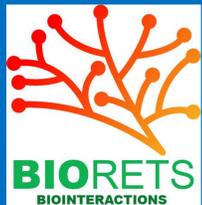


El comportamiento de atracción o aversión de la mosca *Drosophila melanogaster* macho y hembra hacia los olores emitidos por el vinagre, el etanol, la menta y la vainilla.



Nelly M. Rodríguez Pacheco¹, Airined Montes², Christian Del Valle², Nicolás Fuenzalida², Alfredo Ghezzi²
 Escuela Adela Rolón Fuentes¹, Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico, Río Piedras²



Introducción

Al igual que otros insectos, *Drosophila melanogaster* utiliza el sistema olfativo para detectar muchos compuestos volátiles para su supervivencia. Comportamientos como la selección de pareja, elección de comida y navegación hacia sitios de oviposición adecuados dependen del funcionamiento del sentido del olfato. En la naturaleza, una supuesta fuente de alimento, como una fruta, emite múltiples compuestos volátiles. Algunos de los olores que emite una fruta en fermentación y que parece tener un significado biológico específico para las moscas son el etanol y el ácido acético (Alves et al., 2015; Rao and Stokes, 1953). Las moscas se sienten más atraídas por los olores de los alimentos que contienen etanol que los olores sin etanol (Schneider et al., 2012). Según varios estudios, las moscas prefieren alimentarse de alimentos enriquecidos con etanol posiblemente debido a su valor calórico (Schneider et al., 2012; Pohl et al., 2012) y/o efecto intoxicante (Devineni y Heberlein, 2013). Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles producidos como metabolitos secundarios en las plantas. Uno de estos aceites esenciales es la menta, la cual ha sido estudiada y se ha visto que es un repelente a insectos, al igual que la *Drosophila* (Wang et al., 2021). Los odorantes volátiles son detectados por dos apéndices sensoriales olfativos bilateralmente simétricos, el tercer segmento de la antena y los palpos maxilares, que contienen un aproximado de 1200 y 120 neuronas sensoriales olfativas (OSN) respectivamente. Estas OSN expresan una familia divergente de siete receptores odorantes (OR) de dominio transmembrana que determinan la especificidad del olor de una OSN dada (Laisue & Vosshall, 2008).

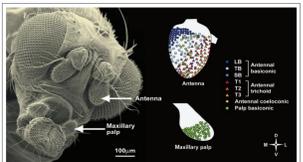


Figura I. Organización periférica del sistema olfativo de *Drosophila*. Micrografía electrónica de barrido de una cabeza de *Drosophila* que indica los dos órganos sensoriales principales, el tercer segmento de la antena y el palpo maxilar. SEM image by J. Scott and R. Bhatnagar, AMF, Biological Sciences, University of Alberta. Tomado de (Laisue & Vosshall, 2008).

Objetivos o hipótesis

- El uso de compuestos volátiles es comúnmente utilizado para manejar y repeler plagas de insectos y alterar sus comportamientos impulsados por el olfato. Para ello, es importante determinar cuales son los compuestos que causan estos comportamientos.
- En este estudio, investigamos si la exposición a varios odorantes de manera sencilla causa una atracción o una aversión de la mosca *Drosophila melanogaster*.

Métodos

Para esta investigación se prepararon 30 tubos de centrifuga graduados de 50mL (15 para machos y 15 para hembras). Los tubos fueron divididos con un marcador en 4 segmentos iguales de 12.5 cm³ cada uno. En cada segmento se hicieron dos agujeros pequeños en lados opuestos para oxigenar y que se formara un gradiente de concentración con el olor al que se expondrán las moscas (menta, vainilla, etanol y vinagre).



- Como grupo control se utilizaron 3 tubos con 11 moscas hembras en cada uno (total= 33 moscas). A este grupo no se le añadió ninguna sustancia en sus tapones. Junto a estos tres tubos controles se colocaron 3 tubos experimentales con 11 moscas hembras en cada uno (33 moscas) a las cuales se le añadió esencia de menta inyectando 1mL de la sustancia en el tapón de algodón con una jeringuilla. Al cabo de 5 y 10 minutos de inyectar la sustancia se hizo un conteo de cantidad de moscas por segmento. Los segmentos 1 y 2 son las moscas cercanas a la fuente de olor y los segmentos 3 y 4 son las alejadas.
- Este mismo proceso se realizó con las distintas sustancias (menta, vainilla, vinagre y etanol 95%) y se repitió con moscas macho. El experimento se hizo bajo condiciones controladas de luz (en el cuarto oscuro) con una lámpara de luz roja. Los tubos se colocaron horizontalmente para controlar el efecto de gravedad negativa y apuntando en direcciones opuestas de manera alternada. Se tomó video y fotos para luego examinar con mayor detalle el comportamiento de las moscas y hacer conteo de moscas en cada segmento.

Resultados

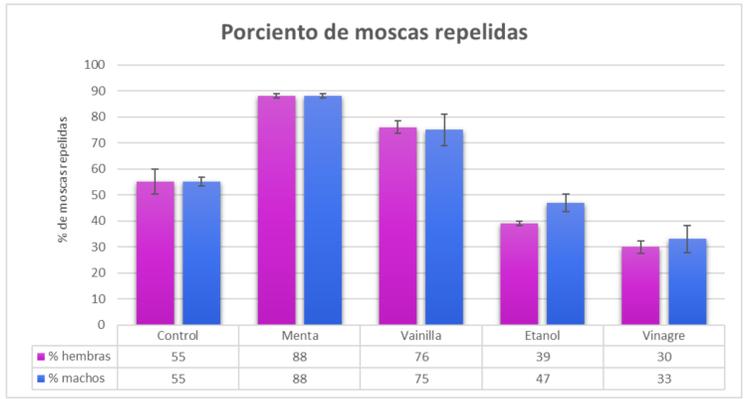


Figura II. Porcentaje de moscas que se contabilizaron en los segmento 3 y 4 alejadas de la fuente de olor al cabo de 5 minutos.

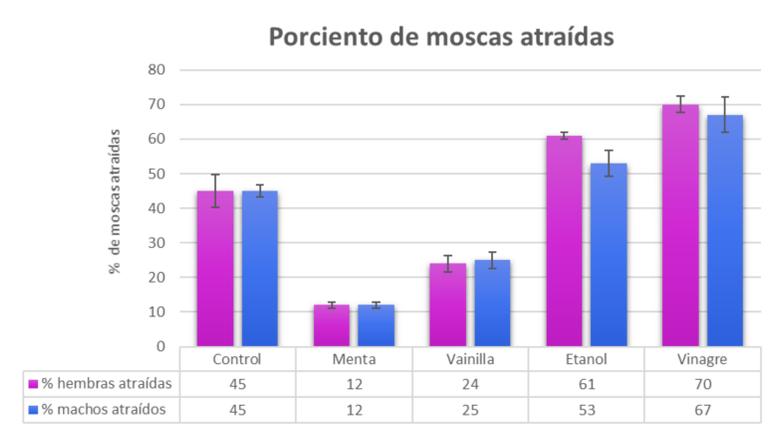
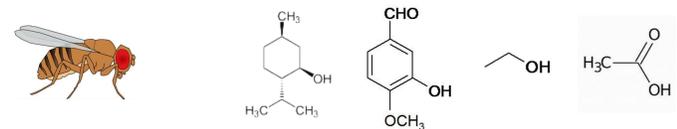


Figura III. Porcentaje de moscas que se contabilizaron en los segmento 1 y 2 cercanas a la fuente de olor al cabo de 5 minutos.

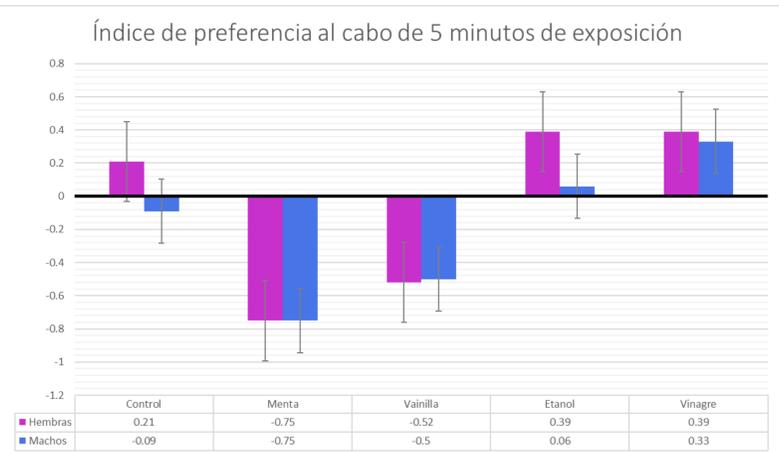


Figura IV. Índice de Preferencia calculado (IP= #moscas alejadas - #moscas cercanas / total de moscas). Los valores negativos indican aversión y los valores positivos, atracción.

Discusión

El experimento de comportamiento que llevamos a cabo confirmó la atracción de *Drosophila* hacia el etanol (Giang, He, Belaidi, Scholz; 2017) y hacia el ácido acético (Faucher et al., 2006), el componente principal del vinagre. Similar a otros estudios se observó que las moscas tuvieron aversión a la menta (Wang et al., 2021) y al benzaldehído (Strutz et al., 2014), el componente principal de la vainilla. El experimento consistió en medir el comportamiento atractivo o repulsivo entre hembras y machos. Las hembras mostraron tener mayor atracción hacia el vinagre y el etanol en comparación a los machos luego de cinco minutos de exposición al odorante. Estos datos revelan que la atracción hacia estos compuestos es un comportamiento sexualmente dimórfico. Mientras que en el estudio con la menta y la vainilla, no hubo una diferencia significativa entre machos y hembras en el índice de repulsión (Figura II.) Similar al estudio de Wang et al. (2021) la menta tuvo un índice de repulsión mayor en comparación al grupo control para hembras y machos. Estos datos sugieren que la menta es un gran candidato en el desarrollo de repelentes caseros para manejar las plagas.

Al comparar la media de las moscas hembras y machos repelidas del grupo control con la media del grupo expuesto a la menta y el grupo expuesto a la vainilla mediante el análisis estadístico de la prueba-t obtuvimos un valor $p < 0.00009$ y $p < 0.0022$ respectivamente, de modo que hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos sugiriendo que la aversión a la menta y a la vainilla fue marcada. Por otra parte, al comparar el grupo de moscas hembras y machos atraídas del grupo control vs el grupo expuesto al vinagre también obtuvimos un valor $p < 0.001$ estableciendo que la atracción fue significativa, mientras que en el caso del alcohol el valor p fue de 0.07 lo cual nos indica que aunque hubo atracción la misma no fue tan marcada como en el caso del vinagre, sin embargo esto podría deberse a que la concentración del etanol fue de un 95% (Giang et al., 2017) y eventualmente resultó ser nocivo para estas en menos de 24hrs, lo cual más que un repelente podría funcionar como insecticida en esas altas concentraciones. Sería recomendable repetir el experimento tomando en cuenta distintas concentraciones de etanol.

Conclusiones

Podemos concluir que tanto el vinagre como el etanol son sustancias que atraen a las moscas y por lo tanto se pueden utilizar en la construcción de trampas mientras que la vainilla y la menta son sustancias que pueden ser utilizadas para el desarrollo de repelentes caseros y para el manejo de plagas ya que tanto las moscas macho como las hembras mostraron un alto grado de aversión a estos dos odorantes.

Agradecimiento

Parte de este trabajo fue subvencionado por la National Science Foundation (Grant No. 2147012). Agradezco al equipo de trabajo del Laboratorio del Dr. Alfredo Ghezzi por la guía y el apoyo brindado durante este internado de investigación en especial a Airined Montes. Además agradezco a la UPR de Río Piedras y a todos los componentes del proyecto BIORETS por la oportunidad brindada.

Referencias

Schumann, I., Berger, M., Nowag, N. et al. Ethanol-guided behavior in *Drosophila* larvae. *Sci Rep* 11, 12307 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91677-3>

Renkema, J. M., Wright, D., Buitenhuis, R., & Hallett, R. H. (2016). Plant essential oils and potassium metabisulfite as repellents for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Scientific reports*, 6, 21432. <https://doi.org/10.1038/srep21432>

Pv, D., Priyanka, Swarna, R.R., & Akshaya, S. (2012). GENOTOXICITY OF BENZALDEHYDE IN *Drosophila melanogaster* USING THE WING SOMATIC MUTATION AND RECOMBINATION TEST (SMART) AND PROTEIN PROFILING.

Martin, F., Boto, T., Gomez-Diaz, C., & Alcorta, E. (2013). Elements of olfactory reception in adult *Drosophila melanogaster*. *Anatomical record* (Hoboken, N.J. : 2007), 296(9), 1477-1488. <https://doi.org/10.1002/ar.22747>

Boonen, B., Startek, J. B., Milici, A., López-Requena, A., Beelen, M., Callaerts, P., & Talavera, K. (2021). Activation of *Drosophila melanogaster* TRPA1 isoforms by Citronellal and Menthol. *International journal of molecular sciences*, 22(20), 10997. <https://doi.org/10.3390/ijms222010997>

Ai, M., Min, S., Grosjean, Y., Leblanc, C., Bell, R., Benton, R., & Suh, G. S. (2010). Acid sensing by the *Drosophila* olfactory system. *Nature*, 468(7324), 691-695. <https://doi.org/10.1038/nature09537>

Faucher, Cécile & Forstreuter, Manfred & Hilker, Monika & Bruyne, Marien. (2006). Behavioral responses of *Drosophila* to biogenic levels of carbon dioxide depend on life-stage, sex and olfactory context. *The Journal of experimental biology*, 209, 2739-48. [10.1242/jeb.02297](https://doi.org/10.1242/jeb.02297).

Giang, T., He, J., Belaidi, S., & Scholz, H. (2017). Key Odorants Regulate Food Attraction in *Drosophila melanogaster*. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 11, 160. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00160>

Wang, Q., Xu, P., Sanchez, S., Duran, P., Andrezza, F., Isaacs, R., & Dong, K. (2021). Behavioral and physiological responses of *Drosophila melanogaster* and *D. suzukii* to volatiles from plant essential oils. *Pest Management Science*. [doi:10.1002/ps.6282](https://doi.org/10.1002/ps.6282)

Antonia Strutz, Jan Soelster, Amelie Baschwitz, Abu Farhan, Veit Grabe, Jürgen Rybak, Markus Knaden, Michael Schmucker, Bill S Hansson, Silke Sachse (2014) Decoding odor quality and intensity in the *Drosophila* brain *eLife* 3:e04147. <https://doi.org/10.7554/eLife.04147>

Laisue, P. P., & Vosshall, L. B. (2008). The olfactory sensory map in *Drosophila*. *Advances in experimental medicine and biology*, 628, 102-114. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78261-4_7