



El Colegio de la Frontera Sur

**Efecto de la asociación maíz-frijol-calabaza en la
orientación de *Chelonus insularis*, un
endoparasitoide del gusano cogollero**

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Con orientación en Entomología Tropical

Por

Irais Brito Bonifacio

2021



El Colegio de la Frontera Sur

Tapachula, Chiapas, 29 de enero de 2021.

Las personas abajo firmantes, miembros del jurado examinador de:

Irais Brito Bonifacio

hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada:

Efecto de la asociación maíz-frijol-calabaza en la orientación de *Chelonus insularis*, un endoparasitoide del gusano cogollero

para obtener el grado de **Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo**

Rural

	Nombre	Firma
Director	<u>Dr. Edi A. Malo Rivera</u>	_____
Asesor	<u>M. C. Juan Cisneros Hernández</u>	_____
Asesor	<u>Dr. Julio C. Rojas León</u>	_____
Sinodal adicional	<u>Dra. Lislíe Solís Montero</u>	_____
Sinodal adicional	<u>Dr. Jaime Gómez Ruíz</u>	_____
Sinodal suplente	<u>Dra. Rebeca González Gómez</u>	_____

A mis padres por su amor, paciencia y apoyo.

Ana, Mar y Arnol mis compañeros de juego de toda la vida.

Para Dafne, Michelle y Syanya.

Y por supuesto para:

Zitlali y Josué,

“que estarán mirándome desde Andrómeda” (E. C)

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (CVU: 915536) durante este posgrado.

A El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) por darme la oportunidad de continuar mi formación académica, así como la infraestructura y los recursos para realizar este trabajo.

Por su apoyo y orientación académica, a mi consejo tutelar:

Dr. Edí A. Malo Rivera por aceptarme como su alumna y dirigir esta tesis, además de la confianza y paciencia en este proceso de aprendizaje.

M. C. Juan Cisneros Hernández por su valiosa aportación y disponibilidad para las asesorías.

Dr. Julio C. Rojas León por su compromiso en la revisión de esta investigación y sus acertados comentarios.

A la Dra. Lislie Solís Montero por la calidez con la que siempre trató a mis plantitas y a mí. Mis agradecimientos también para el Dr. Jaime Gómez Ruiz y a la Dra. Rebeca González Gómez, a cada uno de ellos por sus valiosas aportaciones como sinodales de este trabajo.

Al Dr. Samuel Cruz-Esteban y al M. E. Javier Valle Mora por su apoyo en el análisis estadístico.

Al grupo de ecología química: Dr. Leopoldo Cruz, Q.A. Antonio Santiesteban y el Ing. Armando Virgen por el apoyo brindado durante la maestría. A: Yensi, Luz Nery, Noé, Fabian, Antonio, Álvaro, Reyna, Rafaela, David, Fer, Omar, Azalea por su apoyo y amistad. Y a los compis de la maestría que hicieron más llevadero este viaje.

A Lupita Meneses Arias por el cariño y compañía desde el inicio hasta el final de este proyecto ¡gracias mamita!

Estefanía, Erika y Belinda, mujeres increíbles con las que tuve la oportunidad de convivir y aprender *¡ojalá que volvamos a vernos!*

Estela, Karina Velazco, Ale Nájera, Carlos YC, Yeni, Roberto, por los abrazos que llegaron de lejos, los ánimos y las risas.

Karlís, Alina, Candy, Lupita, la señora Geli y su familia, que compartieron conmigo su alegría y un lugar en su mesa durante mi estancia.

Al capitán Nemo y a Musita por su compañía durante la pandemia.

A mi familia por su apoyo incondicional y las personas que de alguna manera contribuyeron a que este trabajo se realizara.

¡Gracias!

Contenido

Resumen	7
I. Introducción	8
II. Antecedentes	9
2.1. Modelos biológicos de estudio.....	15
2.1.1. Policultivo de maíz, frijol y calabaza.....	15
2.1.2. <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith	16
2.1.3. <i>Chelonus insularis</i> Cresson.....	17
III. Justificación	18
Pregunta de investigación	19
Hipótesis.....	19
Objetivo	19
IV. Metodología	19
4.1. Cría de insectos	19
4.2. Plantas	20
4.3. Bioensayos de olfatometría	21
4.3.1. Inducción de daño por herbivoría.....	22
4.4. Bioensayo en condiciones de semicampo.....	23
4.5. Colecta de volátiles	25
4.6. Análisis estadístico	26
V. Resultados	26
5.1. Bioensayos de olfacción en tubo Y	26
5.2. Bioensayos en semicampo.....	28
5.3. Compuestos volátiles del policultivo y monocultivo	28
VI. Discusión	28
VII. Conclusión	32
VIII. Literatura citada	32
IX. Anexo	42

Figuras

Figura 1. Comparación de policultivo (izquierda) vs monocultivo (derecha) en pruebas de olfatometría en tubo Y.	22
Figura 2. Plantas de maíz inducidas por herbivoría y aisladas para evitar el desplazamiento de las larvas hacia las plantas vecinas.....	23
Figura 3. Prueba de semicampo en un medio “estático” (1) y un medio dinámico (2). Disposición de plantas de maíz-calabaza y plantas de maíz.	24
Figura 4. Colecta de compuestos volátiles de plantas en policultivo y un control utilizando la técnica de microextracción en fase sólida.	25
Figura 5. Respuesta de hembras de <i>Ch. insularis</i> a plantas sanas de maíz, monocultivo de frijol-calabaza, y el policultivo cuando se contrastaron contra aire limpio.....	26
Figura 6. Respuesta de atracción de hembras de <i>Ch. insularis</i> a compuestos volátiles de Policultivo; Policultivo + H = Policultivo más herbivoría; Monocultivo + H = Monocultivo más herbivoría.....	27

Tablas

Tabla 1. Estudios de diversificación de cultivos donde las prácticas fueron divididas de acuerdo con: el aumento de la diversidad en el campo con otros cultivos (en cultivo), aumento de la diversidad alrededor del campo utilizando cultivos (alrededor del cultivo), otras plantas (alrededor de otros) y la estrategia Push-pull. El efecto sobre los herbívoros, enemigos naturales y producción del cultivo se presenta: efecto positivo (+), negativo (-), ninguno (o), o poco claro (?) (modificado de Poveda et al. 2008).	14
---	----

Resumen

Las interacciones biológicas entre plantas e insectos ocurren en ambientes complejos, donde el olor de fondo puede afectar o mejorar el proceso de búsqueda y localización del recurso de interés. En la presente tesis, estudiamos el efecto de la diversidad de plantas en la orientación de *Chelonus insularis* a volátiles de plantas sanas de maíz o dañadas por *Spodoptera frugiperda*. Mediante pruebas de olfatometría en laboratorio e imitando un ambiente diverso se sembró en asociación plantas de maíz-frijol-calabaza y evaluamos posibles efectos que a nivel de búsqueda de huésped pueden tener los volátiles emitidos en ambientes complejos. Se encontró que las plantas no hospederas, frijol y calabaza, enmascaran el olor de la planta de maíz, afectando la respuesta de *Ch. insularis* para localizar a su huésped. Consideramos que estudiar el comportamiento de parasitoides en la búsqueda de huésped es esencial para mejorar las estrategias de manejo del hábitat.

Palabras clave: enmascaramiento químico, herbívoro, parasitoide, policultivos, plantas no hospederas.

I. Introducción

En México, las numerosas variedades de maíz (*Zea mays* L.) nativo siguen siendo el sustento de miles de familias rurales (Fernández-Suárez et al. 2013). Una de las plagas más importantes que atacan este cultivo es el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Rojas et al. 2004), que es un insecto altamente polífago pero muestra fuerte preferencia por el cultivo del maíz (Clavijo y Pérez 2000; Negrete y Morales 2003; Casmuz et al. 2010). Ante este tipo de presión selectiva, las plantas han respondido evolutivamente con un conjunto de defensas (Coley y Kursar 2001). Por ejemplo, la emisión de compuestos orgánicos volátiles (COVs) que tienen un papel importante en la mediación de las interacciones tróficas múltiples, entre plantas, insectos fitófagos y enemigos naturales (Mithöfer y Boland 2012; Vucetic et al. 2014; Aartsma et al. 2017).

Los parasitoides himenópteros usan el sistema olfativo como mecanismo principal para detectar y localizar a sus huéspedes, guiándose o apoyándose de COVs inducidos por herbivoría liberados por la planta hospedera (Turlings y Wäckers 2004; Beyaert et al. 2010; Avila et al. 2016). A menudo la planta hospedera del insecto herbívoro está presente en un ambiente heterogéneo donde los parasitoides tendrán que detectar plantas del huésped y descartar plantas no atacadas por su huésped, esta vegetación genera un olor de fondo que puede influir en la mezcla de COVs percibidos por los enemigos naturales (Ode 2006; Randlkofer et al. 2010; Kigathi et al. 2019; Isono et al. 2020) aumentando la atracción del insecto hacia señales que conducen a un recurso de interés, enmascarando señales indicadoras o siendo irrelevantes (Schröder y Hilker 2008).

Se ha reportado que la asociación de cultivos reduce los niveles de infestación de algunos insectos fitófagos (Khan et al. 2010; Midega et al. 2018), lo que ha impulsado la búsqueda de plantas que liberan compuestos repelentes o atrayentes (Guera et al. 2020; Zhang et al. 2020; Leslie et al. 2020) para el desarrollo de sistemas “push-pull”. Si bien, este tipo de estrategia se perfila como exitosa en el manejo de plagas, poco se ha estudiado sobre el efecto de la diversidad vegetal en estos sistemas y la presencia de enemigos naturales, específicamente en su proceso de búsqueda de huésped.

Con la finalidad de estudiar este efecto, utilizamos de modelo biológico la interacción *Z. mays-S. frugiperda-Ch. insularis*, para examinar ¿cómo un ambiente complejo o diverso afecta la orientación de este parasitoide? del cual se ha reportado una respuesta innata hacia COVs de plantas de maíz sanas y dañadas por herbivoría (Ortíz-Carreón 2015; Ortíz-Carreón et al. 2019; Roque-Romero et al. 2020). Por consiguiente, generamos condiciones de olores diversas asociando plantas de maíz, frijol y calabaza, y las evaluamos mediante pruebas de olfatometría en laboratorio para responder a la siguiente pregunta de investigación ¿la asociación de maíz-frijol-calabaza interfiere en la atracción de *Ch. insularis* hacia volátiles de la planta de maíz? Probamos la hipótesis, la asociación de maíz con frijol y calabaza afecta la orientación de *Ch. insularis*.

II. Antecedentes

La relación estrecha entre una planta y un insecto requiere de la capacidad de búsqueda de este último para detectar a la planta hospedera, incluso cuando esta planta crece en medio de una vegetación rica en especies (Schoonhoven et al. 2005). De acuerdo con la teoría ecológica, muchas veces la agrobiodiversidad está relacionada con la estabilidad del hábitat, implicando que aquellos agroecosistemas de especies diferentes sean más estables en comparación a los menos diversos (Restrepo et al. 2000).

Varias hipótesis se han planteado para explicar la menor densidad de plagas en asociaciones de plantas de múltiples especies, aquí se hace una breve mención de las propuestas hasta ahora. La hipótesis de concentración de recursos establece que los estímulos visuales y químicos de las plantas hospederas y no hospederas afectan la velocidad de colonización de un hábitat por un insecto herbívoro (Root 1973; Risch 1983). La hipótesis de enemigos naturales predice que habrá mayor número de insectos depredadores y parasitoides en policultivos que en monocultivos (Root 1973) debido a mejores condiciones en fuente de alimentos y sitios de refugio (Russell 1989).

La hipótesis de la resistencia asociativa plantea que: los ecosistemas donde se entremezclan especies vegetales poseen resistencia asociativa a los herbívoros, es decir, los insectos pueden experimentar dificultades para ubicarse y permanecer en lugares pequeños y favorables si las condiciones microclimáticas son fraccionadas (Root 1975). La hipótesis de la apariencia de la planta (Fenny 1976) señala que algunas especies de plantas serían aparentes o “destinadas a ser encontradas” tanto por herbívoros generalistas como por especialistas, estas plantas estarían bajo una fuerte selección para producir defensas efectivas contra ambos tipos de herbívoros (Endara y Coley 2011).

También se han propuesto otras hipótesis a partir de estudios donde compararon la diversidad de especies de insectos entre monocultivos y sistemas de cultivos diversificados (Altieri y Letourneau 1982). Por ejemplo, la hipótesis de la heterogeneidad desarrollada inicialmente por MacArthur y MacArthur en 1961, propone que un aumento de hábitats diferentes puede conducir a un aumento en la diversidad de especies. Una forma en que la heterogeneidad del hábitat podría mejorar la diversidad ocurre cuando los hábitats son lo suficientemente grandes como para soportar poblaciones distintas (Cramer y Willig 2002). La hipótesis de la depredación establece que, una mayor abundancia de depredadores y parasitoides en ricas asociaciones de plantas mantiene a las poblaciones de insectos herbívoros en niveles bajos (Root 1973). La hipótesis de la productividad propone que, diferentes especies responden de manera diferente a los cambios ambientales, la contribución de algunas especies a los procesos ecosistémicos puede disminuir, mientras que las de otras aumentar, por lo tanto, una mayor riqueza de especies debería conducir a una disminución de la variabilidad debido a la compensación entre especies (Yachi y Loreau 1999). La hipótesis de estabilidad y partición temporal de recursos predice que la estabilidad temporal de la productividad aumenta con la riqueza y paridad de las especies, las interacciones entre especies pueden promover la biodiversidad y los servicios ecosistémicos (Isbell et al. 2009).

Las teorías se plantearon para entender por qué hay menor presencia de plagas en cultivos diversificados, y, si existe una relación entre la diversidad de plantas y la presencia de artrópodos benéficos. A la par se busca explicar el efecto de la asociación de cultivos en insectos especialistas y generalistas, en una revisión exhaustiva Finch y Collier (2000) mencionan las hipótesis siguientes: 1) La obstrucción física: el cultivo intercalado con ciertos cultivos puede interferir con las señales olfativas de las que dependen algunos insectos para encontrar hospederos; 2) la hipótesis del camuflaje visual: incorpora los estímulos visuales que inducen a los herbívoros a aterrizar en las plantas, como color y altura de la planta, la adición de plantas más verdes o altas como un mecanismo útil para camuflar el cultivo de interés; 3) la hipótesis del enmascaramiento de olores de plantas hospederas: las plantas no hospederas liberan sustancias que “enmascaran el olor” de la planta hospedera confiriendo cierta protección; 4) la hipótesis de productos químicos repelentes predice que, los olores emitidos por las plantas no hospederas son lo suficientemente fuertes como para repeler a los insectos herbívoros; 5) la hipótesis de la alteración del perfil volátil de la planta hospedera establece que, los cambios en la fisiología de la planta suceden a través de productos químicos que adquieren del suelo; y 6) la hipótesis de aterrizajes apropiados-inapropiados: los insectos aterrizan indiscriminadamente en superficies verdes apropiadas (planta hospedera) o inapropiadas (planta no hospedera) pero evitarán aterrizar en superficies marrones como el suelo.

En estas interacciones las plantas tienen un papel importante (Takabayashi y Shiojiri 2019), emplean estrategias defensivas internas y externas que se basan en vías inmunológicas vegetales y pueden implicar interacciones con organismos benéficos (Wilkinson et al. 2019). La inclusión de los miembros del tercer nivel trófico es fundamental para ampliar el conocimiento de las interacciones biológicas (Price et al. 1980). Se ha demostrado que, los enemigos naturales son atraídos a volátiles inducidos por herbivoría (Dicke 1986), por ello se han incluido como defensa indirecta de las plantas ya que median la comunicación con niveles tróficos superiores (Gebreziher 2018).

Las comunidades vegetales liberan olores diversos que pueden perturbar la elección del huésped y el comportamiento de los insectos herbívoros guiados por COVs. El olor se define como el conjunto de COVs que constituyen un espacio sensorial propio de una especie de insecto en particular, las respuestas de comportamiento a menudo dependen de la integración de varios estímulos que interactúan entre sí, ya sea sinérgica o antagónicamente (Conchou et al. 2019), un compuesto puede ser atrayente o repelente según la concentración (Mumm y Hilker 2005). Un atrayente es definido como un producto químico que provoca un movimiento hacia la fuente de estímulos y una sustancia repelente es aquella que genera como respuesta un movimiento orientado lejos de la fuente de estímulo (Miller et al. 2009). Adicionalmente, en una mezcla de olores habrá sustancias estimulantes y supresoras “compitiendo” en los sitios receptores estimulando o inhibiendo la respuesta del insecto al estímulo (Ache et al. 1988).

La percepción de estos compuestos depende de las neuronas receptoras olfativas (ORNs, por sus siglas en inglés) en las sensilas, principalmente de las antenas. Además de orientarse hacia los volátiles del huésped, los parasitoides evitan olores que no son del huésped e incluso de los huéspedes nutricionalmente inadecuados (Bruce y Pickett 2011).

Actualmente, trabajos en laboratorio han demostrado respuestas diferenciales en el comportamiento de enemigos naturales en un ambiente de olores diversos, existiendo casos en donde la asociación de la planta hospedera y no hospedera de un herbívoro repelió al parasitoide (Gohole et al. 2003). También, se han documentado respuestas neutrales, en las cuales tanto el herbívoro como el parasitoide no fueron afectados por la diversidad de plantas, logrando detectar a la planta hospedera y el huésped, respectivamente, a través de señales volátiles, incluso en presencia de plantas no hospederas del herbívoro (Wäschke et al. 2014), otros estudios han documentado que el olor de fondo aumentó la atracción hacia la planta hospedera del herbívoro (Mumm y Hilker 2005). Sin embargo, en algunos casos el olor de las plantas no hospederas pueden inhibir o retardar, sin repelencia, la atracción del insecto hacia compuestos específicos (Andersson 2012).

La complejidad del hábitat influye de manera positiva o negativa en la abundancia de insectos herbívoros y su parasitismo (Jonsson et al. 2015), por lo tanto, es necesario entender cómo la diversidad de plantas ayuda u obstaculiza a los enemigos naturales para encontrar a sus presas. El proceso de búsqueda de huésped por parasitoides puede ser obstaculizado por un enmascaramiento químico, mezcla de sustancias volátiles o la obstrucción de señales visuales u olfativas por la vegetación.

Pocos estudios muestran un realce consistente de enemigos naturales o una disminución de insectos herbívoros en policultivos (revisado por Poveda et al. 2008). En la tabla 1 se muestran los artículos seleccionados (33 de 62) que cuantifican el efecto de las prácticas de diversificación en herbívoros, enemigos naturales y/o producción, solo se consideró aquellos estudios donde la diversidad se alteró con la asociación de cultivos, únicamente en ocho estudios se observó un efecto positivo en enemigos naturales, y en el resto, ambos efectos positivo y negativo o la información no fue clara.

Tabla 1. Estudios de diversificación de cultivos donde las prácticas fueron divididas de acuerdo con: el aumento de la diversidad en el campo con otros cultivos (en cultivo), aumento de la diversidad alrededor del campo utilizando cultivos (alrededor del cultivo), otras plantas (alrededor de otros) y la estrategia Push-pull. El efecto sobre los herbívoros, enemigos naturales y producción del cultivo se presenta: efecto positivo (+), negativo (-), ninguno (o), o poco claro (?) (modificado de Poveda et al. 2008).

Referencia	Práctica	Cultivo	Efecto en		
			Herbivoro	Enemigo natural	Producción
Adeniyi 2001	En cultivo	Tomate y Okra			(-)
Bukivinsky et al. 2004	En cultivo	Coles de bruselas	<i>Plutella xylostella</i> , <i>Pieris brassicae</i> (-,+)	<i>Diadegma</i> spp. (-,0)	(-)
Butts et al. 2003	En cultivo	Canola		Coleoptera Carabidae (-)	
Butts et al. 2003	En cultivo	Guisante		Coleoptera Carabidae (-)	
Cai et al. 2007	Alrededor del cultivo	Col china	(-)	(+)	
Chabi-Olaye et al. 2005	En cultivo	Maíz	<i>Busseola fusca</i> (?)	<i>Telenomus</i> spp. (+)	
Chabi-Olaye et al. 2005	En cultivo	Maíz			(-,?)
Cividanes y Barbosa 2001	En cultivo	Maíz y haba de soja	varios grupos (?,+)	varios grupos (?,+)	
Duale y Nwanze 1999	En cultivo	Sorgo	<i>Chilo Partellus</i> (-)		
Gao et al. 2008	En cultivo	Algodón	(-,0)	(+)	
Girma et al. 2000	Alrededor de otro	Frijol	mosca (+)		
Girma et al. 2000	Alrededor de otro	Maíz	Hemiptera: Aphididae (-)	varios grupos (?,+)	
Guveme y Yildirim 2006	En cultivo	Repollo			(-,+,0)
Khan et al. 2008b	Push-pull	maíz	Barrenadores de cereales		(+)
Lale y Sastawa 2000	En cultivo	Mijo perla	<i>Coryna</i> sp. <i>Mylabris</i>		(?)
Lamondia et al. 2002	En cultivo	Fresa	Coleoptera: Melolonthidae(?)		
Midega et al. 2006	Push-pull	Maíz	<i>Chilo partellus</i> (-)	depredadores (+)	
Midega et al. 2008	Push-pull	Maíz		Araneae (+,0)	
Nabirye et al. 2003	En cultivo	Caupí	varios grupos (-)		(+)
Ndemah et al. 2003	En cultivo	Maíz	<i>Busseola fusca</i> (-)		
Ngave 2003	En cultivo	Mandioca	<i>Stictococcus</i>		(+)
Parajulee y Slosser 1999	Alrededor del cultivo	Algodón	Lepidoptera, <i>Aphis gossypii</i> (+,0)	depredadores (o)	(?)
Pitan y Olatunde 2006	En cultivo	Caupí	Hemiptera (-)		(+)
Pitan y Olatunde 2006	En cultivo	Okra	<i>Podogrica</i> spp. (-)		(+)
Rukazambuga et al. 2002	En cultivo	Banana	<i>Cosmopolites sordidus</i> (-)		(+)
Sastawa et al. 2004	En cultivo	Haba de soja	<i>Nezara viridula</i> (-)		(-)
Schulthess et al. 2004	En cultivo	Mandioca	<i>Phenacoccus manihoti</i> (-)	<i>Apoanagyrus lopezi</i> (o)	(?)
Schulthess et al. 2004	En cultivo	Maíz	<i>Sesamia calamisits</i> (-)	<i>Telenomus</i> spp. (+)	(+)
Sckamatte et al 2003	En cultivo	Maíz	<i>Microtermes</i> sp (-)	<i>Myrmecaria</i> sp, <i>Lepisiota</i> sp (+)	(+)
Skelton y Barrett 2005	En cultivo	Trigo y alfalfa	(?)	(?)	(?)
Smith et al. 2001	En cultivo	Frijol	<i>Bemisia tabaci</i> , <i>Trialeurodes</i>		
Songa et al. 2007	En cultivo	Maíz, sorgo,	(-)	parasitoides (+)	(+)
Wale et al. 2007	En cultivo	Sorgo		<i>Cotesia flavipes</i> (+)	(-)

En general, la teoría predice que los cultivos diversificados dentro y alrededor del campo deberían tener una población más alta y efectiva de enemigos naturales, una disminución de la presión de plagas y, en consecuencia, mayores rendimientos en comparación con un monocultivo. Algunos enfoques particulares como la importancia del “tipo correcto” de diversidad, conocer la historia natural del herbívoro, y el uso integrado de estímulos vegetales repelentes y atractivos (estrategia “push-pull”) podrían ayudar a lograr los objetivos esperados en la diversificación de cultivos (Poveda et al. 2008).

2.1. Modelos biológicos de estudio

2.1.1. Policultivo de maíz, frijol y calabaza

El agroecosistema mesoamericano “milpa” es la asociación de maíz, frijol (*Phaseolus* sp.) y calabaza (*Cucurbita* sp.) (Molina-Anzures et al. 2016), donde el principal componente es el maíz (Zizumbo-Villarreal y García-Marín, 2008; Ebel et al. 2017). En México, el maíz es uno de los cereales más importantes, actualmente la forma dominante de siembra es mediante monocultivos (Sánchez y Romero 2017). Sin embargo, los monocultivos son agroecosistemas donde los desequilibrios de plagas o enfermedades son más recurrentes (Altieri y Nicholls 2007; Kotschi y von Lossau 2012; Badii et al. 2015). Algunos estudios han determinado que en los policultivos, la estabilidad de las poblaciones de insectos es mayor en comparación a los monocultivos (Letourneau 1987; Ruiz-González y Victorino-Ramírez 2014).

Específicamente el policultivo de maíz-frijol-calabaza mostró mayor tolerancia al generar un microclima favorable debido a que conserva mejor la humedad del suelo, evitando el marchitamiento de las plantas por deshidratación (Gómez-Betancur et al. 2018), mejor eficiencia del uso de la tierra que se refleja en la productividad (Aguilar-Jiménez et al. 2019) y una mayor diversidad de parasitoides (Torralba-Ponce 2010; Cruz-Cruz 2014) y depredadores (Martínez-Martínez et al. 2016) en comparación a un monocultivo. Estas referencias sitúan a los policultivos como excelentes modelos para estudiar el efecto que la diversidad vegetal puede tener en los enemigos naturales.

2.1.2. *Spodoptera frugiperda* Smith

El gusano cogollero *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Borror et al. 1989) es un insecto de metamorfosis completa, cada hembra oviposita entre 500 a 2000 huevos. Los huevos son hemisféricos con la base plana, miden 0.4–0.5 mm de diámetro; de color verde recién depositados y castaño a medida que progresa el desarrollo del embrión (Urretabizkaya et al. 2010). En general, las larvas transcurren por seis estadios, variando según las condiciones ambientales, el estado de pupa es importante para la determinación del sexo, al igual que en la etapa adulta; los machos son de un color más claro que las hembras y tienen una mancha transversal de color blanco cremoso, su ciclo de vida transcurre en un promedio de 38 días (Guzmán-Prada et al. 2016).

El daño que ocasiona en los cultivos puede ser severo, y la etapa que va de la germinación hasta los 60 días es la más crítica en relación con el rendimiento del cultivo (Jaramillo et al. 1989). A partir del segundo o tercer estadio la alimentación de las larvas en el cogollo de la planta se manifiesta con una línea de perforaciones en las hojas, la densidad larval usualmente se reduce a uno o dos individuos por planta cuando estas se alimentan cerca, debido a su comportamiento canibalístico (Martínez-Martínez et al. 2019).

Spodoptera frugiperda es considerada una plaga de importancia económica, de amplia distribución y originaria del continente americano (Yáñez-López et al. 2019). Se reportó su presencia en África en el año 2016, su introducción es una amenaza para varios cultivos importantes (Goergen et al. 2016). En el año 2018 se confirmó su presencia en la India, Yemen, Bangladesh, Sri Lanka y Tailandia, en el año 2019, en Myanmar, China, Indonesia, Laos, Malasia, Vietnam, Egipto, República de Corea y Japón. En el año 2020 en Australia, Mauritania y Timor-Oriental (FAO 2020). Su plasticidad fenotípica y genotípica le permite adaptarse mejor a los cambios climáticos (Ramírez-Cabral et al. 2020) y su control es difícil debido a la resistencia que ha generado a insecticidas químicos (León-García et al. 2012).

2.1.3. *Chelonus insularis* Cresson

Filo Arthropoda, subfilo: Hexápoda, clase: Insecta, orden: Hymenoptera, superfamilia: Ichneumonoidea, familia: Braconidae, subfamilia: Cheloninae. Se distinguen de otros braconidos por la posesión de un caparazón gastral, formado por la fusión de los primeros tres tergitos, junto con una carina postpectal completa y tres celdas submarginales en el ala delantera, es un endoparásitoide koinobionte, solitario de huevo-larva, comúnmente parasita huevos de Lepidoptera sin matar al huésped, hasta el final de su vida larvaria, después de prepararse para pupar (Marsh 1979; Ashley 1983; Shaw y Huddleston 1991).

Chelonus insularis parasita huevos de *S. frugiperda*, es un parasitoide ampliamente distribuido en el país con una cobertura aproximada de 84.4 %, con presencia en Jalisco, Nayarit, Chiapas, entre otros (González-Maldonado et al. 2014). En condiciones de laboratorio alcanza un parasitismo de 72-80 % (Rezende et al. 1995) y tiene la capacidad de discriminar entre huéspedes parasitados y no parasitados (Ables et al. 1981). Su ciclo biológico consta de metamorfosis completa; se ha observado que después de reconocer los huevos del huésped, este parasitoide lleva a cabo la oviposición en menos de un minuto, llegando a parasitar 13 huéspedes en 35 min (SENASICA 1999). El periodo larvario transcurre en 17-23 días, con un promedio general de 20 días y el periodo de pupa ocurre en 6 a 9 días. La duración media del ciclo total es de 26 días, máximo de 33 días (Rezende et al. 1995).

Las masas de huevo del huésped en todas las edades, incluyendo huevos inmaduros antes de la formación del corion y los restos después de la eclosión de las larvas inducen, en *Ch. insularis*, un comportamiento de búsqueda y muestra mayor preferencia hacia masas de huevo de más de 24 h (Vinson 1975). Ahora se sabe que, *Ch. insularis* es atraído hacia compuestos volátiles que libera la planta hospedera (Ortiz-Carreón 2015), las masas de huevos e incluso la feromona sexual del gusano cogollero (Roque-Romero et al. 2020). Al ser un insecto generalista parasita a varias especies plaga de importancia agrícola, por lo que está sujeto a condiciones climáticas variables (Glogoza 1981).

En un hábitat perturbado *Ch. insularis* fue ampliamente distribuido, pero no fue el colonizador más rápido del huésped, su amplia distribución se debe a que es un insecto de estrategia *r*, fue menos eficiente en la localización de huéspedes tras la alteración del hábitat en comparación a *Apanteles marginiventris* (Cresson) o *Hyposoter exigue* (Viereck) que también son parasitoides generalistas (Miller 1980). Villerias-Simbron (2020) muestra resultados similares en el muestreo de larvas de *S. frugiperda* en zonas agrícolas y periurbanas en el municipio de Tapachula, Chiapas, encontrando mayor abundancia de *Ch. insularis* e interactuando con especies de parasitoides especializados en estadios larvarios, lo que demuestra que en la estabilidad de la red trófica los insectos generalistas son indispensables.

III. Justificación

Existen diversos estudios sobre interacciones planta-insecto que involucran compuestos volátiles emitidos por las plantas, lo cual ha sido útil para ampliar los conocimientos de la ecología química de insectos. También se ha estudiado la atracción de enemigos naturales a compuestos volátiles que les sirven de guía en el proceso de búsqueda del huésped. Sin embargo, estos trabajos se han realizado estudiando la planta de interés, el insecto herbívoro, y el enemigo natural, excluyendo la interacción que puede haber con plantas de diferentes especies.

El presente estudio generó conocimientos sobre el efecto que la asociación de cultivos puede tener sobre la actividad de búsqueda de huésped por enemigos naturales, específicamente en la interacción *Z. mays*-*S. frugiperda*-*Ch. insularis*, utilizando como modelo de estudio el policultivo de maíz, frijol y calabaza, en el que han registrado mayor diversidad de parasitoides y depredadores. Este tipo de policultivos puede servir como punto de partida para estudiar el efecto de la complejidad del paisaje en la densidad de las poblaciones de insectos plagas y de enemigos naturales para tratar de comprender los mecanismos que interfieren en las interacciones biológicas.

Aunado a esto el policultivo de maíz-frijol-calabaza, es una asociación milenaria de gran valor gastronómico, cultural y económico para las comunidades rurales, una estrategia adquirida a través de la agricultura tradicional, por lo cual, es importante documentar y valorar los aportes que generan las comunidades para el manejo de los recursos naturales.

Pregunta de investigación

¿La asociación de maíz-frijol-calabaza interfiere en la orientación de *Ch. insularis* hacia volátiles de plantas de maíz?

Hipótesis

La asociación de maíz-frijol-calabaza afecta la orientación de *Ch. insularis*

Objetivo

Determinar el efecto de la asociación de maíz-frijol-calabaza en la orientación de *Ch. insularis*

IV. Metodología

4.1. Cría de insectos

Larvas de segundo y tercer estadio de *S. frugiperda* se colectaron en sembradíos de maíz y se trasladaron al insectario de Ecología Química de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), unidad Tapachula, donde se individualizaron en frascos para alimentarlas con dieta artificial (Rojas et al. 2003). Los insectos se mantuvieron en condiciones controladas de fotoperiodo; 12:12 L:O, temperatura 25 ± 2 °C y humedad relativa 75 ± 5 % (Ortíz-Carreón et al. 2019; Roque-Romero et al. 2020). Para la obtención de nuevas generaciones los ejemplares en fase pupal se separaron por sexo, después de que

emergieron los adultos, se colocaron en bolsas de papel Kraft® en una relación de cinco hembras y cinco machos alimentándolos con una solución azucarada al 10 %.

El parasitoide *Ch. insularis* se obtuvo de larvas de *S. frugiperda* colectadas en campo que fueron llevadas a laboratorio y criadas en condiciones descritas previamente; las larvas parasitadas disminuyeron su movilidad y formaron una capsula en la dieta que el parasitoide usó para pupar. Los parasitoides adultos se alimentaron con miel y en seguimiento a la cría se hicieron apareamientos en relación una hembra por cada dos machos. Posteriormente, a las hembras copuladas se les ofreció masas de huevos de *S. frugiperda* con la finalidad de parasitarlos, cuando los huevos eclosionaron las larvas neonatas se colocaron en recipientes de unicel con dieta artificial, una vez alcanzado el segundo estadio las larvas se transfirieron a frascos individuales para evitar la pérdida de material por canibalismo, además la cría se renovó incorporando material de campo para evitar efectos de endogamia. En los bioensayos se utilizaron hembras de 2 a 7 días de edad, alimentadas, sin experiencia de copula ni de contacto con plantas.

4.2. Plantas

Se utilizaron semillas de maíz olotillo; frijol “variedad arbustiva”, *Phaseolus vulgaris* L., y calabaza *Cucurbita argyrosperma* Huber (Rodríguez-Amaya et al. 2009; Coutiño et al. 2015; Ku 2019) obtenidas a través de productores locales del estado de Guerrero y Puebla, México. Las semillas, una vez germinadas en charolas, se trasplantaron a macetas individuales (16 cm diámetro y 11.5 cm de altura) utilizando sustrato comercial PROMIX® y fertilizadas con Royal Garden’s®, el proceso se mantuvo bajo condiciones controladas (12:12 L:O, 28 °C, 68 % HR).

En esta investigación se denominó policultivo a la asociación de una planta de maíz-frijol-calabaza de la misma edad y depositadas en una misma maceta, el monocultivo consistió en tres plantas de maíz (misma edad) colocadas en otra maceta, y el dicultivo fue la asociación de una planta de frijol y calabaza. En los experimentos se utilizaron plantas

sanas de 10-13 días de edad, esto es cuando el frijol y la calabaza tenían al menos una o dos hojas verdaderas.

4.3. Bioensayos de olfatometría

La respuesta de atracción de *Ch. insularis* se evaluó en un olfatómetro de vidrio tipo Y de 4 cm de largo x 0.6 cm d. i. (diámetro interno) con dos juntas de vidrio de 24/40 cm. Los brazos del olfatómetro se conectaron a recipientes de vidrio de 8 l de capacidad que contenían las fuentes de olor, haciendo pasar un flujo de aire humedecido a 1.5 l/min filtrado sobre carbón activado y regulado por dos flujómetros (Gilmont Instrumentos, Barnant Co., Barrington, IL, US). Después de cada prueba, el olfatómetro y el material de vidrio se lavó con jabón neutro, agua destilada y secado a 120 °C. Durante los bioensayos se mantuvieron condiciones controladas de iluminación 1676 lx; temperatura 25 ± 2 °C y humedad relativa de 60 ± 5 % (Ortíz-Carreón et al. 2019; Roque-Romero et al. 2020).

Los bioensayos se realizaron de 09:00 a 14:00 h, tiempo reconocido como de mayor actividad de *Ch. insularis* (Ortíz-Carreón 2015), en cada prueba se utilizaron 30 parasitoides diferentes una sola vez. Los parasitoides se trasladaron al cuarto de bioensayos 30 min antes de iniciar las observaciones como periodo de aclimatación, el experimento consistió en colocar una hembra de *Ch. insularis* sin experiencia en la base del tubo Y, durante 5 min se observó su comportamiento y se registró la elección; cuando el insecto recorrió 2/3 de uno de los brazos del olfatómetro se definió como atracción y cuando el ejemplar no realizó ninguna elección se contabilizó como NR “no respondió”; los brazos del tubo Y se rotaron para evitar el sesgo de posición y fue reemplazado después de 5 observaciones. Las comparaciones consistieron en:

- 1) planta sana de maíz contra aire limpio.
- 2) dicultivo de frijol-calabaza contra aire limpio.
- 3) plantas sanas de maíz, frijol y calabaza (policultivo) contra aire limpio.
- 4) policultivo de plantas sanas vs una planta sana de maíz.

5) policultivo dañado por herbivoría vs monocultivo de plantas de maíz dañadas por herbivoría.

6) policultivo dañado por herbivoría vs monocultivo sano.

En todas las comparaciones las macetas se sellaron con papel aluminio, dejando expuesto el tallo y las hojas de las plantas, tal como se observa en la figura 1.



Figura 1. Comparación de policultivo (izquierda) vs monocultivo (derecha) en pruebas de olfatometría en tubo Y.

4.3.1. Inducción de daño por herbivoría

El daño por herbivoría se provocó utilizando dos larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* para cada tratamiento, las larvas estuvieron en ayuno previo durante 7 a 15 h. Se eligió una planta de maíz del monocultivo y la única planta de maíz del policultivo para inducir herbivoría durante 4 a 5 h, la planta a la que se indujo daño fue aislada utilizando un cilindro de plástico para evitar que las larvas se desplazaran hacia las plantas vecinas (Fig. 2), los bioensayos se realizaron después de 13 a 15 h de aplicar daño.

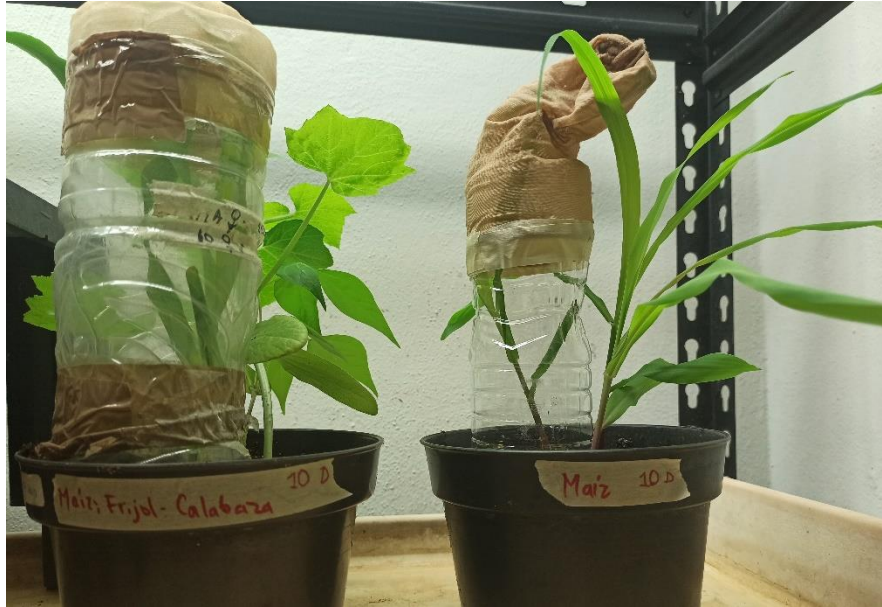


Figura 2. Plantas de maíz inducidas por herbivoría y aisladas para evitar el desplazamiento de las larvas hacia las plantas vecinas.

4.4. Bioensayo en condiciones de semicampo

La eficiencia de búsqueda de huésped por hembras de *Ch. insularis* se estudió simulando condiciones de monocultivo y la asociación maíz-calabaza, solo se utilizaron plantas de maíz y calabaza debido a problemas de germinación en semillas de frijol durante estos bioensayos. El experimento se realizó sobre una plataforma blanca (180 cm x 77 cm x 71 cm) cubierta con tela Tul de fondo blanco, metodología modificada (Gols et al. 2005). Sobre la arena de evaluación se colocaron macetas individuales en filas; una planta de calabaza, seguido de una planta de maíz y otra de calabaza, en otra fila se colocaron tres plantas de maíz.

Se eligió la planta de maíz del centro de cada fila para inducir herbivoría y se agregó una masa de huevos de *S. frugiperda* de 24 y 48 h de edad, ovipositadas en papel Kraft®. Las macetas estuvieron separadas a una distancia de 30 cm. El bioensayo inició al liberar un parasitoide para observación directa, se utilizaron cinco hembras sin experiencia, y

cinco hembras con experiencia que fueron expuestas (previamente) a la planta hospedera durante 5 min (Roque-Romero et al. 2020), las liberaciones se hicieron en una plataforma de 25 cm de altura a una distancia de 70 cm de las plantas. Se simuló un medio dinámico agregando un flujo de aire (ventilador Taurus®) en dirección contraria al insecto y un medio “estático” sin el flujo de aire (Fig. 3)



Figura 3. Prueba de semicampo en un medio “estático” (1) y un medio dinámico (2). Disposición de plantas de maíz-calabaza y plantas de maíz.

Las observaciones se realizaron de 8:00 a 12 h del día. Las variables de estudio fueron:

- 1.- Aterrizaje inapropiado (calabaza) o apropiado (maíz) (Finch y Collier 2000)
- 2.- Tiempo de búsqueda a partir del primer aterrizaje hasta encontrar la planta infestada
- 3.- Tiempo total desde la liberación hasta el contacto con la masa de huevos.

4.5. Colecta de volátiles

La colecta de volátiles de las plantas en policultivo y monocultivo se realizó mediante la técnica de microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), utilizando jeringas de fibras de polidimetilsiloxano-divinilbenceno de 65 μm . Para capturar los COVs del sistema evaluado, se usaron frascos de vidrio de 8 l de capacidad, en su interior se colocaron las macetas que contenían el policultivo y monocultivo, la base de la planta se selló con papel aluminio dejando expuesta las hojas, se introdujo una fibra sujeta con un soporte universal, el blanco consistió en un frasco de vidrio que contenía una maceta sellada (Fig. 4). El tiempo de colecta fue de 24 h a 25 ± 1 $^{\circ}\text{C}$; 65 % HR; 12:12 L:O. Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Shimadzu GC-2010 plus, Triple Quadrupole TQ8040, Texas, USA), se usó helio como gas portador, con una temperatura inicial de 50 $^{\circ}\text{C}$ hasta llegar a 280 $^{\circ}\text{C}$. La identificación de los compuestos se hizo en la biblioteca espectral NIST 2002.



Figura 4. Colecta de compuestos volátiles de plantas en policultivo y un control utilizando la técnica de microextracción en fase sólida.

4.6. Análisis estadístico

La respuesta de atracción de hembras de *Ch. insularis* se analizó mediante una prueba G en el software estadístico R versión 4.0.0 (R Core Team 2020). Los insectos que no respondieron se excluyeron del análisis.

V. Resultados

5.1. Bioensayos de olfacción en tubo Y

Los bioensayos donde se comparó la planta sana de maíz contra aire limpio, y dicultivo frijol-calabaza contra aire limpio no pudieron concluirse debido a una afectación en la cría del parasitoide, no obstante se graficaron los resultados de las repeticiones hechas para mostrar, con reserva, la tendencia de estos (Fig. 5). Las hembras de *Ch. insularis* sin experiencia no mostraron preferencia por volátiles de plantas sanas de policultivo (maíz, frijol y calabaza) confrontadas contra aire limpio ($G = 1.29$; $gl = 1$; $p = 0.25$) (Fig. 5).

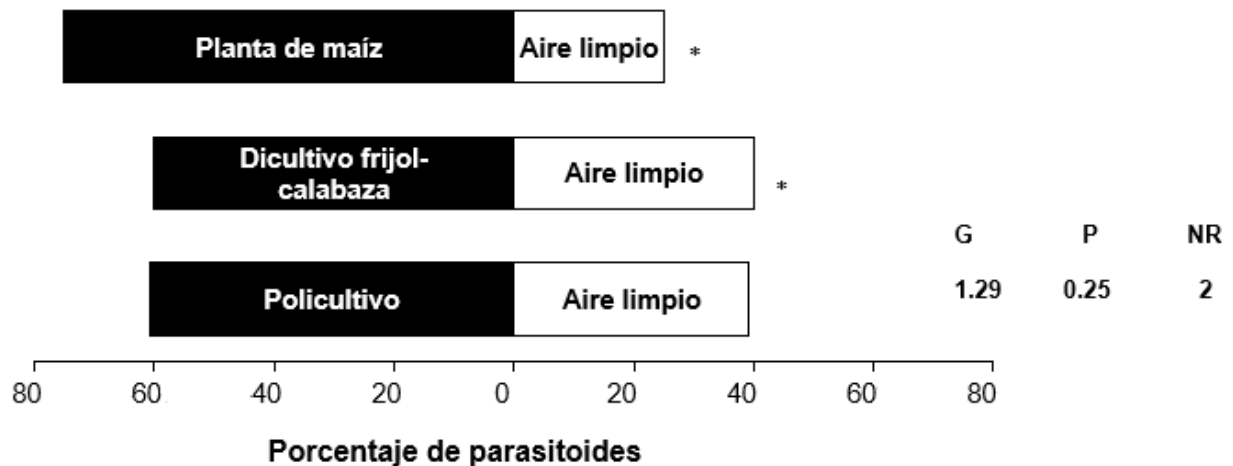


Figura 5. Respuesta de hembras de *Ch. insularis* a plantas sanas de maíz, dicultivo de frijol-calabaza, y el policultivo cuando se contrastaron contra aire limpio.

* (Planta de maíz vs aire limpio, $n=4$; dicultivo frijol-calabaza vs aire limpio, $n=10$).

En la comparación del policultivo sano contra planta sana de maíz el parasitoide prefirió la planta sana de maíz ($G = 7.95$; $gl = 1$; $p = 0.004$) (Fig. 6). La preferencia se mantuvo cuando se confrontaron ambos tratamientos con daño por herbivoría (policultivo versus monocultivo), donde la hembra de *Ch. insularis* fue atraída por el monocultivo ($G = 7.32$; $gl = 1$; $p = 0.006$) (Fig. 6). En la comparación del policultivo dañado por herbivoría y monocultivo sano no hubo diferencias entre ambos tratamientos ($G = 0.03$; $gl = 1$; $p = 0.85$) (Fig. 6).

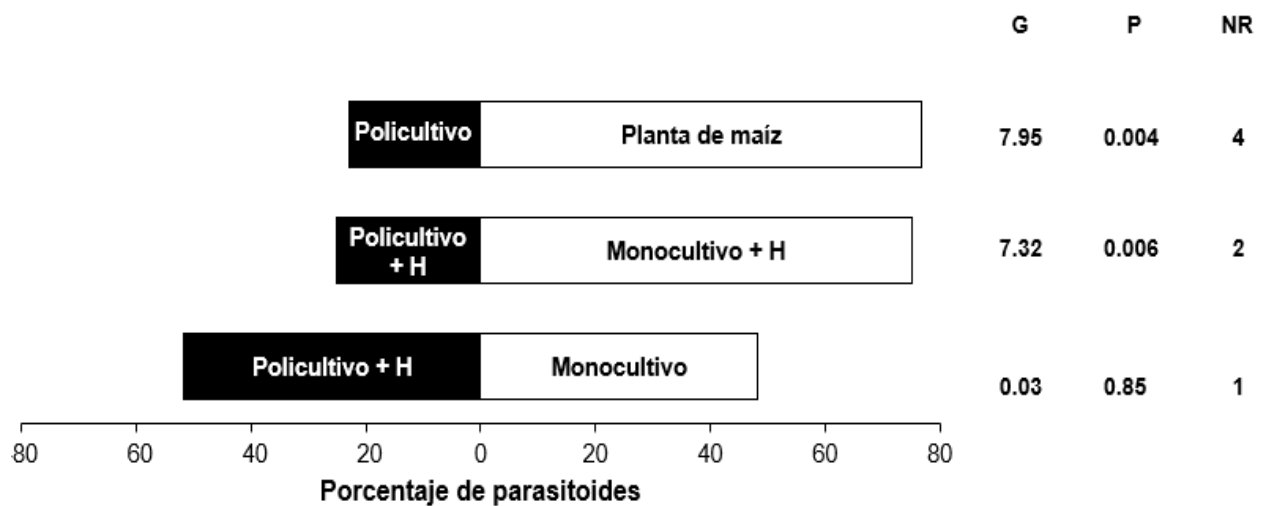


Figura 6. Respuesta de atracción de hembras de *Ch. insularis* a compuestos volátiles de Policultivo; Policultivo + H = Policultivo más herbivoría; Monocultivo + H = Monocultivo más herbivoría.

5.2. Bioensayos en semicampo

En estos bioensayos no se observó ninguna respuesta de los parasitoides a los estímulos evaluados: asociación de maíz-calabaza y plantas de maíz, durante los primeros 5 min de observación. La hembra de *Ch. insularis* una vez liberada volaba para posarse en las paredes de la arena y ahí permaneció durante los 30 min que duró cada observación, tanto en el medio dinámico y estático. Se descartó continuar con estos bioensayos debido a que no contábamos con suficientes parasitoides, además de que, mejorar las condiciones del bioensayo requerían varias pruebas preliminares.

5.3. Compuestos volátiles del policultivo y monocultivo

Se hicieron varios intentos de colecta de volátiles de plantas de maíz, frijol y calabaza en policultivo o plantas de maíz en monocultivo y no capturamos COVs. La extracción en fase sólida es una de las técnicas más sensibles para la colecta de COVs, cabe señalar que probamos esta técnica utilizando bolsas de polietileno, frascos de plástico o de vidrio, pero no logramos capturar COVs, no obstante, para descartar errores técnicos en el montaje o colecta, verificamos el método utilizando un matraz de 250 ml introduciendo únicamente la hoja de maíz dañada por herbivoría, y en esta muestra sí registramos la presencia de COVs como el linalol (Ortíz-Carreón 2015).

VI. Discusión

En este trabajo se evaluó el efecto de la asociación de maíz, frijol y calabaza (policultivo) en la orientación de *Ch. insularis*, y se encontró que el maíz sembrado en asociación con plantas de calabaza y frijol no mostró la atracción que se observa hacia la planta sana de maíz y el monocultivo dañado por herbivoría. Cuando la planta de maíz en policultivo fue dañada por larvas de *S. frugiperda* y este tratamiento fue confrontado con el monocultivo sano, la hembra de este parasitoide respondió a ambos tratamientos. El policultivo *per se* no incrementó la atracción de la planta hospedera.

Las diferencias químicas del hábitat posiblemente determinen si para el parasitoide la ubicación del huésped es positiva o negativa (Gols et al. 2005). Este efecto también depende del rango de huéspedes, por ejemplo, la alimentación de *Cotesia glomerata* (L.), un parasitoide con una amplia gama de huéspedes, se redujo por la presencia de plantas no hospederas, en cambio, mejoró en *Cotesia rubecula* (Marshall), que tiene un rango de huéspedes más estrecho (Perfecto y Vet 2003).

El tipo de dieta, especialista o generalista puede establecer el grado de especificidad de la información necesaria para una búsqueda exitosa (Vet y Dicke 1992). De esta manera un insecto especialista estaría fuertemente relacionado a compuestos volátiles característicos garantizando aterrizajes apropiados (Finch y Collier 2000), derivando a una búsqueda más exitosa en comparación a un insecto generalista. No obstante, esta eficiencia de búsqueda se puede compensar con un rango de presas mayor en generalistas lo que disminuye la probabilidad de extinción local (Symondson et al. 2002). Así mismo, el aprendizaje es más significativo en insectos generalistas, en *Ch. insularis* la experiencia previa mejoró la atracción hacia la planta hospedera (Roque-Romero et al. 2020) por lo que adquirir experiencia mientras se orienta en el hábitat eventualmente podría tener un impacto en el éxito de forrajeo (Gols et al. 2005). Las pruebas de semi campo no arrojaron resultado alguno, se esperaba que el parasitoide eligiera entre ambos arreglos de cultivo y su respuesta mejorara con la experiencia.

En el sistema de policultivo evaluado en tubo Y, la planta de maíz fue atractiva al parasitoide cuando se presentó de manera individual o asociada a otras plantas de la misma especie, pero no a la planta de maíz en policultivo, probablemente, como lo señalan Bruce et al. (2011), los insectos responden a la mezcla de la planta más abundante que representa una fuente de alimento rentable. Nuestros resultados coinciden con lo que reportan Thiery y Visser (1986), quienes mencionan que la orientación de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) fue bloqueada por las plantas acompañantes, los autores señalan que esto puede ocurrir a menudo en sistemas de cultivos mixtos.

Este fenómeno de enmascaramiento químico puede deberse a componentes que no tienen ningún efecto *per se*, pero provocan que los olores del recurso de interés sean menos detectables, o que son repelentes y por lo tanto contrarrestan la atracción de la señal de interés (Schröder y Hilker 2008). El hecho de que el parasitoide haya visitado indistintamente ambos brazos del olfatómetro en la comparación de policultivo sin daño versus aire limpio sugiere que el policultivo no fue atractivo ni repelente, posiblemente genera un enmascaramiento de los COVs de la planta de maíz evitando la detección de estos por *Ch. insularis*. Tal vez esto sucede sin repelencia, pues las repeticiones en la comparación de plantas de frijol y calabaza contra aire limpio muestran una respuesta del parasitoide hacia ambos estímulos, sin embargo, es necesario concluir estos bioensayos para confirmar o descartar este hecho. Es importante realizar otros estudios para profundizar en la dinámica que siguen estos efectos en campo. Por ejemplo, Jirón-Pablo (2014) encontró que el porcentaje de parasitismo en policultivo maíz-frijol-calabaza y monocultivo de maíz no fue diferente, este porcentaje no se especificó para cada especie de parasitoide encontrado. *Ch. insularis* estuvo presente de manera natural en ambos cultivos, pero cuando se colocaron huevos centinelas de *S. frugiperda* solo se encontró en monocultivo.

Así mismo, el tamaño del cuerpo puede afectar la eficiencia de búsqueda en parasitoides (Fellowes et al. 2007), siendo generalmente los parasitoides de huevo más pequeños (Fatouros et al. 2020) que los de larvas, por lo que un escenario complejo aumentaría el desafío de encontrar al huésped, su tamaño les dificulta volar directamente a una fuente de olor (Noldus et al. 1991) y aun cuando recurren a las señales asociadas a otras etapas del huésped (Vet y Dicke 1992; Fatouros et al. 2008), estas pueden verse obstaculizadas por el olor de las plantas acompañantes.

Los insectos son capaces de percibir concentraciones de sustancias en cantidades inferiores al umbral de detección del análisis de la cromatografía de gases, por lo cual estos compuestos menores y apenas perceptibles tienen el potencial de afectar o interferir la atracción de ciertos parasitoides (D'Alessandro et al. 2009). Una vez emitida, la mezcla de COVs interactúa con flujos locales turbulentos de aire, reacciona con la

radiación ultravioleta y se puede mezclar con COVs de otras fuentes, todos estos efectos son considerados como tipos de ruido que alteran la forma en que los insectos procesan e interpretan la información (Wilson et al. 2015). Desurmont et al. (2020) encontraron que los parasitoides pueden responder a la señal del recurso de interés y a la señal “ruido” por separado, es decir estos compuestos no “compitieron” por los receptores olfativos, la dosis de la mezcla usada como olor de fondo determinó el efecto sobre la atracción de las señales asociadas al huésped. En contraste no logramos coleccionar los COVs de las plantas en policultivo o monocultivo para comparar el perfil de compuestos volátiles de ambas asociaciones, y determinar que COVs pudieran estar interfiriendo en el comportamiento del parasitoide. Suponemos que en un caso de no elección, el policultivo más los olores asociados al huésped pueden tener cierto nivel de atracción al parasitoide, por ello es posible la colecta de COVs.

Hasta ahora, los estudios en campo refieren a los policultivos como excelentes sistemas para la supresión de plagas, por ejemplo, la asociación de plantas de maíz-frijol, y maíz-calabaza reducen los niveles de infestación de *S. frugiperda* (García-González et al. 2015a) pero el efecto en la población de enemigos naturales fue diferente; se establecieron de manera temprana en la asociación maíz y calabaza, en contraste con la asociación maíz y frijol donde hubo menor representatividad de insectos benéficos (García-González et al. 2015b).

Conocer este tipo de efectos nos permite tener elementos para mejorar las asociaciones de cultivo y hacerlas así más eficientes, posiblemente ayudaría en el comportamiento de búsqueda de los enemigos naturales, para controlar de manera efectiva las plagas (Gebrezihher 2018). Sin embargo, aún queda mucho camino para corroborar el beneficio neto que obtienen las plantas en la emisión de COVs (Silva et al. 2018). Nuestros resultados indican que un parasitoide generalista puede verse afectado por la diversidad de plantas, no obstante, es preciso realizar otros estudios que complementen esta información, incluyendo otras variables como la experiencia del insecto, su distribución en el hábitat y colonización del huésped, el tiempo de búsqueda del huésped en un

policultivo y monocultivo, la variedad de la planta, entre otras, para una mejor comprensión de los mecanismos que regulan las poblaciones de insectos.

VII. Conclusión

En este estudio se determinó que la asociación maíz-frijol-calabaza sí afectó la orientación del endoparásitoide *Ch. insularis*, las plantas no hospederas, calabaza y frijol, enmascaran los volátiles de la planta de maíz neutralizando la respuesta del parásitoide, por lo tanto, y de acuerdo con los alcances de esta investigación, el resultado se relaciona a la hipótesis del enmascaramiento de olores de plantas hospederas.

VIII. Literatura citada

- Aartsma Y, Bianchi FJJA, van der Werf W, Poelman EH, Dicke M. 2017. Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytol* 216:1054–1063.
- Ables JR, Vison SB, Ellis JS. 1981. Host discrimination by *Chelonus insularis* (Hym: Braconidae), *Telenomus heliothidis* (Hym: Scelionidae), and *Trichogramma pretiosum* (Hym: Trichogrammatidae). *Entomophaga* 26: 149-156.
- Ache BW, Gleeson RA, Thompson HA. 1988. Mechanisms for mixture suppression in olfactory receptors of the spiny lobster. *Chem Senses* 13: 425-434.
- Aguilar-Jiménez CE, Galdámez-Gadamez J, Martínez-Aguilar FB, Guevara-Hernández F, Vázquez-Solís H. 2019. Eficiencia del policultivo maíz-frijol-calabaza bajo manejo orgánico en la Frailesca, Chiapas, México. *Rev Cient Agroeco* 7: 64-72.
- Andersson MN. 2012. Mechanisms of odor coding in coniferous bark beetles: from neuron to behavior and application. *Psyche* 149572, 14.
- Altieri M, Nicholls C. 2007. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. Barcelona: Icaria Editorial, 248 p.
- Altieri MA, Letourneau DK. 1982. Vegetation management and biological control in agroecosystems. *J Crop Prot* 4: 405-430.

- Ashley TR. 1983. Growth pattern alterations in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, larvae after parasitization by *Apanteles marginiventris*, *Campoletis griotis*, *Chelonus insularis* and *Eiphosoma vitticole*. Fla Entomol 66: 260-266.
- Avila GA, Withers TM, Holwell GI. 2016. Olfactory cues used in host-habitat location and host location by the parasitoid *Cotesia urabae*. Entomol Exp Appl 158: 202–209.
- Badii MH, Guillen A, Rodríguez CE, Lugo O, Aguilar J, Acuña M. 2015. Pérdida de biodiversidad: causas y efectos. Int J Good Conscience 10:156–174.
- Beyaert I, Wäschke N, Scholz A, Varama M, Reinecke A, Hilker M. 2010. Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation. Anim Behav 79: 1077-1086.
- Borror D, Triplehorn J, Johnson N. 1989. An Introduction to the Study of Insects, 6th edn. Saunders College Publishing, Ohio, 875 p.
- Bruce TJA, Martin JL, Smart LE, Pickett JA. 2011. Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle, *Bruchus rufimanus*. Pest Manag Sci 67: 1303-1308.
- Bruce JA, Pickett JA. 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects-finding the right mix. Phytochemistry 72: 1605-1611.
- Casmuz A, Juárez ML, Socías MG, Murúa MG, Prieto S, Medina S, Willink E, Gastaminza G. 2010. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Rev Soc Entomol Argent 69: 209-231.
- Coutiño EB, Vidal MVA, Cruz VC, Gómez GM. 2015. Características eloteras y de grano de variedades nativas de maíz de Chiapas. Rev Mex Cien Agríc 6: 1119-1127.
- Coley PD, Kursar TA. 2001. Herbivoría, defensas vegetales y enemigos naturales en bosques tropicales. En: Anaya AL, Espinosa-García F, Cruz-Ortega R. eds. Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de su Aplicación, 1era edn. Plaza y Valdés, S. A. de C.V, México, 401-424 p.
- Conchou L, Lucas P, Meslin C, Proffit M, Staudt M, Renou M. 2019. Insect odorscapes: from plant volatiles to natural olfactory scenes. Front Physiol 10: 972.
- Clavijo S, Pérez GG. 2000. Protección y sanidad vegetal. En: Fontana NH, González NC, editores. El maíz en Venezuela. Fundación Polar Caracas, Venezuela, 345-361 p.
- Cramer MJ, Willig MR. 2002. Habitat heterogeneity, habitat associations and rodent species diversity in a sand-shinnery-oak landscape. J Mammal 83: 743-753.

- Cruz-Cruz R. 2014. Parasitismo de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en un monocultivo y policultivo de maíz en Barranca Fierro, Oaxaca. Tesis de licenciatura no publicada. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Torreón, Coahuila, 49 p.
- D’Alessandro M, Brunner V, von Mérey G, Turlings TCJ. 2009. Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. *J Chem Ecol* 35: 999-1008.
- Desurmont GA, von Arx M, Turlings TCJ, Schiestl FP. 2020. Floral odors can interfere with the foraging behavior of parasitoids searching for hosts. *Front Ecol Evol* 8: 148.
- Dicke M. 1986. Volatile spider-mite pheromone and host-plant kairomone, involved in spaced-out gregariousness in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Physiol Entomol* 11: 251-262
- Ebel R, Pozas J, Soria F, Cruz J. 2017. Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza en monocultivo y policultivo. *Terra Latinoamericana* 35:149-160.
- Endara MJ, Coley PD. 2011. The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Funct Ecol* 25: 389-398.
- [FAO] Food and Agriculture Organization Global Monitoring for Fall Armyworm Control; [consultado en noviembre 2020]; 2020, disponible en <http://www.fao.org/fall-armyworm/monitoring-tools/faw-map/en/>
- Fatouros NE, Cusumano A, Bin F, Polaszek A, van Lenteren JC. 2020. How to escape from insect egg parasitoids: a review of potential factors explaining parasitoid absence across the Insecta. *Proc R Soc B* 287: 20200344.
- Fatouros NE, Dicke M, Mumm R, Meiners T, Hilker M. 2008. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. *Behav Ecol* 19: 677-689.
- Fellowes MDE, van Alphen JJM, Jervis MA. 2007. Foraging behavior. In: Jervis MA, editor. *Insects as Natural Enemies: A Practical Perspective*. The Netherlands: Springer, 1-71 p.
- Fenny P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Phytochemistry* 10: 1-49.
- Fernández-Suárez R, Morales-Chávez LA, Gálvez-Mariscal A. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revision indispensable. *Rev Fitotec Mex* 36: 275-283.
- Finch S, Collier RH. 2000. Host-plant selection by insects – a theory based on “appropriate/inappropriate landings” by pest insects of cruciferous plants. *Entomol Exp Appl* 96: 91-102.

- García-González MT, Rojas-Rojas JA, Castellanos-González L. 2015a. Empleo de policultivos para el manejo de plagas en el maíz. *Fitosanidad* 19: 85-87.
- García-González MT, Castellanos-González L, Rojas-Rojas JA, Grillo-Ravelo H, Fernández-Cancio Y, Vera-Águila YW. 2015b. Biología y enemigos naturales de *Peregrinus maidis* (Ashmead) en el maíz (*Zea mays* L.) en sistemas de policultivos. *Centro Agrícola* 42: 17-24.
- Gebrezihher H. 2018. The role of herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) as indirect plant defense mechanism in a diverse plant and herbivore species; a review. *Int J Agric Environ Food Sci* 2: 139–147.
- Gohole LS, Overholt WA, Khan ZR, Vet LEM. 2003. Role of volatiles emitted by host and non-host plants in the foraging behaviour of *Dentichasmias busseolae*, a pupal parasitoid of the spotted stemborer *Chilo partellus*. *Entomol Exp Appl* 107: 1–9.
- Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamá M. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and Central Africa. *PLOS ONE* 11: e0165632.
- Gómez-Betancur LM, Márquez-Girón SM, Restrepo-Betancur LF. 2018. La milpa como alternativa de conversión agroecológica de sistemas agrícolas convencionales de frijol (*Phaseolus vulgaris*), en el municipio El Carmen de Viboral, Colombia. *IDESIA* 36: 123-131.
- González-Maldonado MB, García-Gutiérrez C, González-Hernández A. 2014. Parastismo y distribución de *Campoletis sonorensis* Cameron (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides del gusano cogollero en maíz en Durango, México. *Vedalia* 15: 47-53.
- Gols R, Bukovinszky T, Hemerik L, Harvey JA, Van Lenteren JC, Vet LEM. 2005. Reduced foraging efficiency of parasitoid under habitat complexity: implications for population stability and species coexistence. *J Anim Ecol* 74: 1059-1068.
- Guzmán-Prada DA, Rodríguez-Chalarca J, Valencia SJ. 2016. Identificación de caracteres diagnósticos del ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). CIAT, 48 p.

- Guera OGM, Castrejón-Ayala F, Robledo N, Jiménez-Pérez A, Sánchez-Rivera G. 2020. Plant selection for the establishment of push-pull strategies for *Zea mays*–*Spodoptera frugiperda* pathosystem in Morelos, Mexico. *Insects* 6: 349.
- Glogoza PA. 1981. Effects of temperature on the egg-larval parasitoid, *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae). Tesis de maestría. Universidad de Arizona. 53 p.
- Isbell FI, Wayne HP, Wilsey BJ. 2009. Biodiversity, productivity and the temporal stability of productivity: patterns and processes. *Ecol Lett* 12: 443-451.
- Isono K, Kuramitsu K, Kainoh Y. 2020. Deterrent effects of intact plants on host-searching behavior of parasitoid wasps. *Appl Entomol Zool* 55:199–204.
- Jaramillo DA, Jaramillo GO, Bustillo PAE, Gómez LH. 1989. Efecto del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) sobre el rendimiento del maíz. *Rev Fac Nac Agron* 42: 25-33.
- Jirón-Pablo E. 2014. Enemigos naturales de *Spodoptera frugiperda* (Smith) monocultivo y policultivo de maíz en Reyes Mantecón, Oaxaca. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca, 57 p.
- Jonsson M, Satrub CS, Didham RK, Buckley HL, Case BS, Hale RJ, Gratton C y Wratten SD. 2015. Experimental evidence that the effectiveness of conservation biological control depends on landscape complexity. *J Appl Ecol* 52: 1274–1282.
- Kigathi NR, Weisser WW, Reichelt M, Gershenson J, Unsicker US. 2019. Plant volatile emission depends on the species composition of the neighboring plant community. *BMC Plant Biol* 19: 2-17.
- Kotschi J, von Lossau A. 2012. Agrobiodiversidad: la clave para la soberanía alimentaria y la adaptación al cambio climático. Primera edición, Creatilibros, Ecuador, 26 p.
- Ku-Pech EM. 2019. La diversidad de maíz, frijol y calabaza en la milpa maya de Xoy, Peto, Yucatán. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY), 98 p.
- Khan ZR, Midega CAO, Bruce TJA, Hooper AM, Pickett JA. 2010. Exploiting phytochemicals for developing a ‘push-pull’ crop protection strategy for cereal farmers in Africa. *J Exp Bot* 61: 4185-4196.

- León-García I, Rodríguez-Leyva E, Ortega-Arenas LD, Solís-Aguilar JF. 2012. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a Césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia* 46: 279-287.
- Leslie AW, Hamby KA, McCluen SR, Hooks CRR. 2020. Evaluating a push-pull tactic for management of *Epilachna varivestis* Mulsant and enhancement of beneficial arthropods in *Phaseolus lunatus* L. *Ecol Eng* 147: 105660.
- Letourneau DK. 1987. The enemies hypothesis: tritrophic interactions and vegetational diversity in tropical agroecosystems. *Ecol* 68: 1616–22.
- Marsh P.M. 1979. Braconidae. In: Krombein KV, Hurd PD, Smith DR, Burks BD. eds. *Catalog of Hymenoptera in America North of México*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C, 144 p.
- Martínez-Martínez L, Montaña-Montaña A, Padilla-Cortes E, Jarquín-López R. 2019. Daño a maíz por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) y su muestreo en Oaxaca, México. *Entomol Mex* 6: 236-241.
- Martínez-Martínez L, Colon-García EM, García-García MA, Jarquín-López R, Sánchez-García JA. 2016. Riqueza de especies y gremios de arañas (Chelicerata: Araneae) en mono y policultivos de maíz, en Reyes Mantecón, Oaxaca. *Entomol Mex* 3: 64-69.
- Mithöfer A, Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annu Rev Plant Biol* 63: 431-450.
- Midega CAO, Pittchara JO, Pickett JA, Hailua GW, Khan ZR. 2018. A climate-adapted push-pull system effectively controls fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), in maize in East Africa. *J Crop Prot* 105: 10-15.
- Miller JR, Siegert PY, Amimo FA, Walker ED. 2009. Designation of chemical in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier et al (1960). *J Econ Entomol* 102: 2056-2060.
- Miller JC. 1980. Niche relationships among parasitic insects occurring in a temporary habitat. *Ecol* 61: 270-275.
- Molina-Anzures MF, Chávez-Servia JL, Gil-Muñoz A, López PA, Hernández-Romero E, Ortiz-Torres E. 2016. Eficiencias productivas de asociaciones de maíz, frijol y calabaza (*Cucurbita pepo* L.), intercaladas con árboles frutales. *ΦYTON* 85: 36-50.

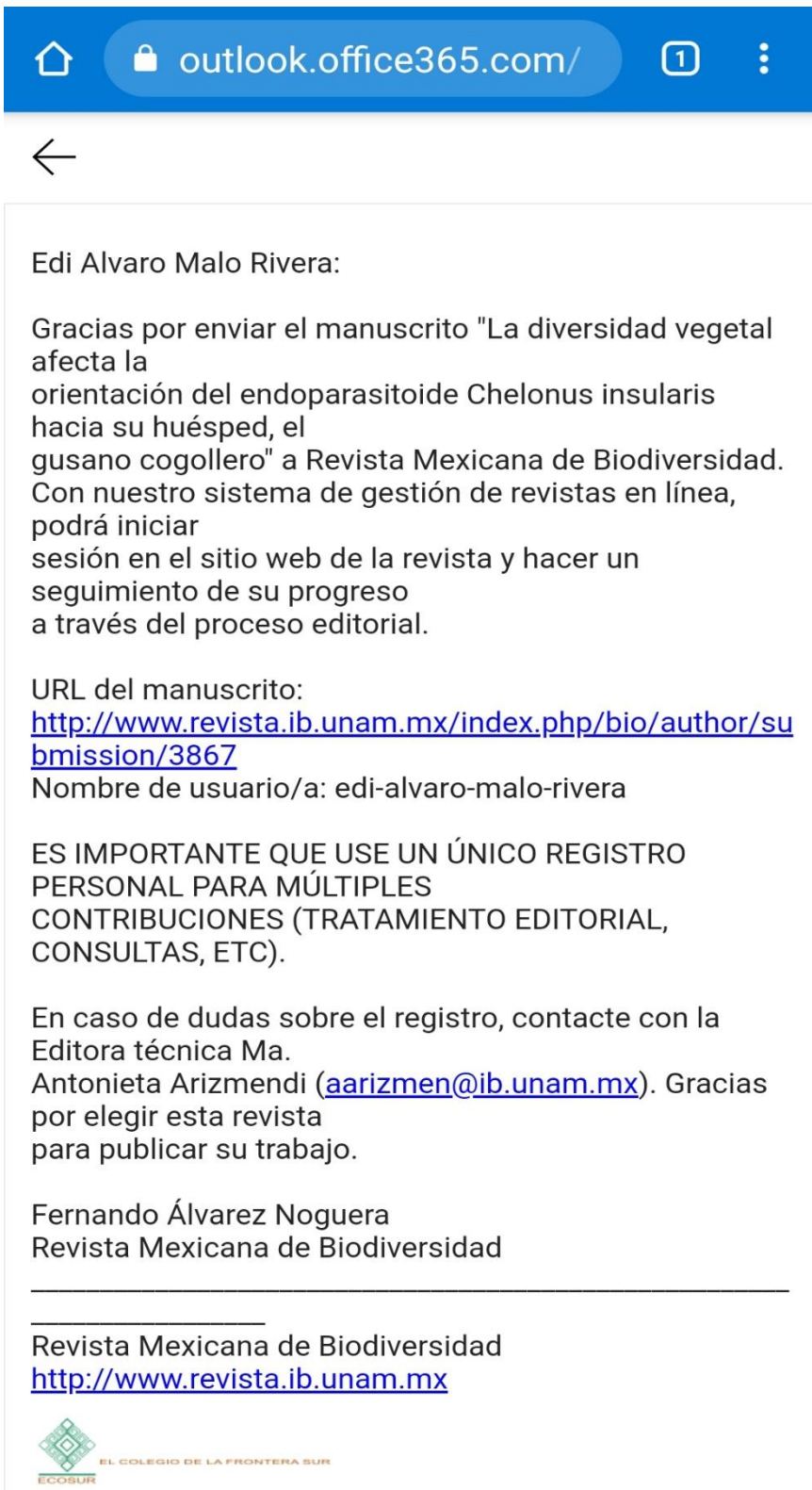
- Mumm R, Hilker M. 2005. The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs. *Chem Senses* 30: 337-343.
- Negrete B y Morales A. 2003. El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith). Colombia. CORPOICA, 7 p.
- Noldus LPJJ, van Lenteren JC, Luis WJ. 1991. How Trichogramma parasitoids use moth sex pheromones as kairomones: orientation behaviour in a wind tunnel. *Physiol Entomol* 16, 313-327.
- Ode PJ. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annu Rev Entomol* 51: 163-185.
- Ortíz-Carreón F. 2015. Respuesta de *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) a volátiles de plantas de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de licenciatura no publicada. Instituto Tecnológico de Tapachula Chiapas, 40 p.
- Ortíz-Carreón FR, Rojas JC, Cisneros J, Malo EA. 2019. Herbivore-induced volatiles from maize plants attract *Chelonus insularis*, an egg-larval parasitoid of the fall armyworm. *J Chem Ecol* 43: 326-33.
- Poveda K, Gómez MI, Martínez E. 2008. Diversification practices: their effect on pest regulation and production. *Rev Colom Entomol* 34: 131-144.
- Perfecto I, Vet LEM. 2003. Effect of a nonhost plant on the location behavior of two parasitoids: the tritrophic system of *Cotesia* spp. (Hymenoptera: Braconidae), *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae), and *Brassica oleraceae*. *Environ Entomol* 32: 163-174.
- Price P, Bouton C, Gross P, McPherson PB, Thompson J, Weis A. 1980. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annu Rev Ecol Syst.* 11: 41–65.
- Ramírez-Cabral N, Medina-García G, Kumar L. 2020. Aumento del número de generaciones de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) como indicador del calentamiento global. *Rev Chapingo ser zonas áridas* 19: 1-16.
- Randlkofer B, Obermaier E, Hilker M, Meiners T. 2010. Vegetation complexity: that influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic Appl Ecol* 11: 383–395.
- Restrepo J, Angel D, Prager M. 2000. Agroecología. Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, Inc (CEDAF) 34, 117 p.

- Rezende MAA, Cruz I, Della Lucia TMC. 1995. Aspectos biológicos do parasitoide *Chelonus insularis* (Creeson) (Hymenoptera, Braconidae) criados em ovos de *Spodoptera frugiperda*, Noctuidae. Rev Bras Zool 12: 779-784.
- Risch SJ. 1983. Intercropping as cultural pest control: Prospects and limitations. Environ Manag 7: 9–14.
- Rodríguez-Amaya R, Montes-Hernández S, Rangel-Lucio JA, Mendoza-Elos M, Latouynere-Moreno L. 2009. Caracterización morfológica de la calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber). Agric Téc Méx 35: 378-388.
- Roque-Romero L, Cisneros J, Rojas JC, Ortiz-Carreón FR, Malo EA. 2020. Attraction of *Chelonus insularis* to volatile host and habitat, during the search for eggs of *Spodoptera frugiperda*. Biol Control 140: 1-7.
- Rojas JC, Virgen A, Malo EA. 2004. Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of Chiapas, México. Fla Entomol 87: 496-503.
- Rojas JC, Virgen A, Cruz-López L. 2003. Chemical and tactile influencing oviposition of a generalist moth, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Environ Entomol 32: 1386-1392.
- Root R. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica Oleracea*). Ecol Monogr 43: 95–124.
- Root RB. 1975. Some consequences of ecosystem texture. In: Levin SA. Ecosystem Analysis and Prediction. Philadelphia: Society of industrial and applied mathematics, 83-97 p.
- Russell EP. 1989. Enemies hypothesis: a review of the effect of vegetational diversity on predatory insects and parasitoids. Environ Entomol 18: 590–99.
- Ruiz-González RO, Victorino-Ramírez L. 2014. Respuesta del policultivo jamaica-frijol-maíz a tres tratamientos de fertilización en villaflores, Chiapas, México. Agrociencia 49(5): 545–557.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Sánchez P, Romero O. 2017. Combustibles fósiles y CO2 en sistemas de milpa tradicional y maíz en monocultivo en Tlaxcala, México. Rev Mex Cien Agríc 8:919–932.
- [SENASICA] Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 1999.

- Sistema de producción del gusano cogollero (Lepidoptera: Noctuidae) y su parasitoide *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae). Ficha técnica CB-17.
- Silva RF, Rabeschini GBP, Peinado GLR, Cosmo LG, Rezende LHG, Murayama RK, Pareja M. 2018. The ecology of plant chemistry and multi-species interactions in diversified agroecosystems. *Front Plant Sci* 9: 1713.
- Schröder R, Hilker M. 2008. The relevance of background odor in resource location by insects: a behavioral approach. *Bioscience* 58: 308-316.
- Schoonhoven LM, Joop JA, van Loon JJA, Dicke M. 2005. *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press 2nd ed, 412 p.
- Symondson WOC, Sunderland KD, Greenstone MH. 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annu Rev Entomol* 47: 561-94.
- Shaw MR, Huddleston T. 1991. Classification and biology of Braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). In: Dolling WR y Askew RR, editores. *Handbooks for the identification of British insects*, 1 edn, Royal Entomological Society London, 59-62 p.
- Takabayashi J, Shiojiri K. 2019. Multifunctionality of herbivory-induced plant volatiles in chemical communication in tritrophic interactions. *Curr Opin Insect Sci* 32: 110–117.
- Torralba-Ponce MR. 2010. Dinámica de la población de insectos en un sistema de policultivo orgánico maíz-frijol-calabaza. Tesis de licenciatura no publicada. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Torreón, Coahuila, 65 p.
- Turlings TCJ, Wäckers F. 2004 Recruitment of predators and parasitoids by plants damaged by herbivores. In: RT Cardé, JG Millar, eds. *Advances in Chemical Ecology of Insects*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press, 21-76 p.
- Thiery D, Visser JH. 1986. Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. *Entomol Exp Appl* 41: 165-172.
- Urretabizkaya N, Vasicek A, Saini E. 2010. Insectos perjudiciales de importancia agropecuaria: Lepidópteros. Buenos Aires. INTA, 77 p.
- Vet LEM, Dicke M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu Rev Entomol* 37: 141-172.
- Villeras-Simbron O. 2020. Parasitoides del gusano cogollero en maíz (*Zea mays*): Parámetros biológicos y de comportamiento de *Eiphosoma vitticolle*. Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Universidad Veracruzana, Veracruz, 40 p.

- Vinson SB. 1975. Source of material in the tobacco budworm which initiates host-searching by the egg-larval parasitoid, *Chelonus texanus*. *Ann Entomol Soc Am* 68: 381-384.
- Vucetic A, Dahlin I, Petrovic-Obradovic O, Glinwood R, Webster B, Ninkovic V. 2014. Volatile interaction between undamaged plants affects tritrophic interactions through changed plant volatile emission. *Plant Signal Behav* 9: 1-5.
- Wäschke N, Hardge K, Hancock C, Hilker M, Obermaier E, Meiners T. 2014. Habitats as complex odour environments: how does plant diversity affect herbivore and parasitoid orientation? *PLOS ONE* 9: 1-10.
- Wilson JK, Kessler A, Woods HA. 2015. Noisy communication via airborne infochemicals. *Bioscience* 65: 667-677.
- Wilkinson SW, Magerøy MH, López SA, Smith LM, Furci L, Cotton TEA, Krokene P, Ton J. 2019. Surviving in a hostile world: plant strategies to resist pests and diseases. *Annu Rev Phytopathol* 57: 505-529.
- Yachi S, Loreau M. 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proc Natl Acad Sci* 96: 1463-1468.
- Yáñez-López R, Vázquez-Ortega A, Arreguín-Centeno JH, Soria-Ruiz J, Quijano-Carranza JA. 2019. Sistema de alerta contra el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Mex Cienc Agríc* 10: 405-416.
- Zhang XM, Lövei GL, Ferrante M, Yanga NW, Wana FH. 2020. The potential of trap and barrier cropping to decrease densities of the whitefly *Bemisia tabaci* MED on cotton in China. *Pest Manag Sci* 76: 366-374.
- Zizumbo-Villarreal D, García-Marín PC. 2008. El origen de la agricultura, la domesticación de las plantas y el establecimiento de corredores biológico-culturales en Mesoamérica. *Rev Geograf Agríc* 41: 85-113.

IX. Anexo



Edi Alvaro Malo Rivera:

Gracias por enviar el manuscrito "La diversidad vegetal afecta la orientación del endoparásitoide *Chelonus insularis* hacia su huésped, el gusano cogollero" a Revista Mexicana de Biodiversidad. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:
<http://www.revista.ib.unam.mx/index.php/bio/author/submission/3867>


Nombre de usuario/a: edi-alvaro-malo-rivera

ES IMPORTANTE QUE USE UN ÚNICO REGISTRO PERSONAL PARA MÚLTIPLES CONTRIBUCIONES (TRATAMIENTO EDITORIAL, CONSULTAS, ETC).

En caso de dudas sobre el registro, contacte con la Editora técnica Ma. Antonieta Arizmendi (aarizmen@ib.unam.mx). Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Fernando Álvarez Noguera
Revista Mexicana de Biodiversidad

Revista Mexicana de Biodiversidad
<http://www.revista.ib.unam.mx>



Brito-Bonifacio et al. Orientación de *Chelonus insularis* y diversidad vegetal

La diversidad vegetal afecta la orientación del endoparásitoide *Chelonus insularis* hacia su huésped, el gusano cogollero Plant diversity affects orientation of the endoparasitoid *Chelonus insularis* towards its host, fall armyworm

Irais Brito Bonifacio^a, Juan Cisneros Hernández^b, Julio César Rojas León^c, Edi A. Malo Rivera^{d,*}

Grupo de Ecología de Artrópodos y Manejo de Plagas, Departamento de Agricultura, Sociedad y Ambiente, El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Carretera Antigua Aeropuerto km 2.5, Tapachula, Chiapas 30700, México ^{a,b,c,d}

irais.brito@estudianteposgrado.ecosur.mx^a, jcisnero@ecosur.mx^b, jrojas@ecosur.mx^c,

emalo@ecosur.mx^{d,*}

Resumen

Las interacciones biológicas entre plantas e insectos ocurren en ambientes complejos, donde el olor de fondo puede afectar o mejorar el proceso de búsqueda y localización del recurso de interés. En este trabajo, estudiamos el efecto de la diversidad de plantas en la orientación de *Chelonus insularis* a volátiles de plantas sanas de maíz o dañadas por *Spodoptera frugiperda*. Mediante pruebas de olfatometría en laboratorio e imitando un hábitat diverso se sembró en asociación plantas de maíz-frijol-calabaza y evaluamos posibles efectos que a nivel de búsqueda de huésped pueden tener los volátiles emitidos en ambientes complejos. Nuestros resultados indican, en este caso, que plantas no hospederas calabaza y frijol enmascaran el olor de la planta de maíz, afectando la respuesta de *Ch. insularis*. En conclusión, la mezcla de volátiles generados en ambientes heterogéneos puede afectar la capacidad de parasitoides para localizar a su huésped,

por lo que es importante estudiar el comportamiento de parasitoides en la búsqueda de huésped como información base para mejorar las estrategias de manejo del hábitat.

Palabras clave: Enmascaramiento químico, hábitat, herbívoro, interacción tritrófica, parasitoides, plantas no hospederas.

Abstract

Biological interactions between plants and insects occur in complex environments, where the background odor can affect or improve the process of search and location of resources. In this work, we study the effect of plant diversity on the orientation of *Chelonus insularis* to volatiles of undamaged maize plant or damaged by its host, *Spodoptera frugiperda*. We performed bioassays tests using a glass-Y tube olfactometer in laboratory using maize, bean, and pumpkin plants to imitate a diverse habitat. We evaluated the possible effects of plant volatiles produced in a complex environment on the host searching by *C. insularis*. Our results showed that pumpkin and bean plants (*S. frugiperda* non-host plants) mask the odor of the maize plant, affecting the response of *Ch. insularis*. The blend of volatiles generated in heterogeneous environments can affect the ability of parasitoids to locate host, which is important to study the behavior of parasitoids in the search for a host as basic information to improve habitat management strategies.

Keywords: Chemical masking, habitat, herbivore, tritrophic interaction, non-host plants, parasitoid.

Introducción

En México, las numerosas variedades de maíz (*Zea mays* L.) nativo son el sustento de miles de familias rurales (Fernández-Suárez et al., 2013). Una de las plagas más importantes que atacan

cultivos de maíz es el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Rojas et al., 2004), que es un insecto altamente polífago y muestra fuerte preferencia por cultivos de maíz (Clavijo y Pérez, 2000; Negrete y Morales, 2003; Casmuz et al., 2010). La presión selectiva que ejercen los insectos herbívoros sobre las plantas ha propiciado que estas respondan evolutivamente con un conjunto de defensas directas e indirectas (Coley y Kursar, 2001). Un ejemplo de defensa indirecta es la emisión de compuestos orgánicos volátiles (COVs) cuando la planta es dañada por un insecto herbívoro. Los COVs tienen un papel importante en la mediación de las interacciones tróficas múltiples, entre plantas, insectos fitófagos y enemigos naturales (Mithöfer y Boland, 2012; Vucetic et al., 2014; Aartsma et al., 2017).

Los parasitoides himenópteros usan el sistema olfativo como mecanismo principal para detectar y localizar a sus huéspedes, guiándose o apoyándose de COVs inducidos por herbivoría y liberados por la planta hospedera (Turlings y Wäckers, 2004; Beyaert et al., 2010; Avila et al., 2016). La planta hospedera del insecto herbívoro está presente en un ambiente heterogéneo donde los parasitoides tendrán que detectar plantas donde se alimenta el herbívoro y descartar plantas no atacadas por este; esta vegetación genera un olor de fondo que puede influir en la mezcla de COVs percibidos por los enemigos naturales (Ode, 2006; Randlkofer et al., 2010; Kigathi et al., 2019; Isono et al., 2020) aumentando la atracción del insecto hacia señales que conducen a un recurso de interés, enmascarando señales indicadoras o siendo irrelevantes (Schröder y Hilker, 2008).

A menudo se reporta que, la asociación de cultivos reduce los niveles de infestación de algunos insectos fitófagos (Khan et al., 2010; Midega et al., 2018), esto ha derivado en la búsqueda de plantas que liberan compuestos repelentes o atrayentes (Guera et al., 2020; Zhang et al., 2020; Leslie et al., 2020) para el desarrollo de sistemas “push-pull”. Si bien, este tipo de estrategia se

perfilan como exitosas en el manejo de plagas, poco se ha estudiado sobre el efecto que la diversidad vegetal de este sistema puede tener en los enemigos naturales, específicamente en su proceso de búsqueda de huésped.

En este trabajo, analizamos este supuesto en la interacción tritrófica *Z. mays*-*S. frugiperda*-*Ch. insularis*. Particularmente, en pruebas de olfatometría en laboratorio para examinar si un ambiente diverso formado por la asociación de plantas de maíz, frijol y calabaza afecta la orientación de este parasitoide. El sistema evaluado es idóneo para este tipo de estudios ya que *Ch. insularis* muestra una consistente respuesta innata hacia COVs de plantas de maíz sanas y dañadas por herbivoría (Ortíz-Carreón, 2015; Ortíz-Carreón et al., 2019; Roque-Romero et al., 2020). El presente estudio contribuye para conocer el papel de las plantas no hospederas en la asociación de cultivos y el posible impacto que tienen en la búsqueda de huésped por enemigos naturales.

Materiales y métodos

Cría de insectos Larvas de segundo y tercer estadio de *S. frugiperda* se colectaron en sembradíos de maíz y trasladadas al insectario de Ecología Química de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), unidad Tapachula, donde se individualizaron en frascos para alimentarlas con dieta artificial (Rojas et al., 2003). Los insectos se mantuvieron en condiciones controladas de fotoperiodo; 12:12 L:O; temperatura 25 ± 2 °C y humedad relativa 75 ± 5 % (Ortíz-Carreón et al., 2019; Roque-Romero et al., 2020). Para la obtención de nuevas generaciones, los ejemplares en fase pupal se separaron por sexo, después de que emergieron los adultos se colocaron en bolsas de papel Kraft® en una relación de 5 hembras y 5 machos alimentándolos con una solución azucarada al 10 %. El parasitoide *Ch. insularis* se obtuvo de larvas de *S. frugiperda* colectadas en campo que fueron llevadas a laboratorio y criadas en condiciones descritas previamente; las

larvas parasitadas disminuyeron su movilidad y formaron una capsula en la dieta que el parasitoide usó para pupar. Los parasitoides adultos se alimentaron con miel y en seguimiento a la cría se hicieron apareamientos en relación 1 hembra: 2 machos. Posteriormente, a las hembras copuladas se les ofreció masas de huevos de *S. frugiperda*, cuando los huevos eclosionaron las larvas neonatas se colocaron en recipientes de unicel con dieta artificial, una vez alcanzado el segundo estadio las larvas se individualizaron en frascos para evitar la pérdida de material por canibalismo, además la cría se renovó incorporando material de campo para evitar efectos de endogamia. Los parasitoides utilizados en los bioensayos fueron hembras de 2 a 7 días de edad, alimentadas, sin experiencia de copula ni de contacto con plantas.

Plantas Se utilizaron semillas de maíz olotillo, frijol “variedad arbustiva” *Phaseolus vulgaris* L., y calabaza, *Cucurbita argyrosperma* Huber (Rodríguez-Amaya et al., 2009; Coutiño et al., 2015; Ku-Pech, 2019) obtenidas a través de productores locales del estado de Guerrero y Puebla, México. Las semillas, una vez germinadas en charolas, se trasplantaron a macetas individuales (16 cm diámetro y 11.5 cm de altura) utilizando sustrato comercial PROMIX® y fertilizadas con Royal Garden’s®, el proceso se mantuvo bajo condiciones controladas (12:12 L:O, 28 °C, 68 % HR). Los tratamientos consistieron en asociar una planta de maíz-frijol- calabaza (MFC) de la misma edad y depositadas en una misma maceta, y la asociación de tres plantas de maíz (MMM) de la misma edad colocadas en otra maceta. En los experimentos se utilizaron plantas sanas de 10-13 días de edad, esto es cuando el frijol y la calabaza tenían al menos una o dos hojas verdaderas.

Bioensayos de olfatometría La respuesta de atracción de *Ch. insularis* se evaluó en un olfatómetro de vidrio tipo Y de 4 cm de largo x 0.6 cm d. i. (diámetro interno) con dos juntas de vidrio de 24/40 cm. Los brazos del olfatómetro estaban conectados a recipientes de vidrio de 8 l

de capacidad que contenían las plantas, haciendo pasar un flujo de aire humedecido a 1.5 l/min filtrado sobre carbón activado y regulado por dos flujómetros (Gilmont Instrumentos, Barnant Co., Barrington, IL, EUA). Después de cada prueba, el olfatómetro y el material de vidrio se lavó con jabón neutro, agua destilada y secado a 120 °C. Durante los bioensayos se mantuvieron condiciones controladas de iluminación 1676 lx; temperatura 25 ± 2 °C y humedad relativa de 60 ± 5 % (Ortíz-Carreón et al., 2019; Roque-Romero et al., 2020).

Los bioensayos se realizaron de 09:00 a 14:00 h, tiempo reconocido como de mayor actividad de *Ch. insularis* (Ortíz-Carreón 2015), en cada prueba se utilizaron 30 parasitoides diferentes una sola vez. Los parasitoides se trasladaron al cuarto de bioensayos 30 min antes de iniciar las observaciones como periodo de aclimatación, el experimento consistió en colocar una hembra de *Ch. insularis* sin experiencia en la base del tubo Y, durante 5 min se observó su comportamiento y se registró la elección; cuando el insecto recorrió 2/3 de uno de los brazos del olfatómetro se definió como atracción y cuando el ejemplar no realizó ninguna elección se contabilizó como NR “no respondió”; los brazos del tubo Y se rotaron para evitar el sesgo de posición y se reemplazó después de 5 observaciones. Las comparaciones consistieron en: 1) asociación de plantas de maíz, frijol y calabaza (MFC) sin daño contra aire limpio, 2) asociación MFC sin daño contra una planta sana de maíz, 3) asociación MFC con daño por herbivoría contra asociación de plantas de maíz (MMM) con daño por herbivoría, 4) asociación MFC dañada por herbivoría contra asociación MMM sin daño.

Inducción de daño por herbivoría El daño por herbivoría se provocó utilizando dos larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* para cada tratamiento, las larvas estuvieron en ayuno previo durante 7 a 15 h. Se eligió una planta de maíz de la asociación MMM y la única planta de maíz de la asociación MFC para inducir herbivoría durante 4 a 5 h, la planta a la que se indujo daño

fue aislada utilizando un cilindro de plástico para evitar que las larvas se desplazaran hacia las plantas vecinas. Los bioensayos se realizaron después de 13 a 15 h de aplicar daño. La respuesta de atracción de hembras de *Ch. insularis* se analizó mediante una prueba G en el software estadístico R (R versión 4.0.0). Los insectos que no respondieron se excluyeron del análisis.

Resultados

Las hembras de *Ch. insularis* sin experiencia no mostraron preferencia por volátiles de plantas sanas de maíz, frijol y calabaza (MFC) confrontadas contra aire limpio ($G = 1.29$; $gl = 1$; $p = 0.25$) (Fig. 1). En la comparación de la asociación MFC sin daño contra una planta sana de maíz el parasitoide prefirió la planta sana de maíz ($G = 7.95$; $gl = 1$; $p = 0.004$) (Fig. 1). La preferencia se mantuvo cuando se confrontaron tratamientos con daño por herbivoría (MFC versus MMM), donde la hembra de *Ch. insularis* fue atraída por la asociación MMM ($G = 7.32$; $gl = 1$; $p = 0.006$) (Fig. 1). Sin embargo, en la comparación de la asociación MFC con daño por herbivoría contra la asociación MMM sin daño, no se encontró preferencia ($G = 0.03$; $gl = 1$; $p = 0.85$) (Fig. 1).

Discusión

En este trabajo se evaluó el efecto de la asociación de maíz, frijol y calabaza (MFC) en la orientación de *Ch. insularis*, y se encontró que el maíz sembrado junto a plantas de calabaza y frijol no mostró la atracción que se observa hacia la planta sana de maíz y la asociación de tres plantas de maíz (MMM) con dañado por herbivoría. Sin embargo, cuando la planta de maíz asociada a frijol y calabaza fue dañada por larvas de *S. frugiperda* y este tratamiento fue confrontado con la asociación de tres plantas sanas de maíz, la hembra de este parasitoide respondió a ambos tratamientos. La asociación MFC *per se* no incrementó la atracción de la planta hospedera.

Los insectos son capaces de percibir concentraciones de sustancias en cantidades inferiores al umbral de detección del análisis de la cromatografía de gases, por lo cual estos compuestos menores y apenas perceptibles tienen el potencial de afectar o interferir la atracción de ciertos parasitoides (D'Alessandro et al., 2009). En el medio natural la mezcla de COVs interactúa con flujos de aire, reacciona con la radiación ultravioleta y se puede mezclar con COVs de otras fuentes, todos estos efectos son considerados como tipo de ruido que alteran la forma en que los insectos procesan e interpretan la información (Wilson et al., 2015). Por lo tanto, las diferencias químicas del hábitat posiblemente determinen si para el parasitoide la ubicación del huésped fue positiva o negativa (Gols et al., 2005). Este efecto también depende del rango de huéspedes, por ejemplo, la alimentación de *Cotesia glomerata* (L.), un parasitoide con una amplia gama de huéspedes, se redujo por la presencia de plantas no hospederas, en cambio, mejoró en *Cotesia rubecula* (Marshall), que tiene un rango de huéspedes más estrecho (Perfecto y Vet, 2003).

El tipo de dieta, especialista o generalista puede establecer el grado de especificidad de la información necesaria para una búsqueda exitosa (Vet y Dicke, 1992). De esta manera un insecto especialista estaría fuertemente relacionado a compuestos volátiles característicos garantizando aterrizajes apropiados (Finch y Collier, 2000), derivando a una búsqueda más exitosa en comparación a un insecto generalista. No obstante, esta eficiencia de búsqueda se puede compensar con un rango de presas mayor en insectos generalistas lo que disminuye la probabilidad de extinción local (Symondson et al., 2002). Así mismo, el aprendizaje es más significativo en insectos generalistas, en *Ch. insularis* la experiencia previa mejoró la atracción hacia la planta hospedera (Roque-Romero et al., 2020) por lo que, adquirir experiencia mientras se orienta en el hábitat eventualmente tenga un impacto en el éxito de forrajeo (Gols et al., 2005).

La planta de maíz fue atractiva al parasitoide cuando se presentó de manera individual o asociada a otras plantas de la misma especie en el olfatómetro, pero no a la planta de maíz asociada a frijol y calabaza, probablemente, como lo señalan Bruce et al. (2011), los insectos responden a la mezcla de la planta más abundante que representan una fuente de alimento rentable. Nuestros resultados coinciden con lo que reporta Thiery y Visser (1986), quienes mencionan que la orientación de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) fue bloqueada por las plantas acompañantes, los autores señalan que esto puede ocurrir a menudo en sistemas de cultivos mixtos. Los trabajos en laboratorio han demostrado respuestas diferenciales en el comportamiento de enemigos naturales en un ambiente de olores diversos, existiendo casos en donde la asociación de la planta hospedera y no hospedera de un herbívoro repelió al parasitoide (Gohole et al., 2003). También, se han documentado respuestas neutrales, en las cuales tanto el herbívoro como el parasitoide no fueron afectados por la diversidad de plantas, logrando detectar a la planta hospedera y el huésped, respectivamente, a través de señales volátiles, incluso en presencia de plantas no hospederas del herbívoro (Wäschke et al., 2014), y otros estudios muestran que el olor de fondo aumentó la atracción hacia la planta hospedera del herbívoro (Mumm y Hilker, 2005). Sin embargo, en algunos casos el olor de las plantas no hospederas “inhiben” o “retardan” la atracción del insecto hacia compuestos específicos (Andersson, 2012).

Este fenómeno de enmascaramiento químico puede deberse a componentes que no tienen ningún efecto *per se*, pero provocan que los olores del recurso de interés sean menos detectables, o que son repelentes y por lo tanto contrarrestan la atracción de la señal de interés (Schröder y Hilker, 2008). El hecho de que el parasitoide haya visitado indistintamente ambos brazos del olfatómetro en la confrontación de la asociación MFC sin daño versus aire limpio, sugiere que la asociación maíz-frijol-calabaza no fue atractiva ni repelente, sino que genera un enmascaramiento de los

COVs de la planta de maíz evitando la detección de estos por *Ch. insularis*. Suponemos que en un caso de no elección, la asociación MFC más los olores asociados al huésped pueden tener cierto nivel de atracción al parasitoide por ello es posible la colecta de COVs. Desurmont et al. (2020) encontraron que, los insectos responden a la señal del recurso de interés y a la señal “ruido” por separado, es decir estos compuestos no “compiten” por los receptores olfativos e incluso el “ruido de fondo” puede depender de la dosis de la emisión de COVs.

Es necesario realizar más estudios para profundizar en la dinámica que siguen estos efectos en campo. Por ejemplo, bajo condiciones ambientales no controladas, Jirón-Pablo (2014) no encontró diferencias en el porcentaje de parasitismo en policultivo maíz-frijol-calabaza y monocultivo de maíz. Sin embargo, este porcentaje no se especificó para cada especie de parasitoide encontrado, *Ch. insularis* estuvo presente de manera natural en ambos cultivos, pero cuando se colocaron huevos centinelas de *S. frugiperda* solo se encontró en monocultivo. La distribución de *Ch. insularis* fue amplia en un hábitat perturbado, por ser un insecto de estrategia *r*, aun cuando su capacidad para colonizar al huésped fue menos eficiente (Miller, 1980) según este estudio *Ch. insularis* no estuvo presente cuando la densidad de su huésped era baja.

Hasta ahora, estudios en campo refieren a los policultivos como sistemas que albergan una mayor diversidad de parasitoides (Letourneau, 1987; Cruz-Cruz, 2014) y depredadores (Martínez-Martínez et al., 2016) lo que favorece la regulación de insectos plagas, por ejemplo, la asociación de plantas de maíz-frijol, y maíz-calabaza disminuyó los niveles de infestación de *S. frugiperda* (García-González et al., 2015a) pero el efecto en la población de enemigos naturales fue diferente; se establecieron de manera temprana en la asociación maíz y calabaza, en contraste con la asociación maíz y frijol donde hubo menor representatividad de insectos benéficos (García-González et al., 2015b). Nuestros resultados indican que un parasitoide generalista puede verse

afectado por la diversidad de plantas, y es relevante dentro de las estrategias de manejo de hábitat. Conocer este tipo de efectos permite tener elementos para mejorar las asociaciones de cultivo y hacerlas así más eficientes, posiblemente ayudaría en el comportamiento de búsqueda de los enemigos naturales, para controlar de manera efectiva las plagas (Gebreziher, 2018). Sin embargo, aún queda mucho camino para corroborar el beneficio neto que obtienen las plantas en la emisión de COVs (Silva et al., 2018)., no obstante, es preciso realizar otros estudios que complementen esta información, incluyendo otras variables como la experiencia del insecto, su distribución en el hábitat y colonización del huésped, el tiempo de búsqueda del huésped en un policultivo y monocultivo, la variedad de la planta, entre otras, para una mejor comprensión de los mecanismos que regulan las poblaciones de insectos.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo proporcionado a IBB durante su estudio de posgrado (CVU: 915536). Además, se le agradece al Dr. Leopoldo Cruz López (ECOSUR) por el apoyo durante la colecta y análisis de compuestos volátiles.

Referencias bibliográficas

Aartsma, Y., Bianchi, F. J. J. A., van der Werf, W., Poelman, E. H. y Dicke, M. (2017).

Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytologist*, 216, 1054–1063.

Andersson, M. N. (2012). Mechanisms of odor coding in coniferous bark beetles: from neuron to behavior and application. *Psyche*, 149572, 14.

- Avila, G. A., Withers, T. M. y Holwell, G. I. (2016). Olfactory cues used in host-habitat location and host location by the parasitoid *Cotesia urabae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 158, 202–209.
- Beyaert, I., Wäschke, N., Scholz, A., Varama, M., Reinecke, A. y Hilker, M. (2010). Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation. *Animal Behaviour*, 79, 1077-1086.
- Bruce, T. J. A., Martin, J. L., Smart, L. E. y Pickett, J. A. (2011). Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle, *Bruchus rufimanus*. *Pest Management Science*, 67, 1303-1308
- Casmuz, A., Juárez, M. L., Socías, M. G., Murúa, M. G., Prieto, S., Medina, S., Willink, E. y Gastaminza, G. (2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 69, 209-231.
- Coutiño, E. B., Vidal, M. V. A., Cruz, V. C. y Gómez, G. M. (2015). Características eloterias y de grano de variedades nativas de maíz de Chiapas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola*, 6, 1119-1127.
- Coley, P. D. y Kursar, T. A. (2001). Herbivoría, defensas vegetales y enemigos naturales en bosques tropicales. En: A. L. Anaya, F. Espinosa-García y R. Cruz-Ortega (Eds.), *Relaciones Químicas entre Organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de su Aplicación* (pp. 401-424). México: Plaza y Valdés, S. A. de C.V.

- Clavijo, S. y Pérez, G. G. (2000). Protección y sanidad vegetal. En: N. H. Fontana y N. C. González (Eds.), *El maíz en Venezuela* (pp. 345-361). Venezuela: Fundación Polar Caracas.
- Cruz-Cruz, R. (2014). *Parasitismo de Spodoptera frugiperda (Smith) en un monocultivo y policultivo de maíz en Barranca Fierro, Oaxaca*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. Torreón, Coahuila, México.
- D’Alessandro, M., Brunner, V., von Mérey, G. y Turlings, T. C. J. (2009). Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. *Journal Chemical Ecology*, 35, 999-1008.
- Desurmont, G. A., von Arx, M., Turlings, T. C. J. y Schiestl, F. P. (2020). Floral odors can interfere with the foraging behavior of parasitoids searching for hosts. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8, 148.
- Fernández-Suárez, R. F., Morales-Chávez, L. A. y Gálvez-Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36, 275-283.
- Finch, S. y Collier, R. H. (2000). Host-plant selection by insects-a theory based on “appropriate/inappropriate landings” by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 96, 91-102.
- García-González, M. T., Rojas-Rojas, J. A. y Castellanos-González, L. (2015a). Empleo de policultivos para el manejo de plagas en el maíz. *Fitosanidad*, 19, 85-87
- García-González, M. T., Castellanos-González, L., Rojas-Rojas, J. A., Grillo-Ravelo, H., Fernández-Cancio, Y. y Vera-Águila, Y. W. (2015b). Biología y enemigos naturales de

Peregrinus maidis (Ashmead) en el maíz (*Zea mays* L.) en sistemas de policultivos.

Centro Agrícola, 42, 17-24.

Gebreziher, H. (2018). The role of herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) as indirect plant defense mechanism in a diverse plant and herbivore species; a review. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 2, 139–147.

Gols, R., Bukovinszky, T., Hemerik, L., Harvey, J. A., Van Lenteren, J. C. y Vet, L. E. M. (2005). Reduced foraging efficiency of parasitoid under habitat complexity: implications for population stability and species coexistence. *Journal of Animal Ecology*, 74, 1059-1068

Gohole, L. S., Overholt, W. A., Khan, Z. R. y Vet, L. E. M. (2003). Role of volatiles emitted by host and non-host plants in the foraging behaviour of *Dentichasmias busseolae*, a pupal parasitoid of the spotted stemborer *Chilo partellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 107, 1–9.

Guera, O. G. M., Castrejón-Ayala, F., Robledo, N., Jiménez-Pérez, A. y Sánchez-Rivera, G. (2020). Plant selection for the establishment of push-pull strategies for *Zea mays*–*Spodoptera frugiperda* pathosystem in Morelos, Mexico. *Insects* 6, 349.

Isono, K., Kuramitsu, K. y Kainoh, Y. (2020). Deterrent effects of intact plants on host-searching behavior of parasitoid wasps. *Applied Entomology and Zoology* 55, 199–204.

Jirón-Pablo, E. (2014). *Enemigos naturales de Spodoptera frugiperda* (Smith) monocultivo y policultivo de maíz en Reyes Mantecón, Oaxaca. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-unidad Oaxaca. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México.

- Kigathi, N. R., Weisser, W. W., Reichelt, M., Gershenzon, J. y Unsicker, U. S. (2019). Plant volatile emission depends on the species composition of the neighboring plant community. *BMC Plant Biology*, *19*, 2-17
- Ku-Pech, E. M. (2019). *La diversidad de maíz, frijol y calabaza en la milpa maya de Xoy, Peto, Yucatán*. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY). Mérida, Yucatán, México.
- Khan, Z. R., Midega, C. A. O., Bruce, T. J. A., Hooper, A. M. y Pickett, J. A. (2010). Exploiting phytochemicals for developing a ‘push-pull’ crop protection strategy for cereal farmers in Africa. *Journal of Experimental Botany*, *61*, 4185-4196
- Leslie, W. A., Hamby, K. A., McCluen, S. R. y Hooks, C. R. R. (2020). Evaluating a push-pull tactic for management of *Epilachna varivestis* Mulsant and enhancement of beneficial arthropods in *Phaseolus lunatus* L. *Ecological Engineering*, *147*, 105660.
- Letourneau, D. K. (1987). The enemies hypothesis: tritrophic interactions and vegetational diversity in tropical agroecosystems. *Ecology*, *68*, 1616–22.
- Martínez-Martínez, L., Colon-García, E. M., García-García, M. A., Jarquín-López, R. y Sánchez-García, J. A. (2016). Riqueza de especies y gremios de arañas (Chelicerata: Araneae) en mono y policultivos de maíz, en Reyes Mantecón, Oaxaca. *Entomología Mexicana*, *3*, 64-69.
- Mithöfer, A. y Boland, W. (2012). Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, *63*, 431-450.

- Midega, C. A. O., Pittchara, J. O., Pickett, J. A., Hailua, G. W. y Khan, Z. R. (2018). A climate-adapted push-pull system effectively controls fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), in maize in East Africa. *Journal Crop Protection*, 105, 10-15.
- Miller, J. C. (1980.) Niche relationships among parasitic insects occurring in a temporary habitat. *Ecology*, 61, 270-275.
- Mumm, R. y Hilker, M. (2005). The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs. *Chemical Senses*, 30, 337-343.
- Negrete, B. y Morales, A. (2003). El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith). *CORPOICA*, 7.
- Ode, P. J. (2006). Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review Entomology*, 51, 163-185.
- Ortíz-Carreón, F. R. (2015). *Respuesta de Chelonus insularis Cresson (Hymenoptera: Braconidae) a volátiles de plantas de maíz (Zea mays L.)*. Tesis de licenciatura no publicada. Instituto Tecnológico de Tapachula Chiapas.
- Ortíz-Carreón, F. R., Rojas, J. C., Cisneros J. y Malo, E. A. (2019). Herbivore-induced volátiles from maize plants attract *Chelonus insularis*, an egg-larval parasitoid of the fall armyworm. *Journal Chemical Ecology*, 43, 326-33.
- Perfecto, I. y Vet, L. E. M. (2003). Effect of a nonhost plant on the location behavior of two parasitoids: the tritrophic system of *Cotesia* spp. (Hymenoptera: Braconidae), *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae), and *Brassica oleracea*. *Environmental Entomology*, 32, 163-174.

- Randlkofer, B., Obermaier, E., Hilker, M. y Meiners, T. (2010). Vegetation complexity: that influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic and Applied Ecology*, 11, 383–395.
- Rodríguez-Amaya, R., Montes-Hernández, S., Rangel-Lucio, J. A., Mendoza-Elos, M. y Latouynere-Moreno, L. (2009). Caracterización morfológica de la calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber). *Agricultura Técnica México*, 35, 378-388.
- Roque-Romero, L., Cisneros, J., Rojas, J. C., Ortíz-Carreón, F. R. y Malo, E. A. (2020). Atraction of *Chelonus insularis* to volatile host and habitat, during the search for eggs of *Spodoptera frugiperda*. *Biological Control*, 140, 1-7.
- Rojas, J. C., Virgen, A. y Cruz-López, L. (2003). Chemical and tactile influencing oviposition of a generalist moth, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 32, 1386-1392.
- Rojas, J. C., Virgen, A. y Malo, E. A. (2004). Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of Chiapas, México. *Florida Entomologist*, 87, 496-503.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org>
- Silva, R.F., Rabeschini, G.B.P., Peinado, G.L.R., Cosmo, L.G., Rezende, L.H.G, Murayama, R.K. y Pareja, M. (2018). The ecology of plant chemistry and multi-species interactions in diversified agroecosystems. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1713.

- Schröder, R. y Hilker, M. (2008). The relevance of background odor in resource location by insects: a behavioral approach. *Bioscience*, 58, 308-316.
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. y Greenstone, M. H. (2002). Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review Entomology*, 47, 561-94
- Turlings, T. C. J. y Wäckers, F. (2004). Recruitment of predators and parasitoids by plants damaged by herbivores. In: R. T. Cardé y J. G. Millar (Eds.), *Advances in Chemical Ecology of Insects* (pp. 21-76). Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Thiery, D. y Visser, J. H. (1986). Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 41, 165-172.
- Vet, L. E. M. y Dicke, M. (1992). Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review Entomology*, 37, 141-172
- Vucetic, A., Dahlin, I., Petrovic-Obradovic, O., Glinwood, R., Webster, B. y Ninkovic, V. (2014). Volatile interaction between undamaged plants affects tritrophic interactions through changed plant volatile emission. *Plant Signaling & Behavior*, 9, 1-5.
- Wäschke, N., Hardge, K., Hancock, C., Hilker, M., Obermaier, E. y Meiners T. (2014). Habitats as complex odour environments: how does plant diversity affect herbivore and parasitoid orientation? *Plos One* 9, 1-10.
- Wilson, J. K., Kessler, A. y Woods, H. A. (2015). Noisy communication via airborne infochemicals. *Bioscience*, 65, 667-677.

Zhang, X. M., Lövei, G. L., Ferrante, M., Yanga, N. W. y Wana, F. H. (2020). The potential of trap and barrier cropping to decrease densities of the whitefly *Bemisia tabaci* MED on cotton in China. *Pest Management Science*, 76, 366-374.

Figura 1. Respuesta de atracción de hembras de *Ch. insularis* a compuestos volátiles de MFC = asociación maíz-frijol-calabaza; MFC + H = asociación maíz-frijol-calabaza dañada por herbivoría; MMM + H = asociación de plantas de maíz dañada por herbivoría; MMM = asociación de plantas de maíz sin daño.