



# Efecto de la infestación del escarabajo descortezador de pinos mediante la determinación de compuestos orgánicos volátiles en Área de Protección Flora y Fauna Sierra de Quila (APFFSQ), Jalisco, México

Teresa de la Cruz García Hernández<sup>1</sup>, Antonio Rodríguez Rivas<sup>1,\*</sup>, Héctor Jesús Contreras Quiñones<sup>1</sup>, Jesús Angel Andrade Ortega<sup>1</sup>, Sara Gabriela Díaz Ramos<sup>1</sup>, Gloria Iñiguez Herrera<sup>2</sup>, Celso Velásquez Ordoñez<sup>3</sup>

(1) Departamento de Madera, Celulosa y Papel "Ing. Karl Augustin Grellmann", Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara. Carretera Guadalajara-Nogales Km. 15.5, Las Agujas, 45200 Zapopan, Jalisco, México.

(2) Fideicomiso de Programa de Desarrollo Forestal del Estado de Jalisco, Fitosanidad Forestal, Bruselas # 626, Colonia Moderna, 44190 Guadalajara, Jalisco, México.

(3) Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Centro Universitario de los Valles, Universidad de Guadalajara, Carretera a Guadalajara Km. 45.5, 46600, Ameca, Jalisco, México.

\* Autor de correspondencia: Antonio Rodríguez [[antonio.rivas@academicos.udg.mx](mailto:antonio.rivas@academicos.udg.mx)]

> Recibido el 30 de marzo de 2022 - Aceptado el 09 de septiembre de 2022

**Como citar:** García Hernández, T. de la C., Rodríguez Rivas, A., Contreras Quiñonez, H.J., Andrade Ortega, J. A., Díaz Ramos, S.G., Iñiguez Herrera, G., Velásquez Ordoñez, C. 2022. Efecto de la infestación del escarabajo descortezador de pinos mediante la determinación de compuestos orgánicos volátiles en Área de Protección Flora y Fauna Sierra de Quila (APFFSQ), Jalisco, México. *Ecosistemas* 31(3): 2369. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2369>

## Efecto de la infestación del escarabajo descortezador de pinos mediante la determinación de compuestos orgánicos volátiles en Área de Protección Flora y Fauna Sierra de Quila (APFFSQ), Jalisco, México

**Resumen:** Se realizó la determinación de compuestos orgánicos volátiles en dos especies de pinos, con diferentes fases de infestación por escarabajos descortezadores de los géneros *Dendroctonus* e *Ips*, en el Área Natural Protegida Sierra de Quila, Jalisco, ubicada al Occidente de México. En 2016 se colectaron acículas de *Pinus douglasiana* y *Pinus oocarpa*, en fase 1, 2 y 3 de infestación, así como de árboles sanos; con dicho material se llevaron a cabo extracciones con agitación constante en frío. Los extractos obtenidos se analizaron mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), identificando alrededor de 15 compuestos para árboles sanos. Estos metabolitos secundarios fueron en su mayoría monoterpenos como  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, limoneno y 3-careno; solo estuvieron presentes dos sesquiterpenos en común ( $\beta$ -copaeno y cariofileno). En los extractos de los pinos infestados se incrementaron los sesquiterpenos y sus derivados a 10 compuestos, entre ellos  $\delta$ -cadineno, longifoleno,  $\gamma$ -cadineno  $\gamma$ -muuroleño, 8-hidroxi-endo-cicloisolongifoleno y  $\alpha$ -cadinol. Nuestro estudio muestra como la composición química de los compuestos orgánicos volátiles de los pinos atacados por los escarabajos descortezadores se incrementó y fue más variada. Estos resultados tienen una gran aplicabilidad, ya que pueden ser de utilidad para el establecimiento de un manejo integrado de plagas forestales.

**Palabras clave:** compuestos orgánicos volátiles; cromatografía de gases acoplada a masas (CG-EM), descortezadores; *Pinus douglasiana*; *Pinus oocarpa*; terpenos

## Effect of pine bark beetle infestation by determining volatile organic compounds in the Sierra de Quila Flora and Fauna Protection Area (APFFSQ), Jalisco, Mexico

**Abstract:** Volatile organic compounds were determined in two species of pines, with different phases of infestation by debarking beetles of genera *Dendroctonus* and *Ips*, in the Sierra de Quila Natural Protected Area, Jalisco, located in western Mexico. In 2016, needles of *Pinus douglasiana* and *Pinus oocarpa* were collected, in phase 1, 2 and 3 of infestation, as well as from healthy trees; with this material, extractions were carried out with constant cold agitation. The extracts obtained were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), identifying about 15 compounds for healthy trees. These secondary metabolites were mostly monoterpenes such as  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene, limonene, and 3-carene; only two sesquiterpenes in common ( $\beta$ -copaene and caryophyllene) were present. In the extracts of infested pines, sesquiterpenes and their derivatives were increased to 10 compounds, including  $\delta$ -cadinene, longifolene,  $\gamma$ -cadinene,  $\gamma$ -muurolene, 8-hydroxy-endo-cycloisolongifolene, and  $\alpha$ -cadinol. Our study shows how chemical composition of volatile organic compounds in pine trees attacked by debarking beetles increased and was more varied. These results have a great applicability since they can be useful for the establishment of an integrated management of forest pests.

**Keywords:** volatile organic compounds; Gas Chromatography-Mass (GC-MS); Bark beetle; *Pinus douglasiana*; *Pinus oocarpa*; terpenes

## Introducción

En los bosques templados de México, las especies del género *Pinus* son uno de los componentes vegetales más importantes debido a su abundancia, y están presentes en el 75% de la superficie del país. Representan además un recurso forestal de gran valor, debido a los servicios ambientales que ofrecen y a que son fuente de productos como madera, celulosa, resina, carbón vegetal, etc. (López y Flores 2020). México cuenta con 49 de las aproximadamente 120 especies de pinos reconocidas mundialmente, por lo que es el país con el mayor número de especies, y entre las más distribuidas se encuentran *Pinus oocarpa*, *P. douglasiana*, *P. devoniana*, *P. montezumae* y *P. cembroides* (Gernandt y Pérez 2014).

Las afectaciones a estos bosques pueden ser antropocéntricas o naturales, entre éstas últimas se encuentran los incendios, sequías, especies invasoras, plagas y enfermedades forestales (Dale et al. 2001). Normalmente, los insectos cumplen una función en la dinámica y permanencia de los bosques, por lo que pueden tener un papel ecológico fundamental. De esta manera, los escarabajos descortezadores (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) son uno de los principales factores de renovación y saneamiento natural de las comunidades forestales, al provocar la muerte de árboles debilitados por la edad, sequía, fuego u otros factores. Sin embargo, registros en México en el año 2013, se presentaron afectaciones por escarabajos descortezadores en bosques de pino en Durango con el 25% y en Chihuahua un 18%. Esto debido al aumento de temperatura en el país, se tiene registrado que esta variable incrementa el número de generaciones de escarabajos descortezadores por año, por lo anterior México cuenta con lineamientos técnicos para la prevención, combate y control de escarabajos descortezadores bajo la norma 019-SEMARNAT-2017, lo que considera como brote activo la muerte de 1 a 3 pinos en un área de 500 m<sup>2</sup>. Cabe mencionar que Jalisco se encuentra localizado en el eje Neovolcánico transversal que históricamente ha presentado los mayores brotes activos en México (Del-Val y Sáenz 2017; Soto et al. 2019).

En su actividad normal los insectos producen compuestos químicos, en tanto que los árboles reaccionan al ataque y también producen sus propios compuestos; todos estos pueden tener efectos significativos para que se inicie la infestación de escarabajos descortezadores, por lo que las interacciones entre insectos y plantas han sido de gran interés en la ecología química (Honda et al. 2010). Los compuestos orgánicos volátiles liberados por las plantas (VOC, *volatile organic compounds*) son productos indispensables que funcionan en el mutualismo, la tolerancia al estrés ambiental y el control de plagas (Peñaflor y Bento 2013). Cientos de millones de toneladas de VOC son expulsados a la atmósfera anualmente por las plantas vivas (Arimura y Maffei 2016).

Los compuestos volátiles, principalmente terpenos, a menudo están involucrados en interacciones a larga distancia y son especialmente importantes como atrayentes y repelentes (Seigler 1998), por lo que desde hace tiempo se considera que los VOC pueden ser una herramienta valiosa para entender y manipular el comportamiento de los insectos (Jessie et al. 1987).

Por lo anterior, es necesario tener un buen conocimiento de los compuestos orgánicos volátiles presentes en los pinos mexicanos; de esta forma se pueden determinar las interacciones escarabajo descortezador-pino y la información puede ser de gran utilidad para el establecimiento de un manejo integrado de plagas forestales. Sin embargo, son pocas las referencias que existen relacionadas con este tema, por lo que el presente trabajo de investigación está enfocado en el estudio de los compuestos orgánicos volátiles en dos especies de pinos.

## Materiales y métodos

El muestreo de esta investigación se llevó a cabo en el Área Natural Protegida "Sierra de Quila" (Fig. 1), que se caracteriza por su gran diversidad forestal, donde se distribuyen bosques templados de *Quercus sp.*, *Pinus sp.* y mezcla de ambos. Esta área abarca

una superficie total de 14.168,9 hectáreas, formando parte de los municipios de Tecolotlán, Tenamaxtlán y San Martín Hidalgo en el estado de Jalisco; aproximadamente a 120 km de la ciudad de Guadalupe. Se encuentra entre los 20° 14' y 20° 22' N, 103° 56' y 104° 08' W; con una elevación de 1.700 hasta los 2.560 msnm (Villavicencio-García et al. 2012).

Las especies seleccionadas fueron *Pinus douglasiana* Martínez y *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl, fueron de áreas afectadas por el escarabajo descortezador en el 2016, en la etapa de saneamiento se colectó lo que las autoridades fitosanitarias permitieron, y además estos pinos son representantes de la zona. Para *P. douglasiana* se tomaron 6 muestras de las cuales 2 estaban sanos, 2 en fase 1 y 2 en fase 3, cabe señalar que en este pino no se observa la fase 2, sino que pasa directo de fase 1 a fase 3; para *P. oocarpa*, se colectaron 8 muestras, de las que 2 eran pinos sanos, 2 en fase 1, 2 en fase 2 y 2 en fase 3, además se consideró llevar a cabo las extracciones de compuestos volátiles en las acículas por contener una mayor proporción y número de terpenos y sus derivados que en ramas y madera, mencionado por Manninen et al. (2002).

Con guantes de látex se tomaron acículas de ambos pinos; se consideró la clasificación generada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para pinos atacados por escarabajos descortezadores:

**Fase 1:** Los escarabajos descortezadores inician la llegada a los pinos, mostrando coloración verde alimonado y localización de grumos en el tronco.

**Fase 2:** Los escarabajos descortezadores se están reproduciendo debajo de la corteza, y la coloración de la copa del árbol comienza a tomar una coloración café.

**Fase 3:** Los pinos muertos debido al ataque de los escarabajos descortezadores, presentan un cambio de coloración de un café oscuro a rojizo (Billings et al. 1990).

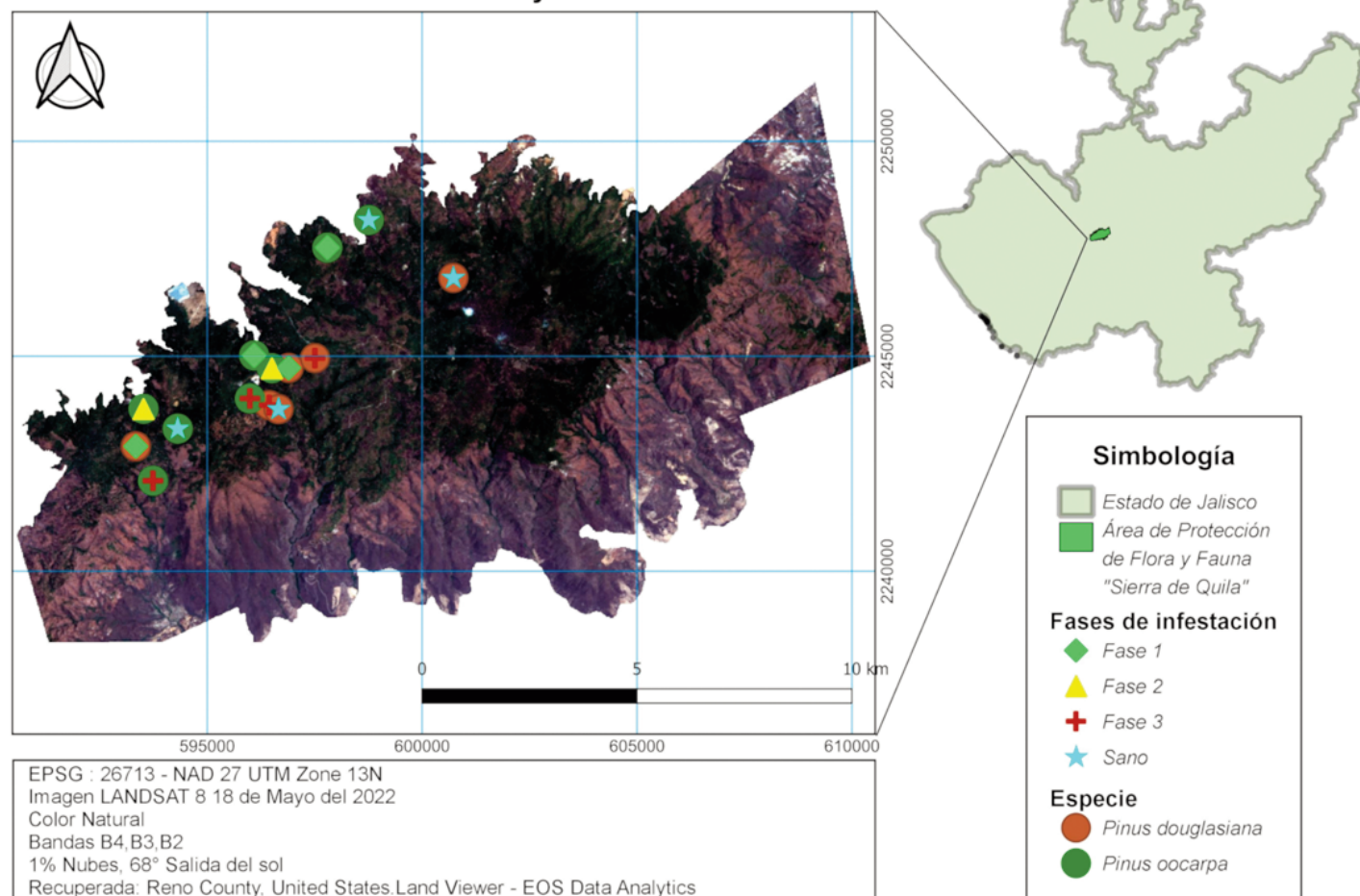
Las acículas recolectadas se almacenaron en bolsas de papel, que fueron posteriormente colocadas en bolsas de cierre hermético para llevarse a refrigeración hasta su disposición en el laboratorio.

Adicionalmente se extrajeron insectos descortezadores de los fustes infestados para su identificación en laboratorio y su relación con la incidencia de ataque.

Para la extracción, de las acículas de pino frescas se eliminaron aproximadamente 3 centímetros de los extremos y la parte central se cortó manualmente con tijeras, en trozos lo más pequeño posibles; se pesaron muestras representativas de 1.5 gramos por duplicado, y se pasaron a frascos de vidrio color ámbar de 8 mL. Posteriormente, se les añadió 5 mL de una solución preparada con éter de petróleo y éter dietílico 1:1, así como estándares o patrones internos para cromatografía marca Sigma-Aldrich: ácido heptadecanoico, heptadecano e isobutilbenceno, todos a una concentración de 250 mg/mL. El isobutilbenceno funge como patrón interno para monoterpenos y sesquiterpenos, mientras que el ácido heptadecanoico para diterpenos neutros y ácidos resínicos, y el heptadecano para sesquiterpenos y diterpenos neutros (Arrabal et al. 2012). Las extracciones se llevaron a cabo en el interior de un refrigerador, con agitación constante (60 rpm) con un agitador magnético y temperatura controlada de 4 °C por 24 horas. Después de este lapso se decantó el sobrenadante para almacenarse en congelación (-3 °C) hasta su posterior análisis. Las muestras fueron tratadas con filtros de disco de nylon de 0.20 µm, para jeringa, en un ambiente frío para evitar volatilización, con el propósito de eliminar las pequeñas partículas generadas durante la extracción. A continuación, se hizo una dilución de 800 µL de muestra filtrada, en 2 mL de solvente utilizado para la extracción usando viales ámbar para cromatografía.

Para la identificación de los compuestos presentes en los extractos se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas marca Shimadzu modelo GCMS-QP2010SE equipado con una columna SHRXI-5MS (30m × 0.25mm × 0.25µm) poco polar. El gas de arrastre fue helio de alta pureza, a un flujo

## Ubicación del Área de Protección de Flora y Fauna "Sierra de Quila" Saneamiento y Colecta 2016



**Figura 1.** Puntos de colecta de acículas de pinos en el estado de Jalisco.

**Figure 1.** Pine needles collected in state Jalisco.

constante de 0.49 mL/min, con temperatura inicial de 80 °C (2 min), incremento a 260 °C en 8 °C/min, energía de filamento 70 eV, temperatura de fuente de iones 200 °C. La inyección fue aplicada en modo *split*, con una proporción de 1:50. Los espectros de masas obtenidos se correlacionaron con la espectroscopia computarizada del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de los Estados Unidos, versión 2.0f (NIST 2009). Además de la correlación se consideraron los tiempos de retención, los estándares internos y patrones de fragmentación para elucidar la estructura de los compuestos orgánicos volátiles (Orav 2001).

## Resultados y discusión

De las dos especies de pino se obtuvieron alrededor de 15 compuestos a concentración variable, para árboles sanos, que aumentaron a más de 20 cuando fueron atacados por insectos. Por lo tanto, estos resultados sugieren que pueden identificarse los compuestos que sirven como mecanismo de defensa ante la infestación (Cantúa et al. 2019). Para facilitar la comparación, el contenido de las Tablas 1 y 2 se analizó por fase, para apreciar mejor las diferencias y similitudes de los compuestos orgánicos volátiles entre *Pinus douglasiana* y *P. oocarpa*. Es importante señalar que de *P. douglasiana* no se tuvieron acículas de la fase 2, por lo que no se incluye en la Tabla 1.

En ambas tablas se puede apreciar que hay compuestos que son característicos de cada especie de los árboles sanos, y otros que aparecen cuando hay un cierto grado de infestación; por lo tanto, podemos decir que existe una "huella química" que podría permitir la diferenciación entre árboles sanos y atacados por insectos, esto sería de gran apoyo para desarrollar algoritmos, utilizando

bandas multiespectrales e incorporarlos en un vehículo aéreo no tripulado (VANT), y por medio de vuelos conocer el estado de salud de zonas forestales (Barbedo 2019).

Los compuestos detectados son casi en su totalidad terpenos y sus derivados; sólo se tiene una excepción, el butilhidroxitolueno (BHT) que funge como antioxidante y que está presente en todas las muestras.

### Árboles sanos

En los pinos sanos de ambas especies hay once compuestos en común (3-careno,  $\alpha$ -ocimeno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -copaeno,  $\beta$ -pineno, (-)- $\beta$ -pineno, BHT, canfeno, cariofileno, limoneno, sabineno), de los que 10 son terpenos y el ya mencionado BHT, que es un alcohol aromático. De los terpenos, 8 son monoterpenos, por lo que es el grupo preponderante, y 2 sesquiterpenos ( $\beta$ -coapeno y cariofileno).

En cuanto a los compuestos que son característicos a cada especie, en el *Pinus douglasiana* se tiene un monoterpenoide, el acetato de bornilo; en *P. oocarpa* son cuatro compuestos, dos sesquiterpenos ( $\beta$ -muuroleno y humuleno), un monoterpenoide (*cis*-pinen-3-ol, derivado alcohólico del  $\alpha$ -pineno) y un sesquiterpenoide cíclico (germacreno  $\alpha$ -4-ol).

Resulta evidente que *Pinus oocarpa* tiene más compuestos característicos que *P. douglasiana*, entre ellos más sesquiterpenos, lo que puede ayudar a diferenciar entre ambas especies.

En lo que respecta a la interacción de estos compuestos con los insectos, el 3-careno es uno de los terpenos reconocidos en interacciones pino-descortezador (Seibold et al. 2006). Los escarabajos *Dendroctonus* son una de las plagas más graves de los árboles de coníferas, el *D. valens* se siente atraído por  $\alpha$ -pineno,

**Tabla 1.** Compuestos orgánicos volátiles de *Pinus douglasiana*.**Table 1.** Volatile organic compounds of *Pinus douglasiana*.

Árbol sano	Fase 1	Fase 3
3-Careno	3-Careno	3-Careno
$\alpha$ -Ocimeno	$\alpha$ -Ocimeno	
$\alpha$ -Pino	$\alpha$ -Pino	$\alpha$ -Pino
$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaeno
$\beta$ -Pino	$\beta$ -Pino	$\beta$ -Pino
(-)- $\beta$ -Pino	(-)- $\beta$ -Pino	
BHT	BHT	BHT
Canfeno	Canfeno	Canfeno
Cariofileno	Cariofileno	Cariofileno
Limoneno	Limoneno	Limoneno
	$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadineno
	cis-Pinen-3-ol	cis-Pinen-3-ol
	Humuleno	Humuleno
Acetato de bornilo*	Longifoleno*	8-hidroxi-endo-Cicloisolongifoleno*
Sabineno*		$\alpha$ -Cadinol*
		$\alpha$ -Muurolo*
		$\beta$ -Burboneno*
		$\gamma$ -Cadineno*
		$\gamma$ -Muurolo*
		d-Germacreno*
		Copaeno*
		Óxido de cariofileno*
		Terpineol*

\*Los compuestos sombreados son característicos de cada fase.

**Tabla 2.** Composición de compuestos orgánicos volátiles de *Pinus oocarpa*.**Table 2.** Volatile organic compound composition of *Pinus oocarpa*

Árbol sano	Fase 1	Fase 2	Fase 3
3-Careno	3-Careno	3-Careno	3-Careno
$\alpha$ -Muurolo	$\alpha$ -Muurolo	$\alpha$ -Muurolo	$\alpha$ -Muurolo
$\alpha$ -Ocimeno	$\alpha$ -Ocimeno	$\alpha$ -Ocimeno	$\alpha$ -Ocimeno
$\alpha$ -Pino	$\alpha$ -Pino	$\alpha$ -Pino	$\alpha$ -Pino
$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaeno	$\beta$ -Copaeno
$\beta$ -Pino	$\beta$ -Pino	$\beta$ -Pino	$\beta$ -Pino
(-)- $\beta$ -Pino	(-)- $\beta$ -Pino	(-)- $\beta$ -Pino	(-)- $\beta$ -Pino
cis-Pinen-3-ol	cis-Pinen-3-ol	cis-Pinen-3-ol	cis-Pinen-3-ol
BHT	BHT	BHT	BHT
Canfeno	Canfeno	Canfeno	Canfeno
Cariofileno	Cariofileno	Cariofileno	Cariofileno
Germacreno d-4-ol	Germacreno d-4-ol	Germacreno d-4-ol	Germacreno d-4-ol
Humuleno	Humuleno	Humuleno	Humuleno
Limoneno	Limoneno	Limoneno	Limoneno
Sabineno	Sabineno	Sabineno	Sabineno
	2-careno	2-careno	2-careno
	$\beta$ -Burboneno	$\beta$ -Burboneno	$\beta$ -Burboneno
	$\gamma$ -Cadineno	$\gamma$ -Cadineno	$\gamma$ -Cadineno
	$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadineno	$\delta$ -Cadineno
	d-Germacreno	d-Germacreno	d-Germacreno
	Copaeno	Copaeno	Copaeno
		8-hidroxi-endo-Cicloisolongifoleno	8-hidroxi-endo-Cicloisolongifoleno
		Bergamol*	p-Menta-1,5,8-trieno*

\*Los compuestos sombreados son característicos de cada fase.

(-)- $\beta$ -pineno, y 3-careno de las resinas volátiles de sus huéspedes. El canfeno y el acetato de bornilo también pueden ser atrayentes para insectos descortezadores (Honda et al. 2010), y varios monoterpenos también se encuentran como sustancias feromonales de agregación en los insectos (Miller y Borden 2000).

Las alteraciones en el contenido de monoterpenos a menudo determinan si el ataque de los insectos ocurrirá y tendrá éxito; se ha encontrado que durante una infestación por insectos pueden aumentar las cantidades de algunos de los compuestos orgánicos volátiles, como mecanismo de defensa del árbol; los monoterpenos pueden ser atrayentes, repelentes o toxinas, no solo de los insectos, sino también de los hongos patógenos involucrados en estos sistemas (Cantúa et al. 2019).

## Árboles infestados

### En la fase 1

En los pinos atacados por descortezadores en la zona de estudio se identificaron diversas especies pertenecientes a la familia Curculionidae, subfamilia Scolytinae: *Dendroctonus mexicanus*, *D. frontalis*, *D. valens*, *D. adjunctus*, *D. approximatus*, e *Ips mexicanus*, y que además gracias a este estudio, fueron primeros registros para Sierra de Quila.

En la fase 1 de infestación en *Pinus douglasiana* no se registró sabineno ni acetato de bornilo; hacen su aparición cuatro compuestos que no se encontraban en el árbol sano, tres sesquiterpenos ( $\delta$ -cadineno, humuleno, longifoleno) y un monoterpeneoide (*cis*-pinen-3-ol). Es importante mencionar que el humuleno y el *cis*-pinen-3-ol están presentes en el *P. oocarpa* sano. Si bien los monoterpenos siguen siendo la fracción preponderante, ahora constituyen la mitad de los compuestos, y los sesquiterpenos han ganado terreno.

Varios autores han encontrado que estos compuestos tienen efecto contra insectos que atacan a las plantas. Benelli y colaboradores (2018) han reportado esto para el canfeno y el humuleno, por lo que plantean que tienen posibilidades como pesticidas amigables con el ambiente. En los compuestos volátiles de la tuya oriental (*Platyclusus orientalis*) se ha reportado la presencia de longifoleno, 3-careno,  $\alpha$ -pineno y sabineno como respuesta a daños causados por el escarabajo barrenador de tronco (*Semanotus bifasciatus*) (Wang et al. 2020).

Respecto al *Pinus oocarpa*, se mantienen todos los compuestos presentes en el árbol sano, y aparecen seis compuestos más, con lo que el número de éstos pasa de 15 a 21. De estos seis compuestos, cinco son sesquiterpenos ( $\beta$ -burboneno, copaeno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -germacreno,  $\gamma$ -cadineno) y un monoterpeneoide (2-careno). La diferencia en el número de compuestos con el *Pinus douglasiana* es considerable, en esta fase 1 dos de los cuatro compuestos que recién aparecen en *P. douglasiana* ya estaban presentes en el árbol sano de *P. oocarpa* (humuleno, *cis*-pinen-3-ol) y otro ( $\delta$ -cadineno) aparecen también en *P. oocarpa* en esta fase 1. Esto ocasiona que casi todos los compuestos del *P. douglasiana* estén presentes en *P. oocarpa*, con la única excepción del longifoleno. Aun así, este tiene ocho compuestos que no están presentes en *P. douglasiana*.

Se puede decir que en los *Pinus douglasiana* y *P. oocarpa* estudiados, con la infestación de escarabajos descortezadores, aumenta la producción de sesquiterpenos, y que el  $\delta$ -cadineno es el compuesto que aparece en ambas especies y que no estaba presente en ninguna de ellas en árboles sanos.

### En la Fase 2

En *Pinus douglasiana* no se ha detectado esta fase, esto con base en observaciones de diferentes zonas afectadas por escarabajos descortezadores, por lo que solo se tienen observados la fase 1 y fase 3. Solo se obtuvieron muestras de *Pinus oocarpa* para esta fase. En la **Tabla 2** se puede apreciar que se tiene la presencia de todos los compuestos del árbol sano y de la fase 1. Hay dos compuestos nuevos, derivados de terpenos: un monoterpeneoide (bergamol) y un sesquiterpeneoide (8-hidroxi-endo-cicloisolongifoleno).

El bergamol ha mostrado características apropiadas como repelente de insectos, e incluso se ha estudiado el aceite esencial de bergamota (rico en bergamol) para el control de plagas (Cosimi et al. 2009).

### Finalmente, en la fase 3

En *Pinus douglasiana* están presentes la mayor parte de los compuestos de la fase 1 (a excepción de  $\alpha$ -ocimeno, (-)- $\beta$ -pineno y longifoleno) y se tienen diez compuestos característicos de esta fase, seis sesquiterpenos ( $\beta$ -muuroleno,  $\beta$ -burboneno, copaeno,  $\alpha$ -germacreno,  $\gamma$ -cadineno y  $\gamma$ -muuroleno), tres sesquiterpeneoide ( $\alpha$ -cadinol, 8-hidroxi-endo-cicloisolongifoleno y óxido de cariofileno), así como un monoterpeneoide (terpineol).

Si bien, estos diez compuestos aparecen en fase 3 en *Pinus douglasiana*, la gran mayoría ya habían aparecido antes en el *P. oocarpa* ( $\alpha$ -muuroleno en árbol sano,  $\beta$ -burboneno, copaeno,  $\alpha$ -germacreno y  $\gamma$ -cadineno en fase 1, 8-hidroxi-endo-cicloisolongifoleno en fase 2) a excepción del  $\alpha$ -cadinol,  $\gamma$ -muuroleno, óxido de cariofileno y terpineol. En el caso del *P. douglasiana*, los compuestos exclusivos de esta fase son derivados de terpenos.

El  $\alpha$ -cadinol y el óxido de cariofileno han mostrado propiedades antifúngicas (Chang et al. 2008). En el caso del *p*-menta-1,5,8-trieno, se ha reportado como un compuesto que aparece en las plantas cuando son atacadas por insectos (Fatouros et al. 2012). En esta fase 3 se tiene un contraste con las anteriores, pues mientras en el *P. douglasiana* hay tres compuestos que no habían aparecido antes en ninguna de las dos especies, en *P. oocarpa* sólo hay uno, el monoterpeneo *p*-menta-1,5,8-trieno.

Por lo tanto, a manera de resumen, se construyó la **Tabla 3**, en la que se muestran los compuestos orgánicos volátiles que aparecen en pinos al ser atacados por escarabajos descortezadores. Se han omitido para el *Pinus douglasiana* el *cis*-pinen-3-ol,  $\alpha$ -muuroleno y humuleno que aparecen en los volátiles del *P. oocarpa* sano. De esta forma, en la **Tabla 3** sólo se muestran los compuestos asociados con ataque por escarabajos descortezadores, por lo que se observa que al iniciar el ataque cambia el perfil químico de los compuestos orgánicos volátiles, y conforme aumenta la incidencia de escarabajos en los pinos, aumenta el número de compuestos derivados de los terpenos, y sobre todo los sesquiterpenos ganan importancia; esto es consistente con lo reportado en la literatura (Gonçalves et al. 2020; Heijari et al. 2011).

## Conclusiones

En este estudio se muestra como *Pinus douglasiana* y *P. oocarpa* del Área Natural Protegida "Sierra de Quila", en Jalisco, tienen alrededor de 10 compuestos orgánicos volátiles en común, considerando también las extracciones en frío. Estos compuestos son mayoritariamente 8 monoterpenos, 2 sesquiterpenos y 1 compuesto fenólico.

Además, hay compuestos que sólo se tienen en *P. douglasiana* (acetato de bornilo) y *P. oocarpa* ( $\alpha$ -muuroleno, *cis*-pinen-3-ol,  $\alpha$ -germacreno  $\alpha$ -4-ol y humuleno).

Por otro lado, se puede establecer una relación directa entre *Pinus douglasiana* y *P. oocarpa* con las especies de escarabajos *Dendroctonus mexicanus*, *D. frontalis*, *D. valens*, *D. adjunctus*, *D. approximatus*, *Ips mexicanus* a través de la emisión de dichos compuestos volátiles. Cabe destacar, que dependiendo de la etapa de infestación aparecen nuevos compuestos volátiles, especialmente sesquiterpenos.

Con todo esto, en el presente estudio se ha generado información importante sobre el perfil químico de los compuestos orgánicos volátiles de pinos sanos e infestados que sería de gran apoyo para desarrollar algoritmos, utilizando bandas multispectrales e incorporarlas en un vehículo aéreo no tripulado en bosques del Occidente de México. Una siguiente etapa de la investigación es considerar el uso de sesquiterpenos y sus derivados, como por ejemplo  $\alpha$ -cadineno, longifoleno,  $\beta$ -burboneno y copaeno, para el control de escarabajos descortezadores.

**Tabla 3.** Compuestos orgánicos volátiles que aparecen en pinos al ser atacados por insectos descortezadores.**Table 3.** Volatile organic compounds that appear in pine trees when attacked by bark stripping insects.

<i>Pinus douglasiana</i>		<i>Pinus oocarpa</i>	
Compuesto	Fase	Compuesto	Fase
8-hidroxi-endo-Cicloisolongifoleno	3	8-hidroxi-endo-Cicloisolongifoleno	2,3
β-Burboneno	3	β-Burboneno	1,2,3
γ-Cadineno	3	γ-Cadineno	1,2,3
δ-Cadineno	1,3	δ-Cadineno	1,2,3
d-Germacreno	3	d-Germacreno	1,2,3
Copaeno	3	Copaeno	1,2,3
α-Cadinol*	3	2-Careno*	1,2,3
Longifoleno*	1	p-menta-1,5,8-trieno*	3
γ-Muuroleno*	3	Bergamol*	2
Óxido de cariofileno*	3		
Terpineol*	3		

\*Los compuestos sombreados son característicos de cada especie.

## Contribución de los autores

Teresa de la Cruz García Hernández: Conceptualización, Investigación, Redacción borrador original. Antonio Rodríguez Rivas: Administración del proyecto, Adquisición de fondos, Conceptualización Investigación, Redacción borrador original, Supervisión y Visualización. Héctor Jesús Contreras Quiñones: Curaduría de datos, Metodología, Redacción, Revisión y Edición, software. Jesús Ángel Andrade Ortega: Redacción, Revisión y Edición, Software, Redacción - Revisión y Ediciones. Sara Gabriela Díaz Ramos: Investigación, Metodología, Recursos, Redacción, Revisión y Edición. Gloria Iñiguez Herrera: Análisis formal, Investigación, Recursos. Celso Velásquez Ordoñez: Curaduría de datos, Metodología, Recursos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, del Centro Universitario de los Valles de la Universidad de Guadalajara, y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

## Referencias

- Arimura, G.-I., Maffei, M. 2016. *Plant specialized metabolism: genomics, biochemistry, and biological functions*. CRC Press, Boca Raton, FL., Estados Unidos. 376 p.
- Arrabal, C., García, M.C., Cadahia, V.E., Cortijo, M., de Simón, B.F. 2012. Characterization of two chemotypes of *Pinus pinaster* by their terpene and acid patterns in needles. *Plant Systematics and Evolution* 298(2): 511–522. DOI:10.1007/s00606-011-0562-8.
- Barbedo, J.G.A. 2019. A review on the use of unmanned aerial vehicles and imaging sensors for monitoring and assessing plant stresses. *Drones* 3(2): 1-27.
- Benelli, G., Govindarajan, M., Rajeswary, M., Vaseeharan, B., Alyahya, S.A., Alharbi, N.S., Maggi, F. 2018. Insecticidal activity of camphene, zerumbone and α-humulene from *Cheilocostus speciosus* rhizome essential oil against the old-world bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148:781–786. DOI:10.1016/j.ecoenv.2017.11.044.
- Billings, R.F., Pase III, H.A., Flores, J.E. 1990. Los escarabajos descortezadores del pino, con énfasis en *Dendroctonus frontalis*: guía de campo para la inspección terrestre. Texas Forest Service Publication. St. Lufkin, TX, Estados Unidos. <https://www.barkbeetles.org/spb/indice3a.html> [accedido el 12 de marzo de 2020].
- Cantúa, A.J.A., Flores, O.A., Valenzuela, S.H.H. 2019. Compuestos orgánicos volátiles de plantas inducidos por insectos: situación actual en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(3): 729-742.
- Chang, H.T., Cheng, Y.H., Wu, C.L., Chang, S.T., Chang, T.-T., Su, Y.-C. 2008. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresource Technology* 99(14):6266–6270. DOI:10.1016/j.biortech. 2007.12.005.
- Cosimi, S., Rossi, E., Cioni, P.L., Canale, A. 2009. Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). *Journal of Stored Products Research* 45(2):125–132. DOI:10.1016/j.jspr.2008.10.002.
- Dale, V.H., Joyce, L.A., McNulty, S., Neilson, R.P., Ayres, M.P., Flannigan, M.D., Wotton B.M. 2001. Climate change and forest disturbances: Climate change can affect forests by altering the frequency, intensity, duration, and timing of fire, drought, introduced species, insect and pathogen outbreaks, hurricanes, windstorms, ice storms, or landslides. *BioScience* 51(9):723–734.
- Del-Val, E., Sáenz, C.R. 2017. Insectos descortezadores (Coleoptera: Curculionidae) y cambio climático: problemática actual y perspectivas en los bosques templados. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas* 20(2): 53–60.
- Fatouros, N.E., Lucas, D.B., Weldegergis, B.T, Pashalidou, F.G., Van Loon, J.J.A. 2012. Plant volatiles induced by herbivore egg deposition affect insects of different trophic levels. *PLoS ONE* 7(8): 43607. DOI:10.1371/journal.pone.0043607.
- Gernandt, D.S., Pérez, J.A.R. 2014. Biodiversidad de pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85:126–133. DOI:10.7550/rmb.32195.
- Gonçalves, E., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Henriques, J., Sousa, E., Bonifácio, L. 2020. Effect of *Monochamus galloprovincialis* feeding on *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, oleoresin and insect volatiles. *Phytochemistry* 169: 112159. DOI:10.1016/j.phytochem.2019.112159.
- Heijari, J., Blande, J.D., Holopainen, J.L. 2011. Feeding of large pine weevil on Scots pine stem triggers localised bark and systemic shoot emission of volatile organic compounds. *Environmental and Experimental Botany* 71(3):390–398. DOI:10.1016/j.envexpbot.2011.02.008.
- Honda, K., Ômura, H., Hori, M., Kainoh, Y. 2010. Allelochemicals in plant-insect interactions. En: Mander, L., Liu, H.-W.B. (eds.). *Comprehensive Natural Products II*, pp. 563–594, Vol. 4. Elsevier, Ltd. Amsterdam, Netherlands. DOI: 10.1016/B978-008045382-8.00106-4.
- Jessie, E., Christiansen, E., Warning, R.H., Berryman, A.A. 1987. Resistance of conifers to bark beetle attack: searching for general relationships. *Forest Ecology and Management* 22:89–106.
- López, G., Flores, A. 2020. Importancia económica del pino (*Pinus* spp.) como recurso natural en México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 11(60):161–185. DOI:10.29298/rmcf.v11i60.720.

- Manninen, A.M., Tarhanen, S., Vourinen, M., Kainulainen, P. 2002. Comparing the variation of needle and wood terpenoids in Scots pine provenances. *Journal of Chemical Ecology* 28(1):211–228. DOI: 10.1023/a:1013579222600
- Miller, D.R., Borden, J.H. 2000. Dose-dependent and species-specific response of pine bark beetle (Coleoptera: Scolytidae) to monoterpenes in association with pheromones. *The Canadian Entomologist* 132:183-195. DOI:10.4039/Ent132183-2
- NIST 2009. The mass spectral search program, version 2.0f. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, Estados Unidos.
- Orav, A. 2001. Identification of terpenes by gas chromatography–mass spectrometry. En: Niessen, W.M. (ed.). *Current Practice of Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, pp. 483–494. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, Estados Unidos.
- Peñaflor, M.F.G.V., Bento, J.M.S. 2013. Herbivore-induced plant volatile to enhance biological control in agriculture. *Neotropical Entomology* 42: 331-343. DOI: 10.1007/s13744-013-0147-z
- Seigler, D.S. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Springer Science+Business Media. Nueva York, Estados Unidos. pp. 759. DOI:10.1007/978-1-4615-4913-0.
- Seybold, S.J., Huber, D.P.W., Lee, J.C., Graves, A.D., Bohlmann, J. 2006. Pine monoterpenes and pine bark beetles: a marriage of convenience for defense and chemical communication. *Phytochemistry Reviews* 5(1):143–178. DOI: 10.1007/s11101-006-9002-8.
- Soto, C.J.C., Avilés, C.I., Giron, G.D., Cambrón, S.V. 2019. Abundancia altitudinal de *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae) en relación a variables climáticas en Hidalgo, México. *Revista de Biología Tropical* 67(3):370–379. DOI: 10.15517/rbt.v67i3.34436.
- Villavicencio, G.R., Santiago, P.A.L., Godínez, H.J.J., Chávez, A.J.M., Toledo, G.S.L. 2012. Efecto de la fragmentación sobre la regeneración natural en la Sierra de Quila, Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 3(11):9–24.
- Wang, Z., Chen, W., Gu, S., Wang, Y., Wang, J. 2020. Evaluation of trunk borer infestation duration using MOS E-nose combined with different feature extraction methods and GS-SVM. *Computers and Electronics in Agriculture* 170:105293. DOI: 10.1016/j.compag.2020.105293.