

# Universidad Autónoma de Aguascalientes Centro de Ciencias Básicas Departamento de Biología

## BÚSQUEDA DE NUEVOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PICUDO DE LA GUAYABA Conotrachelus dimidiatus EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Alumno: Xóchitl Haidé García Díaz

Co- tutor: Dr. Felipe Tafoya Rangel

Co- tutor: Dra. Olga Lidia Rivera Dávila

Aguascalientes, Aguascalientes, 02 de junio del 2022.

#### DATOS GENERALES

Titulo del proyecto: BÚSQUEDA DE NUEVOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PICUDO DE LA GUAYABA Conotrachelus dimidiatus EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Alumno: Xóchitl Haidé García Diaz

Dirección: Diego Rivera #237, Lomas de Santa Anita, Aguascalientes, Ags. C. P. 20169

Número telefónico: (449)4928668

Correo electrónico: al188642@edu.uaa.mx

Co- Tutor: Dr. Felipe Tafoya Rangel Centro: Centro de Ciencias Básicas

Departamento: Biología

Grado académico: Doctorado

Correo electrónico: felipe.tafoya@edu.uaa.mx

Co- Tutor: Dra. Olga Lidia Rivera Dávila

Centro: Centro de Ciencias Básicas

Departamento: Biología

Grado académico: Doctorado

Correo electrónico: olrida@hotmail.com

FIRMA DEL CO-TUTOR

De France Corons C

FIRMA DEL GO-TUTOR

Dra Olga Lidia Rivera D.

FIRMA DEL ALUMNO

Kachitl Haide Garia Diaz



Comité de Evaluación de Tesinas María de los Dolores Barba Ávila Jefa del Departamento de Biología de la UAA PRESENTE. -

La presente es con la finalidad de informarle que he revisado y evaluado el avance de la Tesina I, denominada: "Búsqueda de nuevos compuestos bioactivos del picudo de la guayaba Conotrachelus dimidiatus en condiciones de laboratorio" que lleva a cabo la alumna Xóchitt Haidé García Díaz, ID 188642 como parte del plan de estudios 2012 de la carrera de Biología. Después de haber revisado las actividades y metas programadas para este periodo, y de haber analizado los productos evaluables generados durante el semestre enero-junio de 2022, certifico que el trabajo lleva el avance planeado, por lo cual considero que la tesina I, ha sido:

## Acreditada

Y le asigno una calificación de 9.5. Sin otro asunto a tratar por el momento, reciba un cordial saludo.

> A t e n t a m e n t e Aguascalientes, Ags., 02 de junio de 2022

> > Dr. Felipe Tafoya Rangel Profesor Investigador Titular C Departamento de Biología Co-tutor del proyecto de tesina felipe.tafoya@edu.uaa.mx



Comité de Evaluación de Tesinas María de los Dolores Barba Ávila Jefa del Departamento de Biología de la UAA PRESENTE. -

La presente es con la finalidad de informarle que he revisado y evaluado el avance de la Tesina I, denominada: "Búsqueda de nuevos compuestos bloactivos del picudo de la guayaba Conotrachelus dimidiatus en condiciones de laboratorio" que lleva a cabo la alumna Xóchiti Haidé García Díaz, ID 188642 como parte del plan de estudios 2012 de la carrera de Biología. Después de haber revisado las actividades y metas programadas para este periodo, y de haber analizado los productos evaluables generados durante el semestre enero-junio de 2022, certifico que el trabajo lleva el avance planeado, por lo cual considero que la tesina I, ha sido:

### Acreditada

Y le asigno una calificación de 10. Sin otro asunto a tratar por el momento, reciba un cordial saludo.

> A t e n t a m e n t e Aguascalientes, Ags., 02 de junio de 2022

> Dra. Olga Lidia Rivera Dávila Profesor Investigador Posdoctoral Universidad Autónoma de Aguascalientes Departamento de Biología

Co-tutor del proyecto de tesina olrida@hotmail.com

#### INTRODUCCIÓN

El picudo de la guayaba *Conotrachelus dimidiatus* (Champion) es un coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae y es plaga del cultivo de la guayaba (*Psidium guajava* L.) afectando la utilización de la fruta para consumo en fresco y para industria (González-Gaona *et al.*, 2002).

La industria agroalimentaria de la guayaba tiene un gran valor en México; con cifras que oscilan entre 22,000 ha y una producción de 294,000 ton anuales (SIAP 2018). Siendo el municipio de Calvillo, Aguascalientes, el pionero en la producción comercial de este cultivo (FRUCASA, 2008).

En los huertos de *P. guajava* se han detectado varias plagas recurrentes como la presencia del insecto *C. dimidiatus*, la mosca de la fruta (*Anastrepha striata* Schiner), temolillos (*Cyclocephala lunulata* Burmeister) y nemátodos noduladores *Meloidogeynes* spp (González-Gaona, 1994). Varios estudios han demostrado que *C. dimidiatus* es la especie que ha tomado más relevancia en los últimos años y es causante de afectaciones directas al producto comercial de hasta 60% cuando no se le combate (Vargas-Madriz *et al.* 2019); esto se debe a que realiza su ciclo de vida dentro del fruto en donde la larva se desarrolla y hace que los frutos maduren prematuramente (García-Díaz *et al.*, 2020).

Es así, como el comportamiento de *C. dimidiatus* está directamente relacionado con las afectaciones al fruto de la guayaba desde sus primeras etapas de desarrollo y dicho comportamiento podría sugerir una alteración del flujo continuo de savia y nutrimentos a través del floema y xilema, lo que altera el desarrollo y crecimiento del fruto (Tafoya *et al.*, 2010) además de afirmarse que la presencia general de larvas está asociada con factores como la disminución del peso, longitud, diámetro y contenido de vitamina C del fruto de guayaba (Vargas-Madriz., 2019).

Todas las plantas en general sintetizan y emiten una gran variedad de compuestos orgánicos volátiles (COV's), los cuales poseen funciones ecológicas importantes. En la mayoría de los casos, a temperatura ambiente los compuestos orgánicos volátiles de las plantas son gases, algunos son emitidos por las plantas especialmente de las partes vegetativas cuando están expuestas a estimulo biótico o abiótico (Dong et al., 2016; Scala et al., 2013). Los compuestos orgánicos volátiles son importantes para las plantas, son producidos y emitidos por hojas, frutos, flores y raíces, como mecanismos de defensa para repeler insectos o detener la colonización por bacterias y hongos patógenos, para promover la reproducción al atraer polinizadores o dispersores de semillas, son mensajeros intraespecíficos e interespecíficos (Ángeles et al., 2012; Dicke et al., 2010; Marín & Céspedes, 2007; Sharma et al., 2012).

#### **ANTECEDENTES**

Se cuenta con el antecedente de que *Conotrachelus psidii* (Marshall) se ve influenciado por varios compuestos orgánicos volátiles emitidos por la guayaba en huertos de Colombia. Estos son detectados por los sensilios o las células receptoras olfatorias del insecto (Romero-Frías *et al.*, 2015). En correspondencia, para conocer la relación entre *C. dimidiatus* y el fruto de la guayaba en Aguascalientes, estudios en ecología química son necesarios para conocer la identidad de los compuestos orgánicos volátiles (COV) de la planta de guayaba hacia los cuales *C. dimidiatus* tiene una respuesta (bioactivos) y emplear esta información en una estrategia ecológica para el manejo de las poblaciones dañinas del picudo de la guayaba.

Estudios recientes proporcionan primeras evidencias de bioensayos con las técnicas de electroantenografía y olfatometría en busca de respuestas conductuales de los *Conotrachelus dimidiatus* a ciertos compuestos orgánicos volátiles que se encuentran en el fruto (maduro e inmaduro) de la planta de la quayaba (planta huésped). Dichos compuestos volátiles podrían ser utilizados por los

adultos del *C. dimidiatus* como kairomona para encontrar sitios de alimentación y oviposición (García-Díaz *et al.*, 2020). Dado que varios estudios científicos han demostrado que los picudos de los *C. dimidiatus* se basan en el olor de los COV que emite la fruta de la guayaba inmadura para llegar hasta ella y dañarla, es determinante el conocimiento a fondo cada uno de los COV a los que se tenga acceso ya que de ello dependerá la implementación de soluciones para deshacerse de esta plaga.

La formación de los COV en la guayaba es un proceso dinámico en el cual la concentración de los constituyentes cambia tanto cuantitativa como cualitativamente según la variedad, el estado de madurez y la procedencia. Existen diferentes análisis cromatográficos de gases SHS-SPME (EI-GC / Q-ToF-MS) del fruto inmaduro de guayaba que muestran la presencia de varios COV, entre ellos: cariofileno, limoneno, hexanal y nonanal. Se han realizado estudios para evaluar el comportamiento y respuestas electrofisiológicas del picudo a semioquímicos seleccionados emitidos por la fruta de la planta huésped, ciertos compuestos orgánicos volátiles aislados de la planta como β-cariofileno, limoneno, hexanal, y nonanal atrajeron significativamente a adultos de ambos sexos en bioensayos conductuales; los resultados de las pruebas con dichos volátiles arrojaron que el nonanal fue preferido en un 14% (García-Díaz *et al.*, 2020). Otros autores también han observado, en sus respectivas investigaciones, la presencia de nonanal en capullos y la flor abierta de guayaba sin embargo no pudieron detectarlo en frutos inmaduros (García-Díaz *et al.*, 2020). El nonanal aldehído de cadena lineal con fórmula simplificada: C9H18O es uno de los compuestos orgánicos volátiles detectados en la composición química del fruto de la guayaba.

Diversos trabajos que utilizan cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas reportan la identificación de los compuestos volátiles liberados por frutos de la guayaba que tienen daños de oviposición considerando las siguientes situaciones: a) volátiles emitidos por frutos afectados por *C. dimidiatus* en condiciones de campo y b) volátiles emitidos por frutos ovipositados bajo infestación inducida en laboratorio. Estos compuestos volátiles se podrían emplear como disuasivos de oviposición para las hembras y reducir oviposturas en huertos comerciales por el picudo de la guayaba; (González-Gaona *et al.*, 2021). Además, se ha determinado que la emisión de volátiles en guayaba varía según la hora del día, por ejemplo: el limoneno que es uno de los volátiles más abundantes, es emitido por el pericarpio de los frutos inmaduros y presenta una mayor emisión nocturna (Elizalde-González & Segura-Rivera, 2018).

En los frutos con oviposturas de campo se detectaron compuestos como: cariofileno, Alfa pineno, D-limoneno, selineno, Alfa-humuleno, Beta-cadineno, Alfa-copaeno, aromadendreno, Beta-bisaboleno, Beta-mirceno, benzaldeido, neoallocimeno, farneseno, y Gamma-curcumeno. Asimismo, se detectaron nueve compuestos no reportados en los frutos inmaduros sanos como: gamma-terpineno, 2-careno, nerolidol, linalool,1-benzazole, thujopseno, triciclo y alfa-bisabolol, (González-Gaona *et al.*, 2021).

Mediante técnicas de SPME aplicada a guayabas tanto inmaduras como maduras fueron identificados en mayor presencia los siguientes COVs:  $\beta$ -Cariofileno, (-)- $\alpha$ -Copaeno, (+)-Aromadendreno,  $\alpha$ -Humuleno, (E,E)- $\alpha$ -Farneseno, (E,Z)- $\alpha$ -Farneseno, (S)-Limoneno, cis-3-Acetato de hexilo, Benzoato de etilo, Ácido geránico, cis-3-Butirato de hexilo, entre otros (Segura-Rivera, 2017).

Adicionalmente, es de gran importancia utilizar los métodos y estrategias experimentales adecuadas para la identificación de los COV que atraen al picudo de la guayaba puesto que ahí radica, en gran medida, el éxito de las investigaciones y por ende la contribución para el desarrollo de nuevas estrategias de monitoreo y control de esta plaga. En este sentido tenemos que los olfatómetros de flujo de aire se usan en estudios encaminados a la detección y medición de respuestas de atracción de insectos a señales olfativas emitidas en distancias largas y medianas, ya que permiten evaluar conductas de anemotaxis desencadenadas por aromas contenidos en una corriente de aire (López-Ávila & Rincón, 2006). Experimentalmente, los olfatómetros de tubo en Y son los más comunes; en estos los insectos tienen la posibilidad de elegir entre aire cargado de olor (tratamiento con el COV de estudio) y aire libre de olor (control) o entre dos fuentes de olor distintas (López-Ávila & Rincón, 2006).

Por medio de los olfatómetros en Y es factible llevar a cabo una experimentación confiable ya que se permite el discernimiento de elección por parte del insecto al existir 2 opciones de ruta, en donde en una de ellas se encuentra el COV en estudio.

#### **JUSTIFICACIÓN**

Se sigue avanzando en el conocimiento de cómo explotar la información de los compuestos orgánicos volátiles de las plantas para desarrollar nuevas estrategias para el control de plagas. Todos los estudios que se llevan a cabo en compuestos volátiles de la planta de la guayaba coadyuvan a reducir el impacto de insecticidas sobre los agrosistemas, mejorando la calidad y productividad agrícola y disminuyendo los costos de producción de cultivos impactando de manera positiva las condiciones socioeconómicas de los productores agrícolas. Es necesario realizar más estudios para identificar los compuestos orgánicos volátiles que rigen el comportamiento dirigido por el olfato del picudo de la guayaba, esto ayudará a formular nuevas y mejores estrategias para su control, asimismo se puede aprender más sobre la manipulación de los compuestos volátiles para mejorar la eficiencia de agentes de control biológico en el manejo de esta plaga.

Con este trabajo se busca promover el manejo ecológico de *C. dimidiatus* por medio del conocimiento de nuevos COVs de la guayaba utilizando técnicas olfatométricas y antenográficas e investigando y analizando la respuesta de atracción que provocan en adultos del picudo; de esta manera será posible conocer el potencial que tienen algunos COVs para atraerlos e impedir su llegada a los frutos de los árboles del guayabo promoviendo así su desplazamiento hacia las trampas con compuestos sintéticos.

#### **HIPÓTESIS**

Los compuestos orgánicos volátiles aislados de la fruta de guayaba pueden provocar una respuesta comportamental en adultos de picudo de guayaba que puede ser evaluado por medido de técnicas olfatométricas y electroantenográficas en condiciones de laboratorio.

#### **OBJETIVO GENERAL**

Realizar bioensayos en laboratorio para evaluar la respuesta olfativa de adultos de *C. dimidiatus* hacia diferentes compuestos orgánicos volátiles.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1. Efectuar pruebas olfatométricas para evaluar la respuesta de adultos de *C. dimidiatus* a compuestos orgánicos volátiles.
- 2. Llevar a cabo pruebas antenográficas a fin de evaluar la respuesta de adultos de *C. dimidiatus* a compuestos orgánicos volátiles.

#### **METODOLOGÍA**

#### Insectos

Los adultos de *C. dimidiatus* serán recolectados con una manta en el piso y sacudiendo el árbol de huertos de guayaba en Calvillo, Aguascalientes, para los experimentos olfatométricos y electro

antenográficos (EAG). Los insectos serán transportados al laboratorio de Ecología, Centro de Ciencias Básicas, en frascos de polietileno. Serán separados por sexo después de su llegada utilizando claves dicotómicas según Salas-Araiza & Romero-Nápoles (2012). Se mantendrán por separado en frascos de polietileno y alimentados con frutos de guayaba inmaduros en el laboratorio bajo un fotoperíodo de 12:12 (L:D) h a 23°C y 24% HR.

#### Compuestos químicos

Si bien se tienen ya ubicados compuestos como el nonanal, 2 hexanal y alfa copaeno, serán empleados compuestos químicos reportados como volátiles en frutos del hospedero: etapas inmadura, madura o en la ovipostura y que se reporten con mayor presencia según lo mencionado en los trabajos de (García-Díaz et al., 2020, González-Gaona et al., 2021, Segura-Rivera, 2017). Los compuestos definitivos se obtendrán de fuentes comerciales (Sigma-Aldrich, Bedoukian) y de la colaboración con el Centro de Química, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). La selección final de los compuestos a evaluar estará en función de su disponibilidad, costo comercial y permisos de importación a México.

#### Bioensayos de olfatometría

Se utilizarán 20 individuos (10 machos y 10 hembras) colectados en condiciones de campo previamente descritas. Se utilizará un olfatómetro de vidrio en forma de "Y" colocado dentro del túnel de viento en Área de bioensayos de Ecología (UAA) con una extensión en el tubo base de 15 cm y dos brazos de 12 cm a 75° de inclinación. Aire purificado será bombeado a través de los brazos del tubo a un ritmo de 1 litro por minuto. La iluminación del cuarto será provista por un foco infrarrojo, en un cuarto oscuro, ya que en estudios anteriores se ha denotado una tendencia de actividad nocturna de C. dimidiatus, por lo cual los bioensayos comenzaran a las 20:00 hrs. Se pondrá una tira liberadora de papel filtro con una muestra del COV seleccionado preparada en hexano en un brazo del tubo, mientras que, en el tubo aledaño, se pondrá una tira de papel filtro (12.5 × 6 mm) con 10  $\mu$ l de hexano como control, posteriormente se liberará ya sea un individuo macho o hembra de C. dimidiatus en el tubo central durante 5 minutos. Se contará como resultado positivo o negativo si el individuo permanece más de un minuto en cualquiera de los tubos laterales. La prueba será repetida tres veces a diferentes concentraciones del COV en experimentación, las cuales serán 1000  $\mu$ l, 10  $\mu$ l y 10 nl. Después de cada prueba, el olfatómetro se rotará 180 ° y después de cada cambio de concentración se limpiará con acetona y extran y se secará a 100 ° C en horno durante 2 h.

#### Experimentos de electroantenografía

Un par de antenas de machos y hembras de *C. dimidiatus* serán cortadas desde el escapo antenal usando pinzas de disección y microscopio estereoscópico. La antena será extirpada y montada en medio de dos electrodos, y fijada con gel para garantizar un buen contacto eléctrico. Las señales serán adquiridas con un control de interfaz de señales y un controlador de flujo. En el experimento, un controlador de aire proveerá aire humidificado hacia la antena (45 ml/min). El compuesto a utilizar será el COV, utilizado en el experimento de olfatometría, a diferentes concentraciones (1000 µl, 10 µl y 10 nl) aplicado a una tira liberadora de papel filtro (10 × 6 mm), permitiendo al solvente evaporarse, estas serán colocadas dentro de una pipeta Pasteur, donde el orificio del tubo de vidrio será orientado hacia las antenas. Los estímulos del volátil serán proporcionados como bocanadas (2 segundos de duración a 45 ml/min). Diez bocanadas del mismo volátil serán proporcionadas con 30 segundos de diferencia entre cada una desde un controlador de flujo modelo CS-55 (SYNTECH, Hilversum, Países Bajos). Las respuestas serán registradas mediante un controlador de interfaz (modelo IDAC-2) y el software EAG Pro-2000; su amplitud será considerada absoluta. Se probarán diez inhalaciones de cada concentración con un par de antenas, después de utilizar el par de antenas, estas serán descartadas para probar otra

concentración. Para cada concentración, el procedimiento se repetirá dos veces con antenas frescas. Se descartará la primera y última respuesta diferencial, y se registrará el valor medio de cada ocho inhalaciones.

#### Análisis estadísticos

Se realizará utilizando una distribución binomial, dado que el experimento consistirá en un olfatómetro de dos vías, este tendrá dos posibles respuestas. Se elaborará una tabla de contingencia de 2x2 y una prueba de ji-cuadrada para comparar la respuesta de machos y hembras al control (hexano) y al COV en prueba. Se comparará la porción de hembras y machos que elijan el brazo del olfatómetro con el atrayente o el control y se excluirán a los que no respondan. La hipótesis nula será que el sexo del insecto y la respuesta olfativa hacia diferentes compuestos son independientes entre sí.

#### **RESULTADOS E INFORMACIÓN TÉCNICA**

#### Informe de actividades realizadas en la Tesina I

Actividades programadas	Grado de avance en porcentaje	Producto generado		
Revisión bibliográfica	100%	Anteproyecto		
Pruebas piloto con antenas y	100%	Habilidad en corte, montaje de		
adultos de otras especies		antenas, registro de respuesta		
		en los equipos de laboratorio y		
		mayor habilidad en las		
		técnicas experimentales		
Introducción al laboratorio de	100%	Habilidad en la realización de		
Bioensayos y conocimiento		bioensayos y manejo de		
del equipo		insectos en condiciones de		
		laboratorio		
Cotización, selección y	100%	Disponibilidad de compuestos		
compra de los COV's para		para las pruebas		
experimentos en laboratorio		experimentales		
Revisión teórica y práctica de	100%	Conocimiento entomológico y		
biología general de C.		sexado de picudos <i>C.</i>		
dimidiatus		dimidiatus		
Muestreo, recorridos y	En curso (25%)	Selección de los predios, y		
colectas de picudos adultos en		disponibilidad de materiales		
campo		para colectas cuando emerjan		
		los insectos adultos		
Informe semestral y propuesta	100%	Reporte semestral de avances		
para tesina II		de tesina y propuesta para		
		tesina II		

#### Revisión bibliográfica

Se estuvo trabajando durante los primeros meses del año en revisiones bibliográficas para la entrega del anteproyecto, el cual fue revisado y aprobado por el comité de revisión; así mismo a lo largo de estos meses se ha dado seguimiento a los artículos y seminarios que involucran el proyecto, tanto de la UAA como de la BUAP y se han revisado diversos puntos de vista y acatado nuevos conceptos en cuanto a materia de los compuestos a elegir, para poder de esa manera comenzar el diseño experimental del trabajo en campo (colocación de trampas) y de laboratorio (bioensayos y pruebas EAG). Para la gestión del área experimental, se hizo la revisión de varios predios en Calvillo, en colaboración con los agricultores y de acuerdo a los objetivos necesarios se seleccionaron dos predios distintos, el primero, sin ningún tipo de aplicación de plaguicidas para poder colocar las trampas y tener el éxito esperado, el segundo, con aplicación de los plaguicidas permitidos. Una vez delimitado el predio y esperando las condiciones climáticas adecuadas, se estima para las semanas siguientes la captura de adultos de *C. dimidiatus* por medio del método de manteo, y al mismo tiempo la colocación de las trampas con los compuestos y diluciones correspondientes por medio de liberadores. Se estima que, durante los meses siguientes, se colecten adultos y con ello poder comenzar a efectuar las pruebas experimentales de acuerdo a los objetivos planteados en este estudio.

#### Pruebas piloto con antenas y adultos de otras especies

Se efectuaron las pruebas correspondientes con insectos del orden Blattodea en condiciones de limpieza dentro del laboratorio #1, en donde se obtuvo el conocimiento y habilidad necesaria para el manejo del equipo para las pruebas Electro antenográficas y los instrumentos para disección. Todo esto marco el inicio de las pruebas futuras que se harán con adultos de *C. dimidiatus*. (Imágenes en anexo).

#### Introducción al laboratorio de Bioensayos y conocimiento del equipo

Se trabajó en el área de Bioensayos y se implementó el método sugerido con ayuda de insectos del orden Himenóptera en el cual se adquirió habilidad con el manejo del equipo, los tiempos requeridos y el orden en el que se efectuarán las pruebas con adultos de *C. dimidiatus*. Así mismo en días posteriores se hicieron mejoras en el método, integrando nuevos elementos, los cuales ayudarán a que los resultados de las pruebas salgan lo más limpios y precisos posibles. (Imágenes en anexo).

#### Conocimiento entomológico y sexado de picudos C. dimidiatus

Se revisó bibliografía afín a la biología de *C. dimidiatus* y en el laboratorio con ayuda de un microscopio estereoscópico e instrumentos de disección se hizo revisión práctica de su morfología y su dimorfismo sexual para tener experiencia en su correcta identificación en los estudios que se estarán efectuando las próximas semanas. (Imágenes en anexo).

#### Cotización, selección y compra de los COV's para experimentos en laboratorio

Se hizo una investigación acerca de los compuestos asociados a daño por ovipostura en la guayaba y se determinó en conjunto con el instituto de química de la BUAP, una tabla de revisión de cada compuesto, incluyendo el laboratorio que lo maneja, la cantidad, el costo y la existencia, para así determinar que compuestos se utilizarán, dando como resultado (Nonalal, β-Cariofileno).

#### Muestreo, recorridos y colectas de picudos adultos en campo

Se efectuó una inspección detallada de os predios trabajados con anterioridad en este estudio y se determinaron dos predios en el área de Calvillo, por sus condiciones de aplicación y de no aplicación de pesticidas respectivamente, lo que dará al estudio un enfoque comparativo en los resultados, quedando establecidos la localidad de "Mesa Grande" (21° 48′ 38′′ N; 102° 43′ 38′′ O) y "Piedras chinas en Calvillo", Aguascalientes.

Serán instaladas trampas y se realizarán manteos para la recolección de picudos. Acerca de la colecta de picudos se están esperando el inicio de la temporada de lluvias para su emergencia y posterior captura. Mientras tanto se está trabajando a la par con el uso de método de manteo y haciendo acopio de los materiales y herramientas a utilizar. Se estima que esta actividad se pueda finalizar de manera total entre este los meses de junio a septiembre. (Imágenes en anexo).

#### Conocimiento entomológico y sexado de picudos C. dimidiatus

A la par del trabajo descrito en metodología, se hicieron estudios teóricos y prácticos acerca de la biología y morfología de nuestro organismo de estudio, esto con la finalidad de poder comparar su tamaño y estructuras entre los sexos de *C. dimidiatus* y entre otras especies de Conotrachelus reportadas como vistas en el estadio en años anteriores. (Imágenes en anexo).

#### **CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES**

#### **Actividades para Tesina II**

Actividades por realizar	Semestre julio-noviembre 2022					bre	Producto evaluable
	jul	ago	sep	oct	nov	jun	
Muestreo y colectas en campo	X	Х					Insectos y material vegetal para experimentos y mantenimiento de cría en laboratorio
Trabajo experimental de olfatometría en el laboratorio		Х					Obtención de datos experimentales del comportamiento de atracción o repelencia
Trabajo experimental de electroantenografía en el laboratorio			X				Obtención de datos experimentales de respuesta positiva o negativa a los COV´s
Realización de análisis estadísticos				Х			Tablas, gráficos y pruebas estadísticas
Redacción del documento final y entrega de la tesina					X		Documento revisado, corregido y con firmas de los co-tutores
Presentación final de tesina						Х	Presentación de tesina

#### Literatura Citada

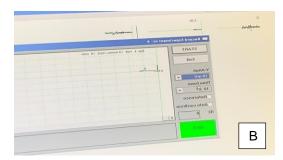
Ángeles, L., Martínez, G., Ramírez, R., López, M. G., Sánchez, H. C. & Délano, F. (2012). Cross-Kingdom effects of plant-plant signaling via volatile organic compounds emitted by tomato (*Solanum lycopersicum*) plants infested by the greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). J. Chem. Ecol. 38(11), 1376-1386.

- Dicke, M. & Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. Trends Plant Sci. 15(3), 167-175.
- Dong, F., Watanabe, N., Su, X. & Yang, Z. (2016). Recent advances in the emission and functions of plant vegetative volatiles. Molecules. 21(2), 1-10.
- Elizalde-González, M. P. & Segura-Rivera, E. J. (2018). Volatile compounds in different parts of the fruit *Psidium guajava* L. cv "Media China" identified at distinct phenological stages using HS-SPME-GC-QTOF/MS. Phytochemical Analysis, 29(6), 649-660
- Fruticultores de Calvillo S. A. de C. V. (FRUCASA). (2008). Estudio orientado a identificar las necesidades de la infraestructura logística en la cadena de suministro de la guayaba (*Psidium guajava* L.) para la exportación a Estados Unidos. FRUCASA\_RE.
- García-Díaz E., Tafoya F., Elizalde-González MP. (2020). Behavioral and Electroantennographic Responses of Adults of Guava Weevil, *Conotrachelus dimidiatus* (Coleoptera: Curculionidae), to Synthetic Host-Associated and Conspecific Volatiles. Environmental Entomology. 49 (4), 810-814.
- González-Gaona, E. (1994). Picudos del genero *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae) asociados a guayaba *Psidium guajava* L. y su importancia en el cañón de Juchipila, Zacatecas. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Coahuila, México. 77 p
- González-Gaona, E., Padilla-Ramirez, F., Villagrana-Esquivel, M. A., Perales de La Cruz, & Reyes L. (2002). Guayaba, su cultivo en México. INIFAP, Aguascalientes, México.
- González-Gaona, E., Silos-Espino H., Padilla-Ramírez, J. S., Tafoya F., De Lira-Ramos, K., Sánchez-Lucio, R., Perales-Aguilar L., Miranda-Salcedo, M. & Perales-Segovia, C. (2021). Identificación de Volátiles de Frutos de Guayaba Ovipositados por el Picudo de la Guayaba *Conotrachelus dimidiatus* (Champion). Southwestern Entomologist. 46(4), 1001-1009
- López-Ávila A., Rincón D.F. (2006). Diseño de un olfatómetro de flujo de aire para medir respuestas olfativas de insectos de tamaño mediano y pequeño. Revista Corpoica–Ciencia y Tecnología Agropecuaria 7(1), 61-65.
- Marín, L. J. C. & Céspedes, C. L. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. Rev. Fitotec. Mex. 30(4), 327-351.
- Romero-Frías, J., Simões-Bento, C., Osorio. (2015). Chemical signaling between guava (*Psidium guajava L., Myrtaceae*) and the guava weevil (*Conotrachelus psidii Marshall*)', Rev. Fac. Ciencias Básicas. 11, 102-113.
- Salas-Araiza, M., & J. Romero-Nápoles. (2012). Especies de Conotrachelus (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) asociadas a guayaba y descripción de una nueva especie. Rev. Colomb. Entomol. 38, 124-127.
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A. & Schuurink, R. C. (2013). Green Leaf Volatiles: A Plant's Multifunctional Weapon against Herbivores and Pathogens. Inter. J. Mol. Sci. 14(9), 17781-17811.
- Segura-Rivera, E. J. (2017). Caracterización química e identificación de compuestos orgánicos volátiles de la guayaba mexicana (Psidium guajava) variedad "Media China". Tesis. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 117p.
- Sharma, H. C., Ward, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhro, A. H., Hussain, B. & Ignacimuthu, S. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. Plant Signaling and Behavior. 7(10), 1306-1320.
- Tafoya, F., C. Perales-Segovia, C., González-Gaona, E. & Calyecac-Cortero, H. G. (2010). Fruit damage patterns caused by ovipositing females of *Conotrachelus dimidiatus* (Coleoptera: Curculionidae) in quava trees. Psyche, pp. 1-4.

Vargas-Madriz, H., Barrientos-Martínez, A., Cruz-Alvarez, O., Martínez-Damián, M. T., & Talavera-Villareal, A. (2019). Physicochemical quality parameters in guava fruit with presence of larvae of *Conotrachelus dimidiatus* (Champion) (Coleoptera: Curculionidae). Revista Chapingo Serie Horticultura, 25(2), 103-112.

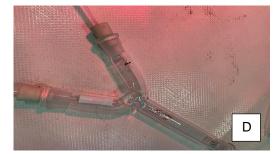
#### Anexos





A Disección de antenas de *Gromphadorhina portentosa* como práctica experimental, **B** Análisis del compuesto β- cariofileno como respuesta a la atracción en prueba del equipo de EAG



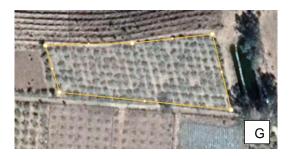


C Laboratorio de Bioensayos y equipo de Olfatometría en prueba y experimentación, D Prueba de los elementos del equipo con organismos de la familia Formicidae





E Adultos de C. dimidiatus y su dimorfismo sexual vistos en microscopio estereoscópico (Izquierda hembra, derecha macho), F Hembra adulta de C. dimidiatus vista en microscopio estereoscópico, el tamaño de su pico como una característica representativa de su sexo



G Geolocalización del predio a trabajar, ubicado en Localidad: Mesa Grande, Calvillo, Aguascalientes

