos de *Pr. fractirostris*, que pertenecen a las familias de terpenos, alcanos, alcoholes, ácidos grasos, acetatos y ésteres. Entre ellos, el tolueno, butanol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, undecano y dodecano que son compartidos por otros escarabajos en algunos casos como feromonas de alarma y en otras como alomonas.
- Se identificaron 8 compuestos cuticulares del escarabajo *Pr. fractirostris*. Entre ellos, el heptadecano es un compuesto presente solo en escarabajos hembras.

## 8. Perspectivas futuras

Es necesario realizar bioensayos para determinar si los compuestos identificados son feromonas sexuales, de agregación o de alarma. Asimismo, se podría realizar ensayos de electroantenografía, para determinar la respuesta sensitiva de los insectos a estos químicos.



## 9. Referencias bibliográficas

- Acevedo, F. (2020). Ecología química de interacciones entre plantas, insectos y controladores naturales de plagas herbívoras. In P. Benavides Machado & C. E. Góngora (Eds.), *El Control Natural de Insectos en el Ecosistema Cafetero Colombiano* (pp. 106–141). Cenicafé.
- Acín, P. (2009). *Identificación de feromonas y proteínas implicadas en la percepción feromonal de lepidópteros plaga*. [Tesis de maestría], Universidad de Barcelona.
- Alcázar, J & Cisneros F. (1999). Taxonomy and bionomics of the Andean potato weevil Complex: *Premnotrypes spp.* and related genera. *International Potato Centre Program Report*, 98,141-151.
- Aldás, M., (2012). *Uso de insecticidas en el cultivo de papa (Solanum tuberosum), por los socios de la corporación de asociaciones agropecuarias del canton quero "COAGRO-Q"*. [Tesis de licenciatura], Universidad Técnico de Ambato.
- Altamar, P., Pérez, D., Rodríguez, D., & Coy Barrera, E. (2015). Análisis preliminar de los volátiles almacenados en la glándula sexual de *Copitarsia pos. uncilata* con miras a su control etológico en cultivos ornamentales. *V Congreso Latinoamericano de Agroecología-SOCLA*.
- Alvarado, A. (2020). *Técnicas de manejo integrado de plagas en Persea americana Mill., Passiflora edulis Sims., y Coffea arabica L.* [Tesis de Licenciatura], Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Ando, T., & Yamakawa, R. (2011). Analyses of lepidopteran sex pheromones by mass spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, 30, 990-1002.
- Attygalle, A., Jham, G., Svatoš, A., Frighetto, R., Ferrara, F., Vilela, E., Uchoa, M., & Meinwald, J. (1996). (E,Z,Z)-3,8,11-Tetradecatrienyl acetate, major sex pheromone component of the tomato pest *Scrobipalpaloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 4, 305-314.
- Bartelt, R., Zilkowski, B., Cossé, A., Dayton, C., Singh, N. (2009). Male-produced aggregation pheromone of the lesser mealworm beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 422-434.
- Bakthavatsalam, N. (2016). Semiochemicals. *Ecofriendly Pest Management for Food Security*, 19, 563-611.

- BCR (2024, 21 de marzo), *Actividad económica: ENERO 2024* [Archivo en PDF], Notas de estudio del BCR. <https://www.bcrp.gob.pe/docs/Publicaciones/Notas-Estudios/2024/nota-de-estudios-21-2024.pdf>
- Bellés, X. (2009). Origen y evolución de la metamorfosis de los insectos. *Instituto de Biología Evolutiva*, 4, 191-198.
- Borrero, F., Barreto, N., Aragón, S., Rivera, H., Oehlschlager, C., & Cotes, A. (2018). Las feromonas en el control de insectos. *Control biológico fitopatógenos, insectos y ácaros*, 1, 411-453.
- Borrero, F. (2018). Investigación, desarrollo y escalamiento de feromonas de insectos. *Control Biológico Fitopatógenos, Insectos y Ácaros*, 2, 744-761.
- Bosa, F., Witzgall, P., Bengtsson, M., & Cotes, A. (2005). Caracterización biológica de los compuestos de la feromona sexual de *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 139-144.
- Botina, L. (2015), *Resistencia de la polilla de la papa Tecia solanivora povolny (Lepidoptera: Gelenchiidae) a la aplicación de insecticidas en poblaciones provenientes de los municipios de Iles, Pasto (Nariño) y Siachoque (Boyacá)*. [Tesis de Licenciatura], Universidad de Nariño.
- Bonacci, T., Brandmayr, P., Zetto, T., Perrotta, I., Guarino, S., Peri, E., & Colazza, S. (2011). Volatile compounds released by disturbed and undisturbed adults of *Anchomenus dorsalis* (Coleoptera, Carabidae, Platynini) and structure of the pygidial gland. *ZooKeys*, 81, 13.
- Bravo-Portocarrero, R., Idme-Bustinza, V., Lima-Medina, I., Cornejo-Condori, G., & Casa-Coila, V. (2021). Diversidad de gorgojo de los Andes (Coleoptera: Curculionidae) en papa (*Solanum spp.*) en Puno-Perú. *Revista Colombiana de Entomología*, 47(2), 10797.
- Brezolin, A., Martinazzo, J., Muenchen, D., Cezaro, A., Rigo, A., Steffens, C., Steffens, J., Blassioli, M. & Borges, M. (2018). Tools for detecting insect semiochemicals: a review. *Analytical and Bioanalytic Chemistry*, 410(17), 4091-4108.
- Burger, B., Nell, A., Smit, D., Mackenroth, W., Groche, D. & Atkinson, P. (1993). Constituents of wing gland and abdominal hair pencil secretions of male African sugarcane borer, *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, 19, 2255-2277.
- Burger, B. & Petersen, W. (1991). Semiochemicals of the Scarabaeinae, III: identification of the attractant for the dung beetle *Pachylomerus femoralis* in the

- fruit of the spineless monkey orange tree, *Strychnos madagascariensis*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 46(11-12), 1073-1079.
- Carrasco, F. (1961). Sistemática y biología del Gorgojo de los Andes *Premnotrypes latithorax* Pierce, 1914 (Coleopt.: Curculionidae). *Revista Peruana de Entomología*, 4, 30-42.
- Canales, O. (2014). *Eficiencia de las escuelas de campo para agricultores (ECAs) y la capacitación tradicional en el manejo integrado del gorgojo de los Andes (Premnotrypes spp.) en el cultivo de papa*. [Tesis de licenciatura], Universidad Nacional de Huancavelica.
- Calla, E., Martel, C., & Ibañez, A. (2022). Chemical signals associated with gender and sexual experience affect mating and the attractiveness of the poultry pest, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 115(4), 1156-1163.
- Calla, E., (2022). *Diseño y desarrollo de biotrapas avanzadas para la desinfección de granjas avícolas afectadas por Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae)*. [Tesis doctoral], Pontificia Universidad Católica del Perú.
- CIP (2012, septiembre). *Guía de capacitación manejo de plagas de la papa en la región andina del Perú*. <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/a116ecbf-1e42-454f-841d-bc1dbd491ca9/content>
- Coronado, C. (2012). *Aplicación de un modelo fenológico y geográfico para la distribución de la polilla de la papa, Phthorimaea operculella (Zeller), en el valle del Mantaro*. [Tesis de maestría], Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Cruz, A. (2017), *Situación actual del consumo de pesticidas en el Perú*. [Tesis de licenciatura], Universidad Nacional Agraria la Molina.
- De Melo, E., Degrande, P., Cessa, R., & Barros, R. (2012). Comportamiento de *Pectinophora gossypiella* (Gelechiidae) (oruga rosada) machos capturados con trampas de feromona sintética en campos de algodón. *Revista Acta Biológica Colombiana*, 17(3), 625-635.
- Econex, (2024). *Phthorimaea operculella biocontrol de la polilla patata*. <https://www.phthorimaeaoperculella.com/#:~:text=Morfolog%C3%ADa%20y%20biolog%C3%ADa,un%20capullo%20de%20color%20claro>.
- Eller, F., Bartelt, R., Shasha, B., Schuster, D., Riley, D., Stansly, P., Mueller, T., Shuler, K., Johnson, B., Davis, J. & Sutherland, C. (1994). Aggregation pheromone for

- the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae). Identification and field activity. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 1537-1555.
- Espinoza, H., Rivera, J., Brown, J. & Weller, S. (2014). Manejo integrado de plagas de papa en Honduras. *Fundación Hondureña De Investigación Agrícola*, 22.
- Evans, W. (1982). *Oscillatoria* sp. (Cyanophyta) mat metabolites implicated in habitat selection in *Bembidion obtusidens* (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Chemical Ecology*, 8, 671-678.
- FAO (2024). *Production quantities of potatoes by country*. [Graficas visualizada]. Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- Garzón, J. (2016). *Evaluación de la adición de compuestos químicos (feromonas y kairomonas) a trampas cromáticas, sobre la captura de trips plaga en un cultivo de flores de exportación* [Tesis doctoral], Universidad Nacional de Colombia.
- Gnanasunderam, C., Young, H. & Butcher, C. (1981). Ethyl decanoate as a major component in the defensive secretion of two New Zealand *Aleocharine* (Staphylinidae) beetles - *Tramiathaea cornigera* (Broun) and *Thamiaraea fuscicornis* (Broun). *Journal Chemical of Ecology*, 7, 197-202.
- Griepink, F., Van Beek, T., Visser, J., Voerman, S., & Groot, A. (1995). Isolation and identification of sex pheromone of *Symmetrischema tangolias* (Gyen) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21, 2003-2013.
- Hassemer, M., Sant'Ana, J., De Oliveira, M., Borges, M., Laumann, R., Caumo, M. & Blassioli-Moraes, M. (2015). Chemical composition of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) abdominal glands and the influence of 1,4-benzoquinones on its behavior. *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 2107-2116.
- Hervé, M. (2021). RVAideMemoire: testing and plotting procedures for biostatistics. R Packag version 09-79. <http://cran.r-project.org/web/packages/RVAideMemoire/>
- Innocenzi, P., Hall, D. & Cross, J. (2001). Components of male aggregation pheromone of *Strawberry blossom* weevil, *Anthonomus rubi* Herbst. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*, 27, 1203-1218.
- INIA (2020, agosto). *Manual técnico manejo integrado del cultivo de papa*. <https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1146/1/MANUAL%20T%C3%89CNICO%20-%20MANEJO%20INTEGRADO%20DEL%20CULTIVO%20DE%20PAPA.pdf>

- Kroschel, J. & Schaub, B. (2013). Biology and ecology of potato tuber moths as major pests of potato. En: Giordanengo, P. Vincent, C. Alyokhin, A. (eds), *Insect Pests of Potato: Global Perspectives on Biology and Management*, 165-192
- Kroschel, J., Sporleder, M. & Carhuapoma, P. (2016). Pest distribution and risk atlas for Africa—potential global and regional distribution and abundance of agricultural and horticultural pests and associated biocontrol agents under current and future climates. *International Potato Center*.
- Kuschel, G. (1956). Revisión de los Premnotrypini y adiciones a los Bagoini (Aporte 17 sobre Coleoptera: Curculionoidea). *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural (Santiago) (Contribuciones Entomológicas)*, 26, 187-235.
- Lazo, C. & Gamboa, N. (1997). Contaminación de suelos dedicados al cultivo de papa por pesticidas. *Revista de Química*, 11(1), 49-57.
- Loayza, A. (2021). *Patrones de distribución del gorgojo de los Andes (Premnotrypes Spp., Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) en la región andina del Cusco*. [Tesis de licenciatura], Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Llancari, W. (2014), *Eliminación de la fauna insectil del suelo por la aplicación de pesticidas en el cultivo de papa comercial en la provincia de Angaraes - Huancavelica* [Tesis de licenciatura], Universidad Nacional de Huancavelica.
- Ma, T., Li, Y., Sun, Z., & Wen, X. (2014). (Z, E)-9, 12-Tetradecadien-1-ol: a major sex pheromone component of *Euzophera pyriella* (Lepidoptera: Pyralididae) in Xinjiang, China. *Florida Entomologist*, 97(2), 496-503.
- Ma, T., Xiao, Q., Yu, Y., Wang, C., Zhu, C., Sun, Z., Chen, X. & Wen, X. (2016). Analysis of tea geometrid (*Ectropis grisescens*) pheromone gland extracts using GC-EAD and GCxGC/TOFMS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(16), 3161-3166.
- Marvaldi, A., & Lanteri, A. (2005). Clave de taxones superiores de gorgojos sudamericanos basada en caracteres de los adultos (Coleoptera, Curculionoidea). *Revista Chilena de Historia Natural*, 78(1), 65-87.
- Mamani, R. (2021), *Determinación del daño producido por el gorgojo de los Andes (Coleóptero: curculionidae) en municipios del Altiplano central- La Paz* [Tesis de licenciatura], Universidad Pública de El Alto.
- Mayorga, V. (2024), *Identificación de compuestos volátiles de Alphetobius diaperinus y estudio de su sensibilidad antenal en función del sexo y la experiencia sexual* [Tesis de licenciatura], Pontificia Universidad Católica del Perú.

- MIDAGRI. (2023, 29 de mayo). *El Perú es el primer productor de papa en América Latina y el sustento de más de 700 mil familias*. <https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/769389-el-peru-es-el-primer-productor-de-papa-en-america-latina-y-el-sustento-de-mas-de-700-mil-familias>
- Montesdeoca, F. Panchi, N., Navarrete, I., Pallo, E., Yumisaca, F., Taípe, A., Espinoza, S. & Andrade-Piedra, J. (2013). Guía fotográfica de las principales plagas del cultivo de la papa en Ecuador. *Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias*, 68.
- Moore, B. (1979). Chemical defense in carabids and its bearing on phylogeny. In: Erwin, T.L., Ball, G.E., Whitehead, D.R., Halpern, A.L. (eds) *Carabid Beetles*. Springer, Dordrecht, 193-203.
- Nesbitt, B., Beevor, P., Cork, A., Hall, D., Murillo, R., & Leal, H. (1985). Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalopsis solanivora*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38(1), 81-85.
- Noguchi, H., Sugie, H., Tamaki, Y., & Oomasa, Y. (1985). Sex pheromone components and related compounds released by virgin females of *Adoxophyes sp.* and *Adoxophyes orana fasciata* (Lepidoptera: Tortricidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 29 (4), 278-283.
- OMS (2022, 15 de septiembre). *Residuos de plaguicidas en los alimentos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., 100 Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *vegan: Community ecology package. R Package Version 2.5-7*. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/>
- Pérez, W., & Forbes, G. (2011). *Guía de identificación de plagas que afectan a la papa en la zona andina*. Centro Internacional de la papa, 48.
- Persoons, C, Voerman, S., Verwiel, P., Ritter, F., Nooyen, W., & Minks, A. (1976). Sex pheromone of the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella*: isolation, identification and field evaluation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 20(3), 289-300.
- Petroski, R., & Stanley, D. (2009). Natural compounds for pest and weed control. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8171-8179.

- Pittí, M. (2020). *Manejo de Phthorimaea operculella y Tecia solanivora en almacenamiento de papa en Cerro Punta, Chiriquí*. [Tesis de maestría], Universidad de Panamá.
- Pittí, M., Collantes, R., & Delgado, L. (2020). Control Biológico de *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) y *Tecia solanivora* (Povolny, 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* en papa almacenada en Cerro Punta, Chiriquí, Panamá. *Aporte Santiaguino*, 13, 237-247.
- Pitts, R., Mozūraitis, R., Gauvin-Bialecki, A., & Lempérière, G. (2014). The roles of kairomones, synomones and pheromones in the chemically - mediated behaviour of male mosquitoes. *Acta Tropica*, 132, 26-34.
- Raman, K. (1988). Control of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* with sex pheromones in Perú. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 21(1-2), 85-99.
- Raman, K. (1984). Evaluation of a synthetic sex pheromone funnel trap for potato tuberworm moths (Lepidoptera: Gelechiidae), *Environmental Entomology*, 13(1), 61-64.
- Raman, K. (1982). Field trials with the sex pheromone of the potato tuberworm. *Environmental Entomology*, 11(2), 367-370.
- Robles, F. (2002), *Manejo integral de plaguicidas en cultivos de papa Cundinamarca y Boyoca*. [Tesis de pregrado], Universidad de la Salle.
- Rochat, D., Morin, J., Kakul, T., Beaudoin, L., Prior, R., Renou, M., Malosse, I., Stathers, T., Embupa, S., & Laup, S. (2002). Activity of male pheromone of melanesian rhinoceros beetle *Scapanes australis*. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 479-500.
- Romero-López, A., Arzuffi, R., & Morón, M. (2005). Feromonas y atrayentes sexuales de coleópteros *Melolonthidae* de importancia agrícola. *Folia Entomológica Mexicana*, 44(2), 233-245.
- Rondon, S. (2010). The Potato Tuberworm: A literature review of Its biology, ecology, and control. *American Journal of Potato Research*, 87, 149-166.
- Ruiz, C., González, H., Leyva, J., Llanderal C., Cruz L. & Rojas J. (2003). Evidence for a male - produced aggregation pheromone in *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(4), 1126-1131.

- Ryohei, Y., Hiroshi F., & Shoziro I. (1976). Isolation and identification of the female sex pheromone of the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Agricultural and Biological Chemistry*, 40(10), 1971-1977.
- Salem, S., Mady, H., & Ahmed, M. (2021). Sex discrimination by morphological traits for larvae and pupae of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) using binocular microscope. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 14(4), 109-116.
- Sandoval, Y. (2019). *Comportamiento sexual y éxito reproductivo del barrenador de la caña Diatraea saccharalis (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) en laboratorio*. [Tesis de Maestría], Universidad Nacional de Colombia.
- Singh, N. & Johnson, D. (2012). Attractiveness of an aggregation pheromone lure and chicken droppings to adults and larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 105(6), 2196-2206.
- Sreng, I., & Sreng, L. (1988). Fine structure of the female sex pheromone-producing glands in *Sesamia nonagrioides* lef. (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 17(4-5), 345-357.
- Tafoya, M., Macías, N., Miranda, L., Carreón, R. & Velasco, M. (1997). Síntesis de las feromonas de insectos que atacan a maíz almacenado. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 41(5), 232-240.
- Tamaki, Y., Kawasaki, K., Yamada, H., Koshihara, T., Osaki, N., Ando, T., & Kakinohana, H. (1977). (Z)-11-hexadecenal and (Z)-11-hexadecenyl acetate: sex-pheromone components of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Applied Entomology and Zoology*, 12(2), 208-210.
- Torres, H., Ortega, A., Alcázar, J., Ames, T. & Palomino, L. (1993). Control biológico del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes vorax*) con *Beauveria brongniartii*. *Guía de investigación CIP N°8*, 37.
- Tuncer, C. & Aker, O. (2017). Sexual dimorphism in the pupal stage of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Erebiidae). *Entomological News*, 127(2), 112-116.
- Tunstall, N., & Warr, C. (2012). Chemical communication in insects: The peripheral odour coding system of *Drosophila Melanogaster*. *Sensing in Nature*, 739, 59-77.
- Vélez, R. (1997). Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: Bionomía y manejo integrado. *Editorial Universidad de Antioquia*, 206, 379-385.

- Veneros, J., (2014). *Análisis de la distribución potencial de Phthorimaea operculella (Zeller), bajo condiciones del clima actual y un escenario de cambio climático.* [Tesis de maestría], Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Veneros, J., (2014). *Distribución geográfica de la polilla (Phthorimaea operculella Z.) a nivel global empleando el modelo climex.* [Tesis de licenciatura], Universidad Nacional de Cajamarca.
- Vesović, N., Čurčić, S., Vujisić, L. et al. (2015). Molecular diversity of compounds from pygidial gland secretions of cave-dwelling ground beetles: the first evidence. *Journal of Chemical Ecology*, 41, 533–539.
- Will, K. W., Attygalle, A. B., & Herath, K. (2000). New defensive chemical data for ground beetles (Coleoptera: Carabidae): interpretations in a phylogenetic framework. *Biological Journal of the Linnean Society*, 71(3), 459-481.
- Yábar, E., Castro, E., Meló, L., & Gianoli, E. (2006). Predación de *Bembidion sp.*, *Notiobia peruviana* (Dejean) y *Metius sp.* (Coleóptera: Carabidae) sobre huevos de *Premnotrypes latithorax* (Pierce) (Coleóptera: Curculionidae) en condiciones de laboratorio. *Revista Peruana de Entomología*, 45, 91-94.
- Yan, H. & Liebig, J. (2021). Genetic basis of chemical communication in eusocial insects. *Genes & Development*, 35(7-8), 470-482.
- Yew, J. & Chung, H. (2015). Insect pheromones: an overview of function, form, and discovery. *Progress in Lipid Research*, 59, 88-105.