

Estudios analíticos y comportamentales de compuestos activos sobre *C. undatus* y *C. florentinus*



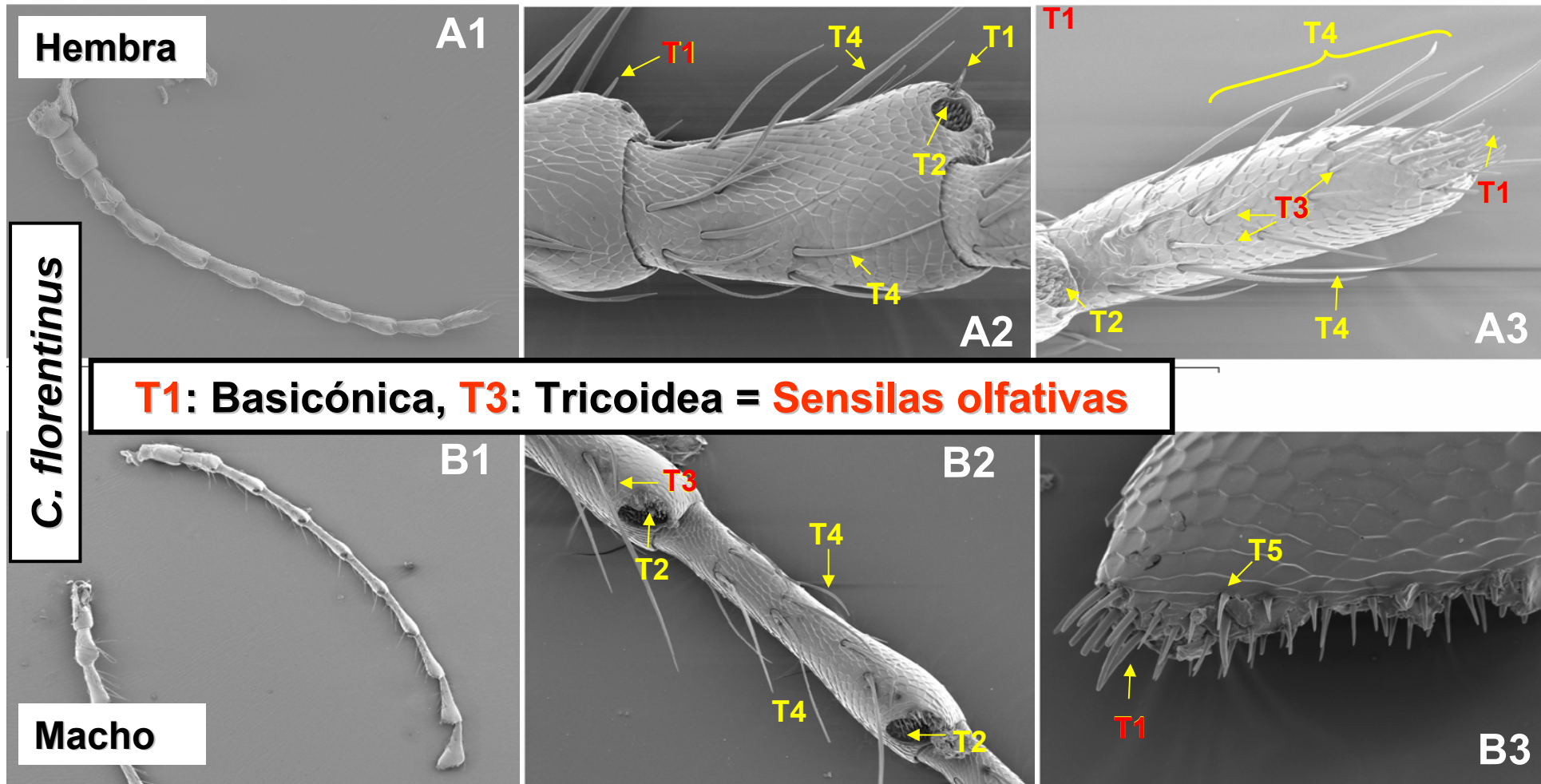
Unidad de Ecología Química
Dept. Química Biológica y Modalización Molecular
IQAC-CSIC

Jornadas COROEBUS 2009 (Gerona)

Control biorracional de *C. undatus*

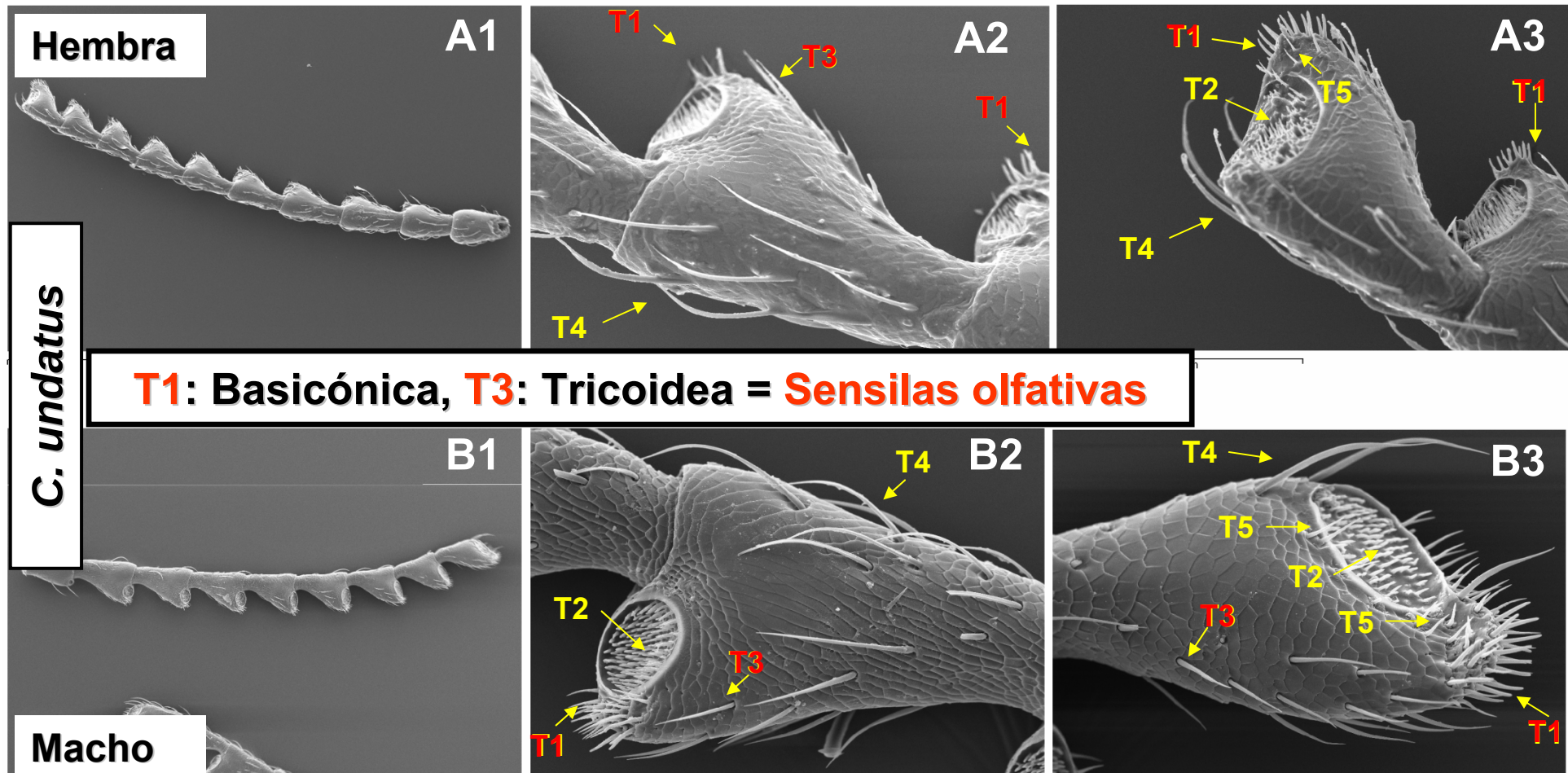
- Investigación dirigida a la detección y caracterización estructural de una feromona sexual, de contacto o de agregación de *C. florentinus* (por su disponibilidad)
- Aplicar conocimientos obtenidos (p.e. feromonas identificadas) posteriormente a la plaga de *Q. suber*: *C. Undatus* (si se dispone de insectos vivos!)
- Utilizar la feromona como herramienta ecológica específica para controlar la plaga

Percepción de feromonas (Antenas)



La presencia de **sensilas olfativas** permite la percepción de feromonas

Percepción de feromonas (Antenas)



T1: Basicónica, T3: Tricoidea = Sensilas olfativas

Las sensilas identificadas son idénticas en las dos especies

Posibles fuentes de feromonas en coleópteros

- **Abdomen** de machos y hembras
- **Heces** de ambos sexos
- **Volátiles** emitidos por adultos vivos
- **Cuerpo entero** de ambos sexos

Campaña **2007**

Campaña **2007+08**

=> Preparar extractos: Análisis y aplicación en bioensayos para encontrar compuestos activos

- **Emergencia de adultos**
- Recogida de volátiles y extracto de cuerpo
- Análisis de atrayentes comerciales
- Bioensayo de atracción
- Actividad electrofisiológica
- Plan para 2009

Emergencia de adultos



C. florentinus

T nevera [semanas]	Nº ramas	Adultos emergidos	Machos	Hembras	% adultos/ramas	Orígen
0	305	122	60	62	40	Catalunya
0	102	74	/	/	73	Madrid
0	105	29	/	/	28	Castilló
4	59	28	16	12	47	Catalunya
5	260	101	53	48	39	"
6	46	5	4	1	11	"
7	34	17	7	10	50	"
911		376	140	133	41	

**Insectos disponibles en la
campaña 2008**

Recogida de volátiles

i) *Dynamic Headspace Method*



- 15 individuos en matraz ovalado (24 h)
- Flujo de aire purificado: 370 mL/min
- Filtro (adsorbente): Porapak Q
- Extracción del filtro: 2 mL hexano
- Análisis en CG-EM

Campaña 2008

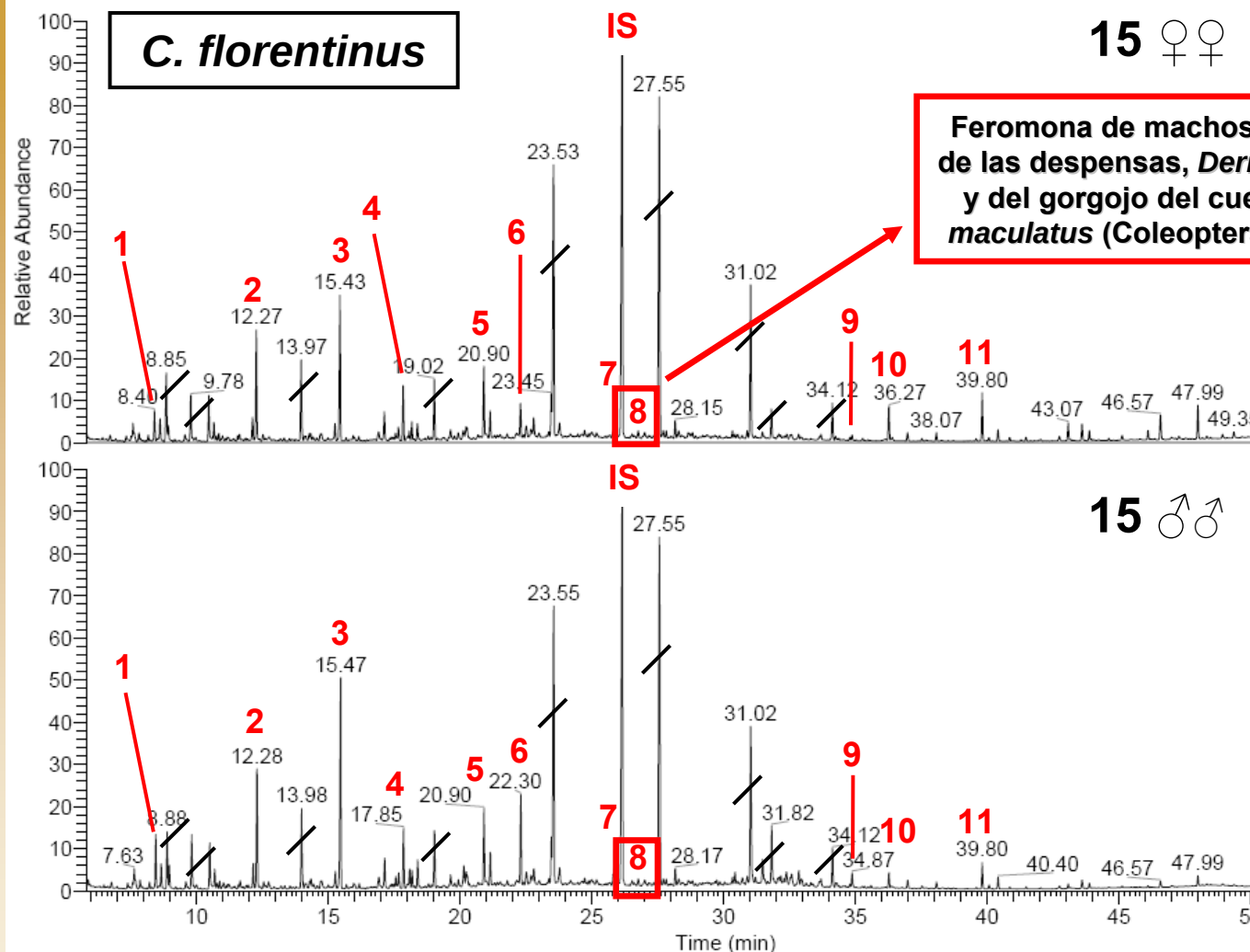
ii) Microextracción en fase sólida (SPME)



- 5 individuos en vial (20 h)
- Extracción por sílice activada
- Inyectar en CG-EM para análisis

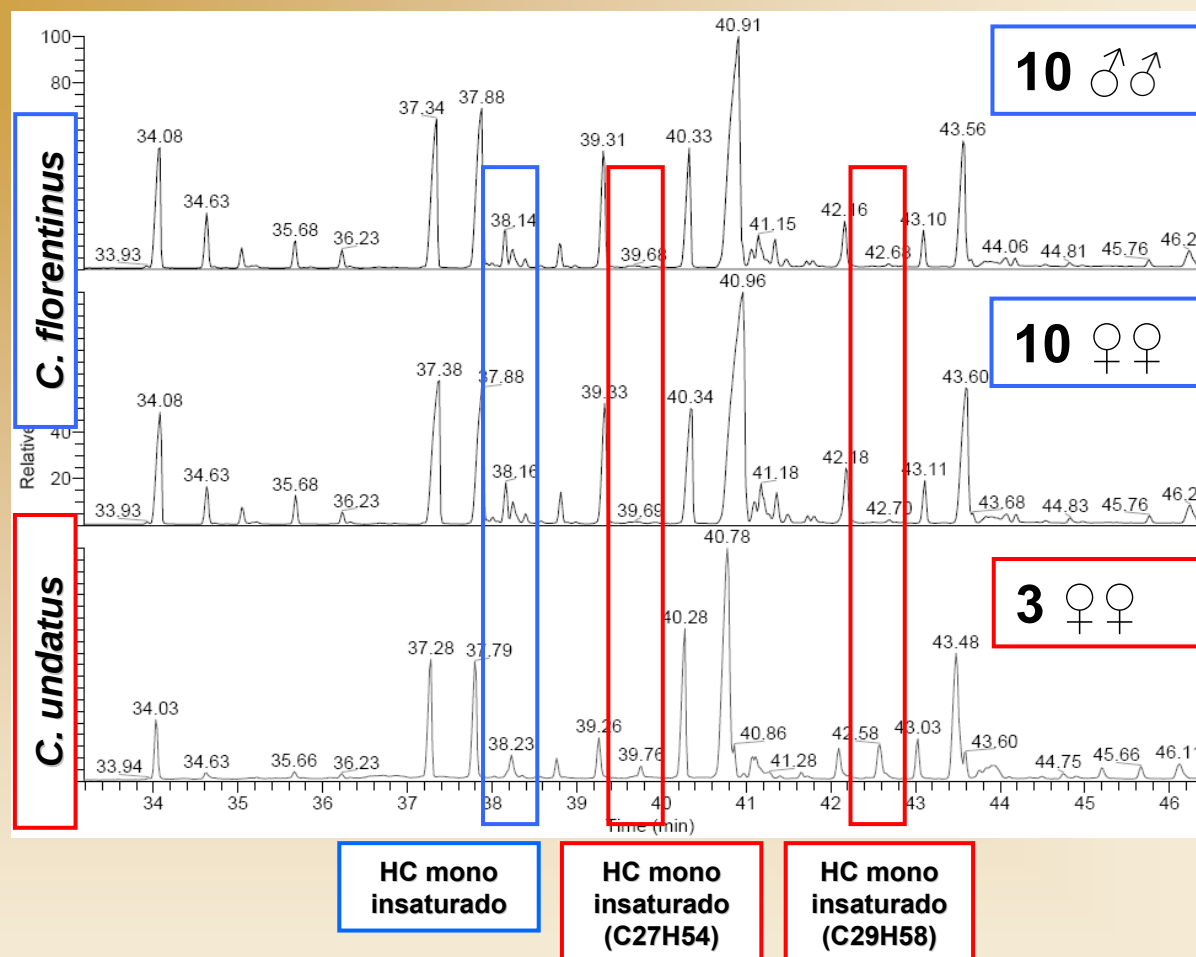
Campaña 2007+08

Recogida de volátiles (*Dynamic Headspace*)



- Se han identificado **11 compuestos**
- Varios con **actividad feromonal** en otros grupos de insectos: Nonanal (**2**), Decanal (**3**), 6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one (Geranylacetone) (**6**), BF01 (**8**), Hidrocarburos (**5, 7, 10**)
- Ligeras diferencias cuantitativas entre machos y hembras (**no significativas**)

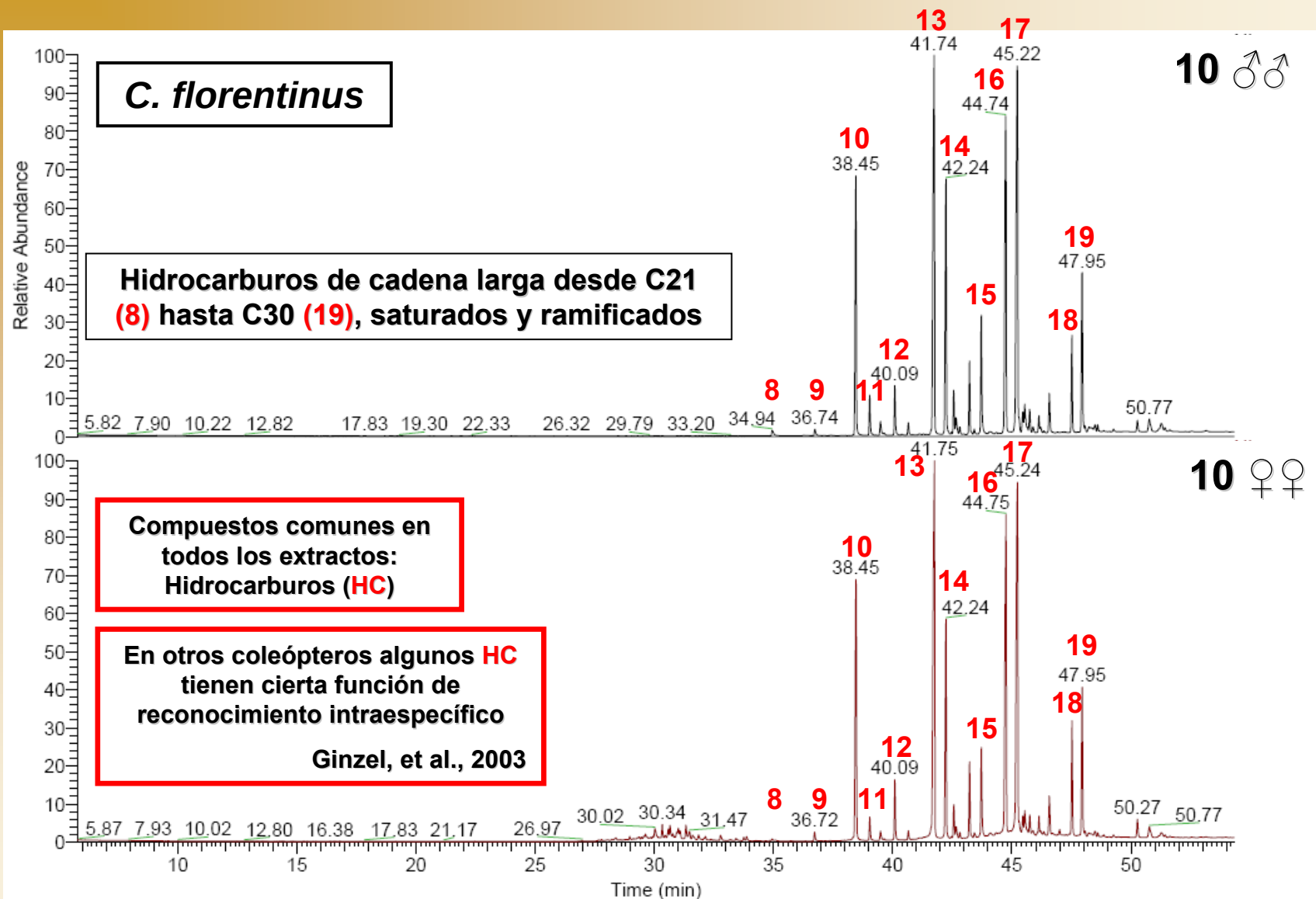
Recogida de volátiles (*SPME*)



Mayoría de compuestos: hidrocarburos de cadena larga desde C₂₃ (rt 34.08) hasta posiblemente C₃₀, saturados, ramificados y monoinsaturados.

=> **Composición de volátiles de las dos especies es casi la misma.**

Extracto (Cuerpo entero)



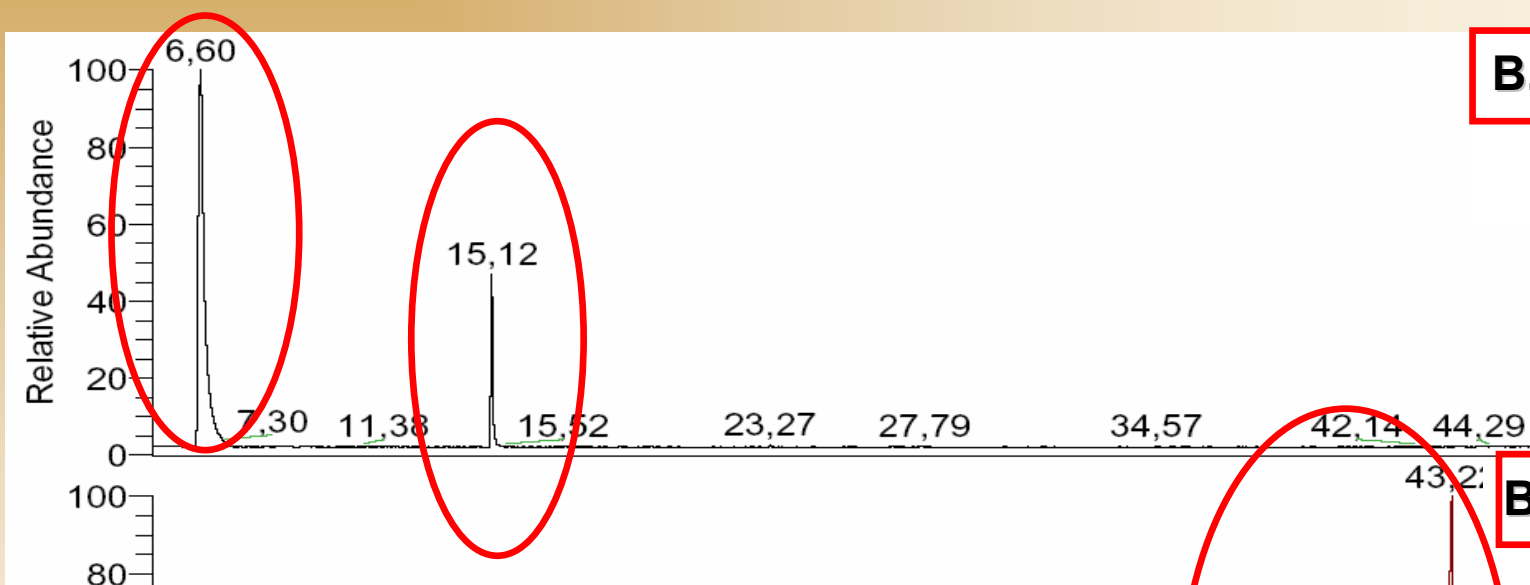
Atrayentes comerciales (Bolsa negra y blanca)



Bolsa negra:

2 compuestos identificados = α/β -pineno & verbenona
(volátiles de varios arboles y atrayentes de numerosos insectos)

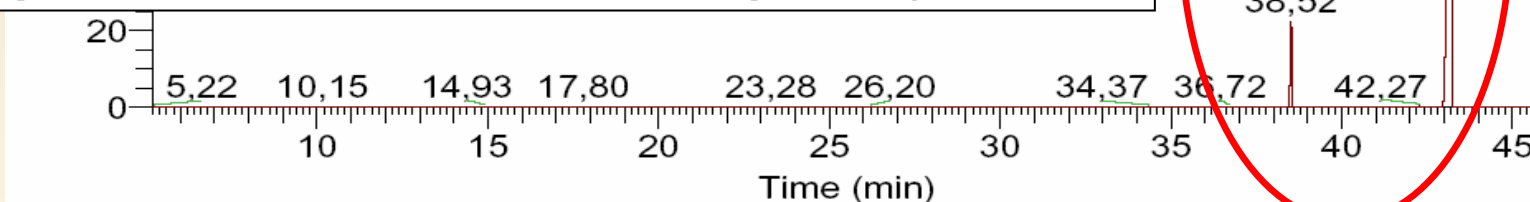
2007



B. negra

Bolsa blanca:

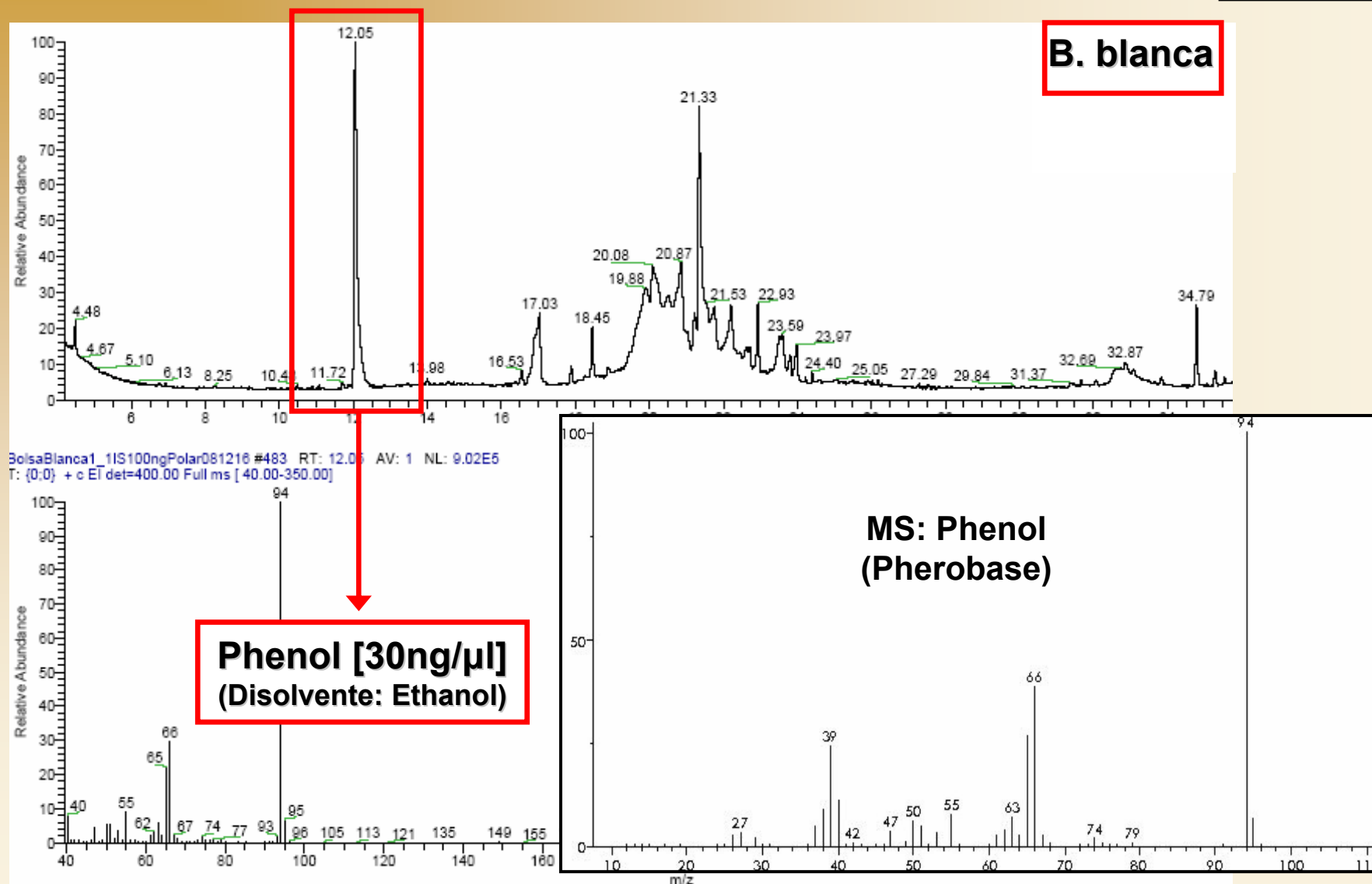
2 compuestos identificados = Impurezas
(Compuestos comerciales se han evaporado)



B. blanca

Atrayentes comerciales (Bolsa blanca)

2008



Atrayentes comerciales (Bolsa blanca)



Actividad Phenol + (Z)-3-hexenol = Atrayente de Scarabaeidae

Phenol – Another Cockchafer Attractant Shared by *Melolontha hippocastani* Fabr. and *M. melolontha* L.

Joachim Ruther^{a*}, Andreas Reinecke^a, Till Tolasch^b, and Monika Hilker^a

^a Institut für Biologie, Freie Universität Berlin, Haderslebener Str. 9, D-12163 Berlin, Germany. E-mail: ruther@zedat.fu-berlin.de

^b Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6, D-20146 Hamburg

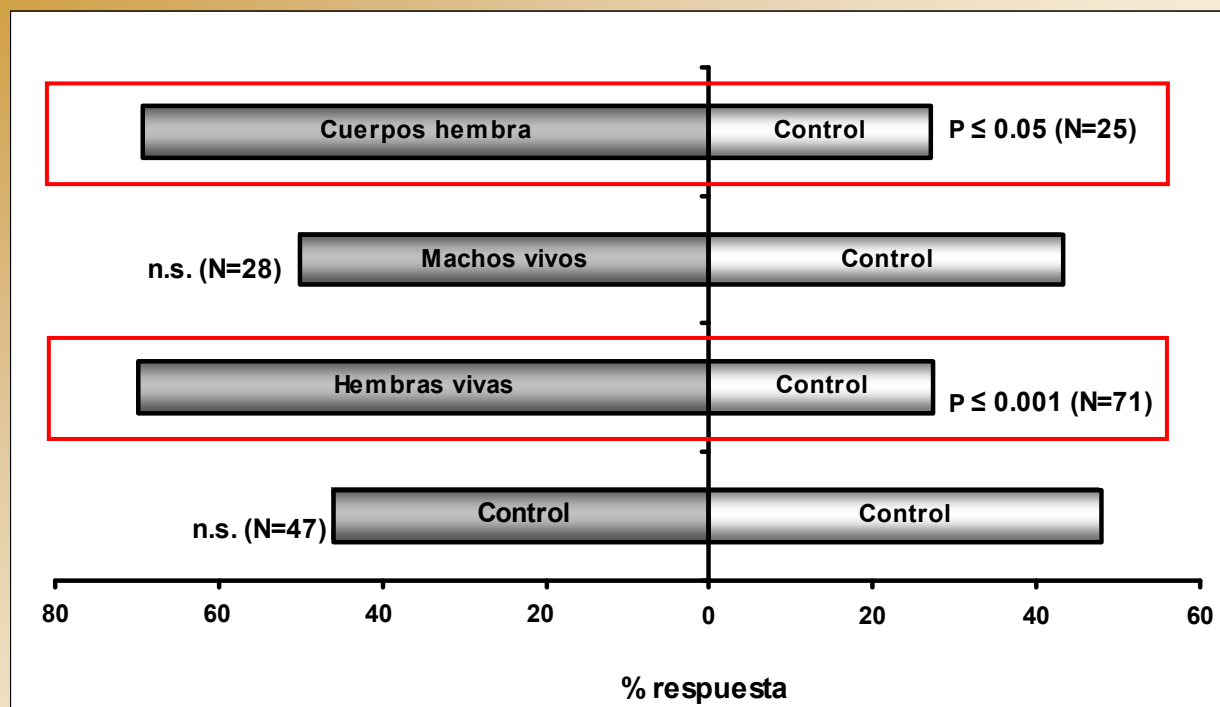
* Author for correspondence and reprint requests

Z. Naturforsch. **57c**, 910–913 (2002); received June 18, 2002

Phenol, Attractant, *Melolontha* sp., Scarabaeidae

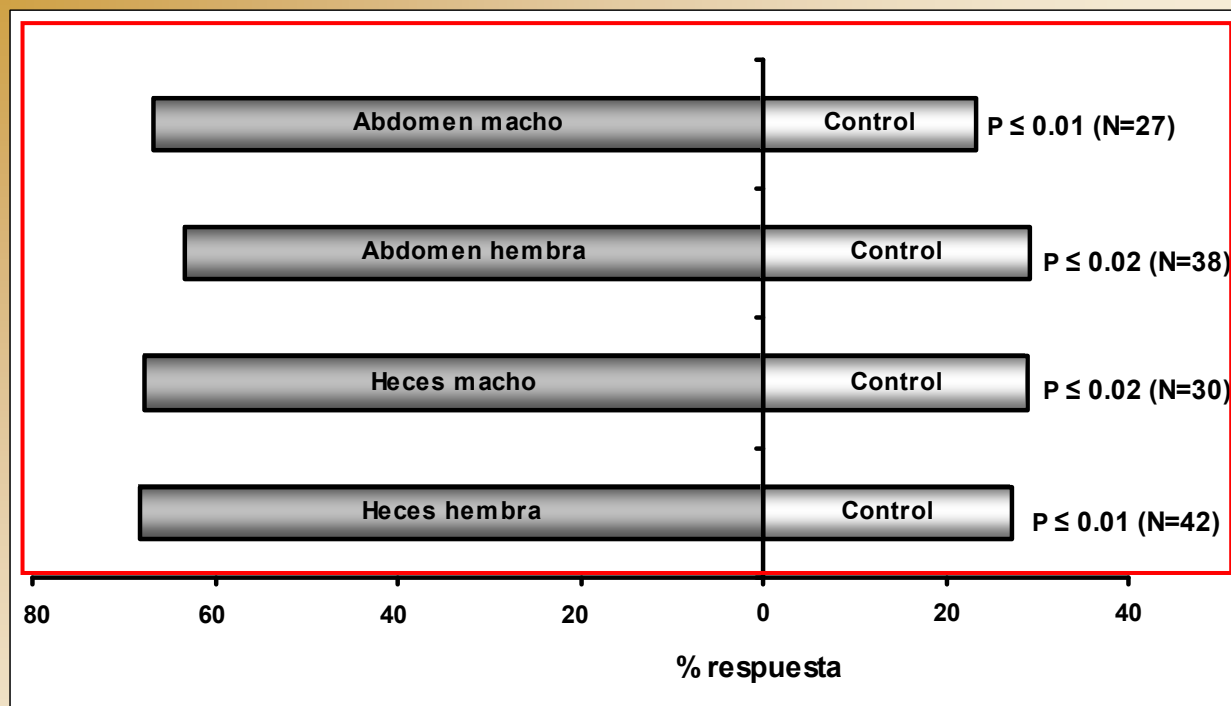
The response of the two most abundant cockchafer species in central Europe, *Melolontha hippocastani* and *M. melolontha*, towards phenol, mixtures of phenol with the leaf alcohol (Z)-3-hexen-1-ol and the known cockchafer pheromones, 1,4-benzoquinone (*M. hippocastani*) and toluquinone (*M. melolontha*), was investigated in the field. During the swarming period at dusk, phenol attracted males of both species, and enhanced the known attraction of cockchafer males towards (Z)-3-hexen-1-ol. A mixture of phenol plus (Z)-3-hexen-1-ol was less attractive for *M. hippocastani* males than a mixture of (Z)-3-hexen-1-ol plus 1,4-benzoquinone, whereas phenol plus (Z)-3-hexen-1-ol attracted as many *M. melolontha* males as a mixture of (Z)-3-hexen-1-ol plus toluquinone. In both species three component mixtures containing phenol, (Z)-3-hexen-1-ol, and the respective benzoquinone did not capture more males than two component mixtures consisting of only (Z)-3-hexen-1-ol and the benzoquinone. A possible role of phenol as another cockchafer sex pheromone component is discussed.

Bioensayo de atracción (Machos)



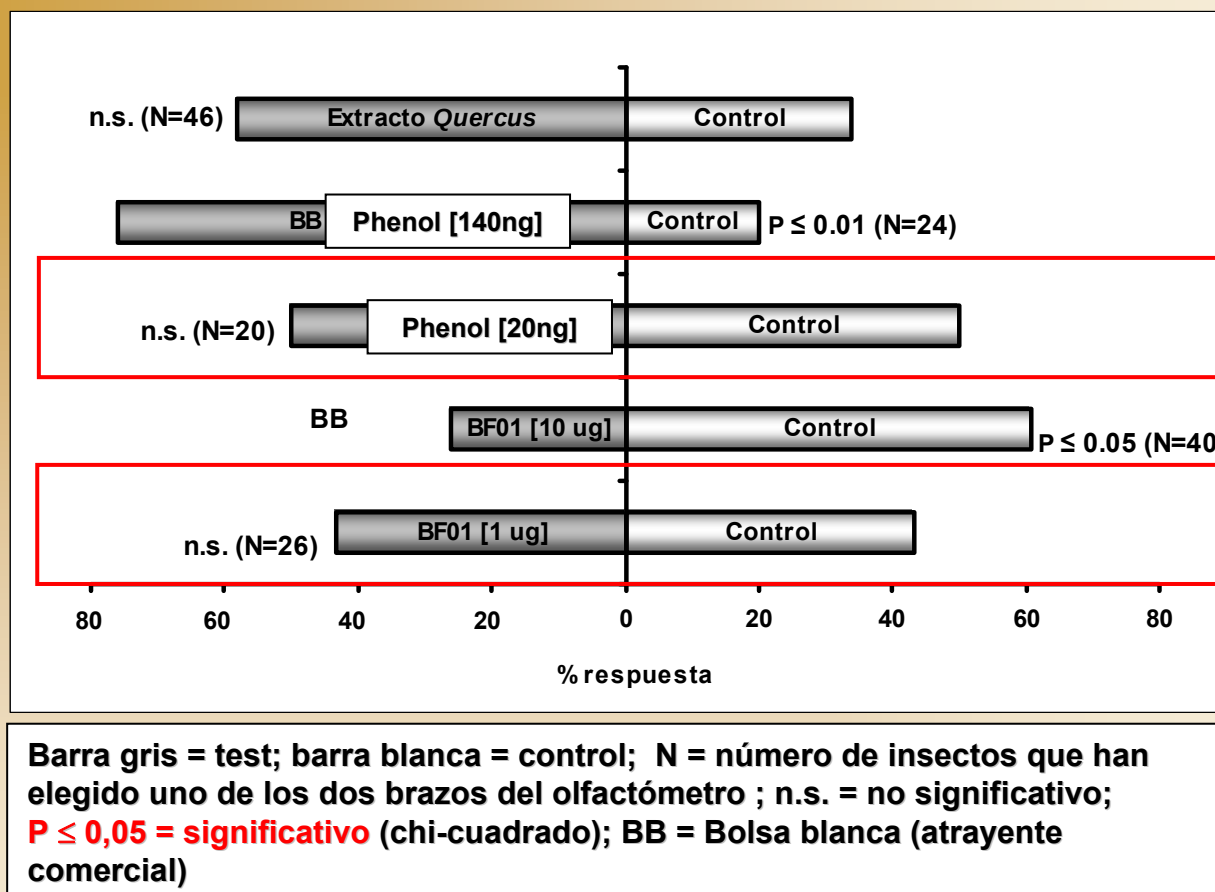
Barra gris = test; barra blanca = control; N = número de insectos que han elegido uno de los dos brazos del olfactómetro ; n.s. = no significativo;
 $P \leq 0,05$ = **significativo** (chi-cuadrado)

Bioensayo de atracción (Machos)



Barra gris = test; barra blanca = control; N = número de insectos que han elegido uno de los dos brazos del olfactómetro ; n.s. = no significativo;
 $P \leq 0,05$ = significativo (chi-cuadrado)

Bioensayo de atracción (Machos)

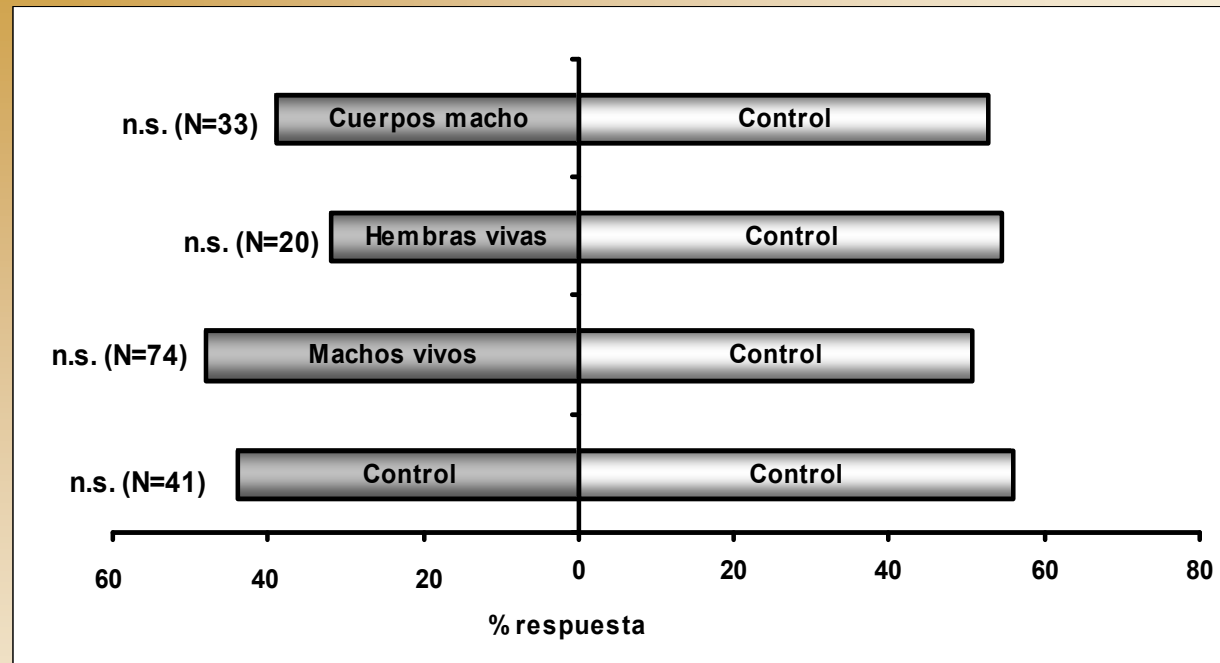


Resumen de la actividad biológica de los diferentes extractos

Atracción de **machos** hacia:

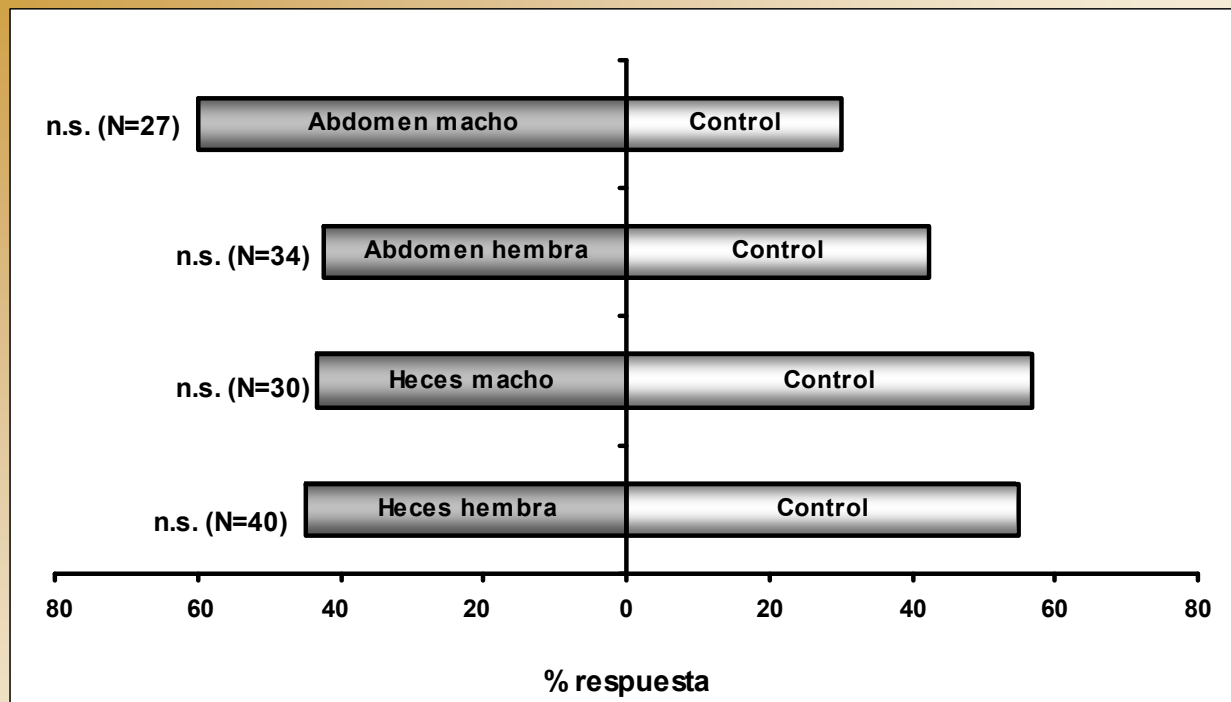
- Volátiles hembras
- Cuerpo hembras
- Heces y abdomen de machos y hembras
- Phenol [140 ng]

Bioensayo de atracción (Hembras)



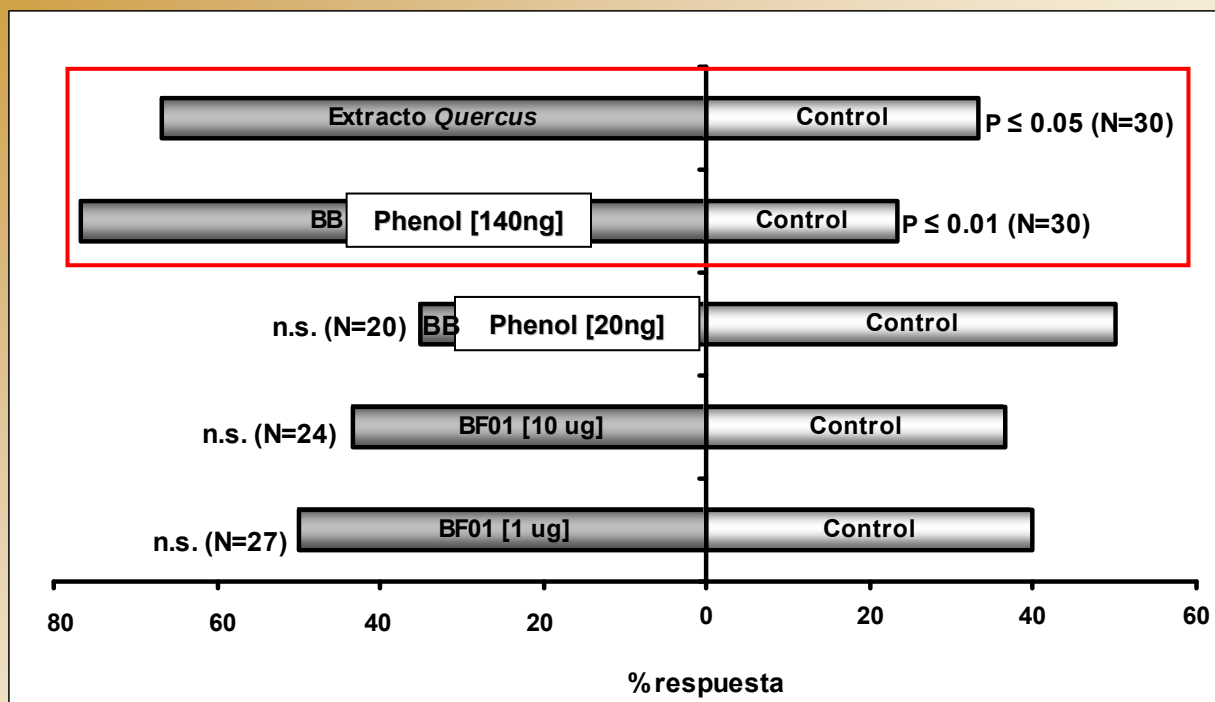
Barra gris = test; barra blanca = control; N = número de insectos que han elegido uno de los dos brazos del olfactómetro ; n.s. = no significativo;
 $P \leq 0,05$ = significativo (chi-cuadrado)

Bioensayo de atracción (Hembras)



Barra gris = test; barra blanca = control; N = número de insectos que han elegido uno de los dos brazos del olfactómetro ; n.s. = no significativo;
 $P \leq 0,05$ = significativo (chi-cuadrado)

Bioensayo de atracción (Hembras)



Barra gris = test; barra blanca = control; N = número de insectos que han elegido uno de los dos brazos del olfactómetro ; n.s. = no significativo; $P \leq 0,05$ = **significativo** (chi-cuadrado); BB = Bolsa blanca (atrayente comercial)

Resumen de la actividad biológica de los diferentes extractos

Atracción de **hembras** hacia:

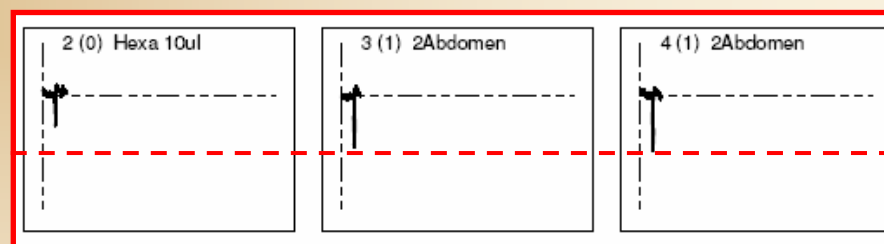
- Extracto de planta huésped *Q. suber*
- Phenol [140 ng]

Actividad electrofisiológica (EAG)

Las respuestas electrofisiológicas de antenas de machos y hembras de *C. florentinus* hacia diferentes extractos o compuestos se evalúa en electroantenograma (**EAG**) y cromatografía de gases con detector electroantenográfico (GC-EAD)

Estímulo

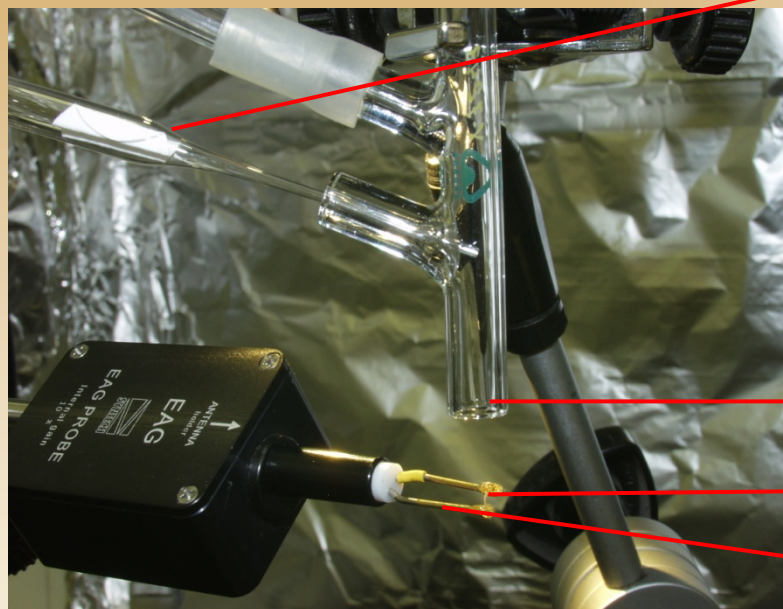
Ejemplo registro (Despolarización)



Salida del flujo de aire

Antena

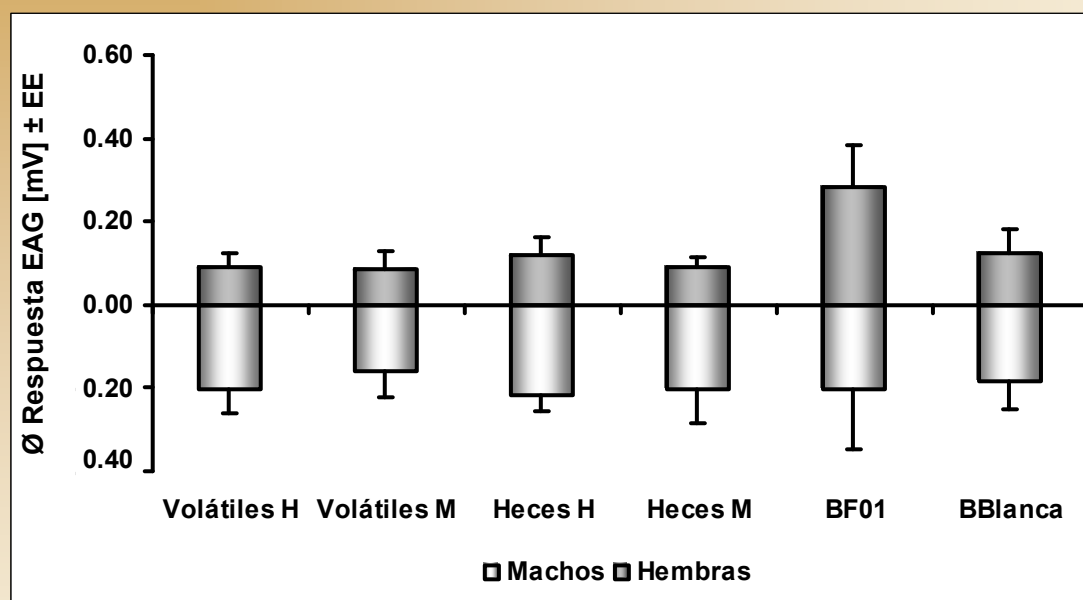
Electrodo conectado con ordenador



Actividad electrofisiológica (EAG)



Las respuestas electrofisiológicas de antenas de machos y hembras de *C. florentinus* hacia diferentes extractos o compuestos se evalúa en electroantenograma (**EAG**) y cromatografía de gases con detector electroantenográfico (GC-EAD)

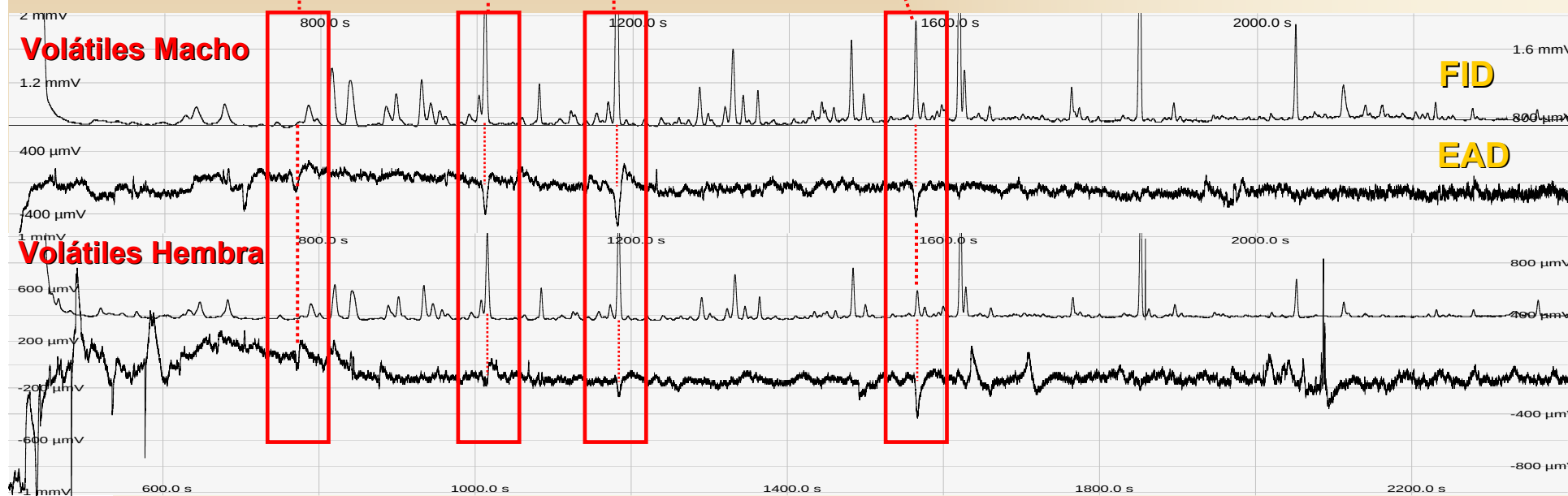
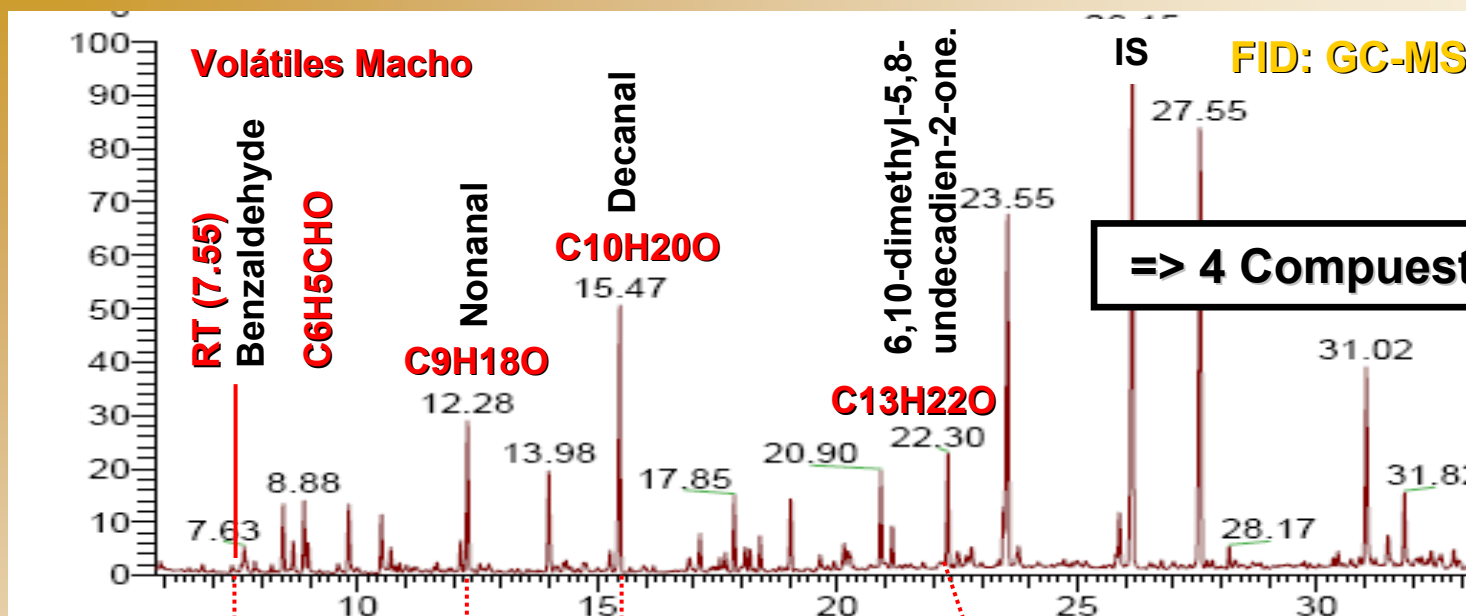


[H] Hembras;
[M] Machos;
[BBlanca]
Atrayente
comercial

Promedio de respuesta en EAG de 12 antenas de 7 hembras y 11 antenas de 7 machos de *C. florentinus* frente a diferentes extractos. Las barras representan el error estándar (EE).

Las antenas de **machos** responden más que las de hembras frente a diferentes estímulos en EAG. Mayor respuesta hacia **volátiles de hembras** y **heces** de ambos sexos (aunque no significativo).

Actividad electrofisiológica (GC-EAD)



Actividad electrofisiológica (GC-EAD)



J Chem Ecol (2008) 34:708–718
DOI 10.1007/s10886-008-9446-y

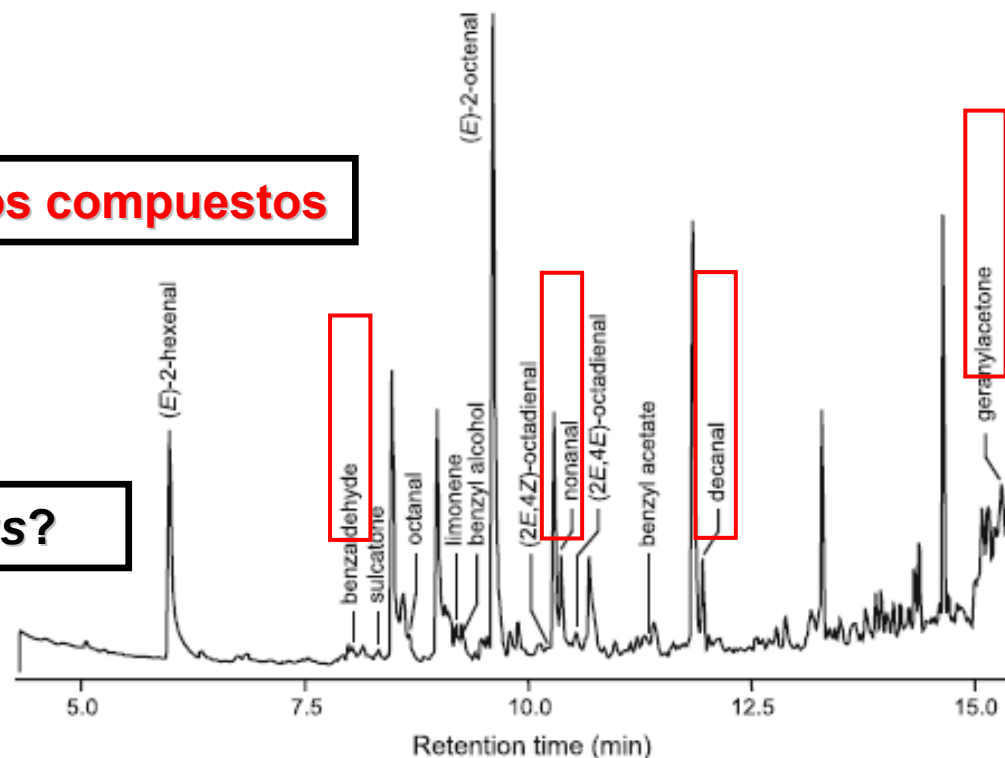
Identification of the Airborne Aggregation Pheromone of the Common Bed Bug, *Cimex lectularius*

Eric Siljander • Regine Gries • Grigori Khaskin •
Gerhard Gries

Fig. 2 Representative gas chromatogram of Porapak Q *Cimex lectularius* jar aeration extract. Chromatography: Varian Saturn 2000 Ion Trap GC-MS fitted with a DB-5 column (30 m×0.25 mm I). Temperature program: 50° (2 min), 10°C per min to 280°C

Mismos compuestos

¿Efecto sobre *C. florentinus*?



Plan para 2009 (*C. florentinus*)



- **Confirmar resultados obtenidos en 2008**
 - Actividad de extracto de *Quercus* sobre machos
- **Comprobar actividad de compuestos encontrados (p.e. aldehidos, geranylacetona, phenol)**
 - Bioensayos de comportamiento (Olfactómetro)
 - Electrofisiología (EAG y GC-EAD)
- **Pruebas de campo con compuestos activos**

Plan para 2009 (*C. undatus*)



- **Conseguir adultos vivos**
 - Por cría artificial (I. Sanchez, Universidad de Huelva)
 - Por capturas
- **Hacer bioensayos de comportamiento y pruebas electrofisiológicas de manera análoga a los realizados con *C. florentinus*.**