



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN
CIENCIAS AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGÍA VEGETAL

RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL MANGO EN FUNCIÓN DEL

DAÑO POR ESCAMA BLANCA DEL MANGO (*Aulacaspis*

***tubercularis* Newstead)**

PABLO JUÁREZ HERNÁNDEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2014

La presente tesis, titulada: **Respuesta fotosintética del mango en función del daño por escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead)** realizada por el alumno: **Pablo Juárez Hernández**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGÍA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: _____
DR. VÍCTOR A. GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

ASESOR: _____
DR. GABRIEL OTERO COLINA

ASESOR: _____
DR. J. ANTONIO MORA AGUILERA

ASESOR: _____
DR. DANIEL TÉLIZ ORTÍZ

ASESOR: _____
DR. ELÍAS HERNÁNDEZ CASTRO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto 2014

RESUMEN GENERAL

RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL MANGO EN FUNCIÓN DEL DAÑO POR ESCAMA BLANCA DEL MANGO (*Aulacaspis tubercularis* Newstead)

Pablo Juárez Hernández, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014

En México una limitante de la producción del mango es la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead; Hemiptera: Diaspididae). La alimentación de los diaspididos y sus efectos fisiológicos no se han estudiado, pues en la literatura revisada no se encontraron reportes sobre el tema. Por ello se analizaron histológicamente los tejidos foliares de mango var. Manila que habían sido penetrados por el haz de estiletes (HE) de la hembra de escama blanca del mango, para determinar su ruta a través de los tejidos, detectar daños celulares en la hoja y conocer si el insecto se alimenta de savia del floema. También se evaluó el impacto de gradientes de infestación natural en campo e invernadero de esta escama en el contenido de clorofila, tasa instantánea de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s), concentración interna de CO_2 (C_i), en hojas maduras de mango de las variedades Manila y Ataúlfo; así mismo se determinó el comportamiento de cinéticas fotosintéticas (A/C_i) en hojas de mango Manila sanas e infestadas por escama blanca. Se usó un sistema de fotosíntesis portátil LI-6400® (LICOR, Inc., USA) y un equipo Minolta SPAD® 502. La penetración del HE es predominantemente intracelular a través del mesófilo; también puede atravesar células lignificadas del xilema y tejidos del floema, pero no permanece ahí sino que atraviesa por completo el haz vascular, incluyendo las fibras que lo envuelven. No se observó lisis ni colapso celular en el tejido

vegetal atravesado por el HE. No fue posible encontrar el HE completo hasta su punta, pero se pudo estimar que al menos triplica la longitud de la hembra (1 mm). La infestación redujo el contenido de clorofila únicamente en las zonas colonizadas. En cambio, la tasa instantánea de fotosíntesis neta disminuyó en las zonas infestadas, y también en la parte sana de una hoja con infestación, similar a un efecto sistémico. Las curvas A/C_i mostraron que la infestación redujo la fotosíntesis máxima (A_{max}), punto de saturación por CO_2 (P_{sat}), eficiencia de carboxilación de la Rubisco (ER), velocidad máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$), regeneración de ribulosa bifosfato (J) y, uso de triosas fosfato (TPU), a la vez que aumentó hasta el doble el punto de compensación por CO_2 (P_{comp}).

Palabras clave: *Aulacaspis tubercularis* Newstead, haz de estiletes, penetración foliar, curvas A/C_i , clorofila.

GENERAL ABTRACT

PHOTOSYNTHETIC RESPONSE OF MANGO IN FUNCTION OF MANGO WHITE SCALE (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) DAMAGE

Pablo Juárez Hernández, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014

In Mexico, white mango scale (*Aulacaspis tubercularis* Newstead; Hemiptera: Diaspididae) is a limiting factor for production. The Diaspididae feeding and their physiological effects have not been extensively studied. In addition, no reports were found about the topic in the literature. Because of this, mango 'Manila' leaf tissue that was previously penetrated the stylet bundle (SB) of the mango white scale adult female. This study was addressed to determine the SB path through tissues, to detect cell damage in the leaf and to know whether the insect feeds from phloem sap. The impact of natural gradients of mango white scale infestation under field and greenhouse conditions was evaluated on chlorophyll content, net assimilation rate (A), stomatal conductance (g_s), and internal CO_2 concentration (C_i) in mature leaves of mango 'Manila' and 'Ataúlfo' varieties. Photosynthesis kinetic curves (A/C_i) were also determined in healthy and infested 'Manila' mango leaves. A portable photosynthesis system LI-6400® (LICOR, Inc., USA) and a SPAD® Minolta 502 chlorophyll meter were used. It was no possible to find the whole SB inside the leaf tissue, but the estimated length is at least three-fold the female's length (1 mm). SB penetration is predominantly intracellular through mesophyll, but it can also cross the lignified xylem cells and the phloem tissue. The SB does not stay in the phloem but completely pass through the

vascular bundle including surrounding fibers. No lysis or cell collapse was observed in the plant tissue crossed by the SB. White scale infestation reduced chlorophyll content only in colonized areas. The net photosynthesis rate decreased in infested areas, but also in the healthy area of a leaf with low infestation, similar to a systemic effect. *A/Ci* curves showed that infestation reduced maximum photosynthesis (A_{max}), CO₂ saturation point (P_{sat}), Rubisco carboxylation efficiency (ER), maximum carboxylation rate ($V_{C_{max}}$), ribulose biphosphate regeneration (J), triose phosphate use (TPU), and increased to double the CO₂ compensation point (P_{com}).

Keywords: *Aulacaspis tubercularis* Newstead, stylet bundle, leaf penetration, *A/Ci* curves, chlorophyll.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero a través de mi beca sin la cual no hubiese podido haber realizado mis estudios de doctorado.

Al proyecto SAGARPA-CONACYT 48595, por el financiamiento para llevar a cabo la mayor parte de esta investigación, en particular las salidas a los estados de Veracruz y Guerrero.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en especial al PREGEP-Fisiología Vegetal, a sus directivos, personal académico y administrativo por brindarme los servicios y recursos durante mi formación profesional.

Al Dr. Víctor A. González Hernández, por todo el apoyo profesional como Consejero y Director de la presente tesis, al brindarme la oportunidad de incorporarme a su equipo de trabajo, pero sobre todo por su excepcional calidad humana, por la confianza y paciencia depositada en mi persona aunque muchas veces no correspondí de igual manera. Sinceramente muchas gracias.

Al Dr. J. Antonio Mora Aguilera por haberme dado la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo en el proyecto de mango.

A mis demás asesores, Dr. Gabriel Otero Colina, Dr. Daniel Téliz Ortiz y Dr. Elías Hernández Castro, quienes con su experiencia y profesionalismo me han guiado durante mi estancia en el CP. Agradezco su confianza y amistad.

Al Ing. Bioquímico Industrial Iván Ramírez Ramírez, gran amigo y compañero de viaje. Por su disponibilidad de tiempo para hacer los viajes a Veracruz y Guerrero, por ayudarme a hacer las mediciones y resolver mis dudas en la organización e interpretación de los datos de fotosíntesis, y por todas sus valiosas contribuciones al trabajo.

Al M. C. Jorge Valdez Carrasco, por las facilidades de laboratorio y de tiempo para la toma de fotografías y el manejo de imágenes, también por brindarme su amistad y confianza.

A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce por proporcionarme la técnica histológica, los reactivos y el laboratorio para llevar a cabo una parte de mi tesis.

Al Dr. Nicacio Cruz Huerta por su tiempo para hacer las mediciones de fotosíntesis, y por las sugerencias para mejorar este trabajo.

A los técnicos laboratoristas Ignacio Javier Zarco Hernández y Javier Carrillo, así como a la M. C. Yuridia Durán por su apoyo y amistad.

Al Ing. Miguel Ángel Cid y al C. Genaro Rodríguez, quienes nos otorgaron las facilidades para acceder a los huertos de mango en Guerrero y Veracruz, respectivamente.

A todos los maestros que en algún punto de mi trayectoria académica me han brindado parte de sus conocimientos.

A todas aquellas personas que por algún motivo no menciono en este momento pero que han contribuido en mi proceso doctoral.

DEDICATORIA

A Dios, por bendecirme con vida, salud y familia, por permitirme llegar a este punto de mi vida y culminar este proceso académico.

A mis padres: Isabel Hernández Martínez y Pablo Juárez Concepción, por todo el amor que incondicionalmente siempre me han dado, el cual es totalmente correspondido.

A mi esposa, compañera, amiga y cómplice: Sandra Guadalupe González Domínguez, por su amor, comprensión y regaños que me han ayudado a mejorar día a día.

A mis bellos hijos José Andrés y Paola Sofía, que con sus sueños, juegos e ilusiones han alegrado mis días.

A mis hermanos, cuñados y sobrinos que aún en la distancia sé que piensan en mí. Gracias por su amor, consejos, apoyo moral y económico.

A mi nueva familia: mis suegros Oliveria Domínguez Joaquín y Demetrio González Garduza y mis cuñados María de los Ángeles y Julio César, por su apoyo moral.

A mis grandes amigos M.C. Humberto Ramírez Gómez y Dr. Anselmo de Jesús Cabrera Hidalgo. A la Ing. en Irrigación Patricia Torres Díaz, porque siempre ha estado con nosotros incluso en los momentos difíciles.

A los amigos que conocí en mi estancia en el CP: Érika Miranda Villagómez, Mariana Palma Tenango, Emma Morales, Luis, César, Laura, Gregorio, Mayra, Viviana, Anaid y Erick Daniel Domínguez Pacheco.

ÍNDICE

RESUMEN GENERAL.....	ii
GENERAL ABTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA	viii
ÍNDICE.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS	5
LITERATURA CITADA.....	6
CAPÍTULO II. PATRÓN DE PENETRACIÓN FOLIAR DEL HAZ DE ESTILETES DE ESCAMA BLANCA DEL MANGO (<i>Aulacaspis tubercularis</i> Newstead)	8
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN.....	23
CONCLUSIONES.....	27

LITERATURA CITADA.....	28
CAPÍTULO 3. RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL MANGO EN FUNCIÓN DEL DAÑO POR ESCAMA BLANCA DEL MANGO (<i>Aulacaspis tubercularis</i> Newstead)	32
RESUMEN.....	32
ABSTRACT	34
INTRODUCCIÓN	36
MATERIALES Y MÉTODOS	40
RESULTADOS	47
DISCUSIÓN.....	63
CONCLUSIONES	70
LITERATURA CITADA.....	71
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN GENERAL.....	78
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES.....	82
LITERATURA CITADA.....	83

LISTA DE CUADROS

Cuadro 3.1. Contenido de clorofila en hojas maduras de mango (vars. Manila y Ataulfo) con diferentes grados de infestación por escama blanca del mango. (6 y 16 de mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz; 21 de mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero).	47
Cuadro 3.2. Tasa instantánea de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s), concentración interna de CO_2 (C_i) en hojas maduras de mango (vars. Manila y Ataulfo) con diferentes grados de infestación por escama blanca en campo e invernadero.	50
Cuadro 3.3. Tasa instantánea de fotosíntesis neta (A) de hojas de mango var. Manila con diferente grado de infestación por escama blanca, medida en invernadero después de inducir infestación.....	52
Cuadro 3.4. Puntos de compensación (P_{comp}) y saturación (P_{sat}) por CO_2 , tasa máxima de fotosíntesis (A_{max}) y eficiencia de Rubisco (ER) en hojas de mango var. Manila, sanas e infestadas por escama blanca del mango en Tierra Blanca, Veracruz (7 y 17 de mayo de 2011) y Tecpan de Galeana, Guerrero (21 de mayo de 2011).	54
Cuadro 3.5. Parámetros fotosintéticos de Sharkey <i>et al.</i> (2007) de hojas de mango var. Manila, sanas e infestadas por escama blanca del mango en Tierra Blanca, Veracruz (7 y 17 de mayo de 2011) y Tecpan, Guerrero (21 de mayo de 2011).....	62
Cuadro 3.6. Variables ambientales proporcionados por el equipo LI-6400 durante la medición de los parámetros fotosintéticos.	66

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1. Colonias de escama blanca en hojas, ramas y fruto de mango var. Manila.
..... 12
- Figura 2.2. (I) Hembra de escama blanca en vista ventral, con una porción de su HE antes de penetrar la hoja de mango var. Manila. A = Rostrum, B = Punto de inserción del HE en la hoja. (II) HE de escama blanca atravesando en dirección perpendicular la cutícula del haz de la hoja. Est. = HE, Ep. = Epidermis, P. E. = Parénquima en empalizada, A= Rostrum, B = Punto de inserción del HE en la lámina foliar. 16
- Figura 2.3. (A) Corte transversal de hoja de mango (9 μm de grosor) que muestra un fragmento del HE de una hembra de escama blanca penetrando al mesófilo en dirección oblicua, y (B) Corte tangencial de hoja de mango (9 μm de grosor) que muestra otro fragmento del HE penetrando al mesófilo esponjoso. Est. = HE, P. E. = Parénquima en empalizada, P. es. = Parénquima esponjoso..... 17
- Figura 2.4. Dos reconstrucciones digitales (A y B), ambas de 13 cortes histológicos (117 μm de grosor en total) de la ruta de penetración de HE de escama blanca en hojas de mango. Est. = HE, Ep. = Epidermis, P. E. = Parénquima en empalizada, H. V. = Haz vascular..... 18
- Figura 2.5. Cortes histológicos sucesivos hechos en hojas de mango (de 9 μm de grosor), que muestran la penetración del HE de escama blanca del mango a través de tejido vascular. Est. = HE, Flo. = Floema, Xil. = Xilema, Fibr.= Fibras. 19
- Figura 2.6. Vista lateral (a) y en 45° (b) del modelo tridimensional de cuatro cortes histológicos de 9 μm de grosor cada uno (correspondientes a la Figura 4), que evidencian la penetración intracelular de un HE de escama blanca en tejido vascular de hoja de mango. En color azul las células con pared primaria, en color rosa las de pared secundaria (lignificadas). A = Parénquima esponjoso, B = Xilema, C = Floema, D = Fibras. 20
- Figura 2.7. Hoja de mango aclarada con hipoclorito de sodio, que muestra el HE intacto de una hembra de escama blanca a través de 41 fotografías de alta resolución, en las que el HE se coloreó digitalmente de rojo. A = Sitio de inserción del HE en el haz de la

hoja, B = Último campo foliar con evidencia del HE, C = Micrografía que muestra una porción del HE..... 21

Figura 2.8. Cortes histológicos sucesivos de tejidos foliares de mango (cada uno de 9 μm de grosor) que muestran la presencia de regiones con probable acumulación de material fenólico en la ruta de penetración del HE de escama blanca del mango. Est. = HE, Flo. = Floema, Xil. = Xilema, Fen= Probable material fenólico..... 22

Figura 3.1. Gradientes de infestación por escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en hojas de mango var. Manila en campo..... 41

Figura 3.2. Izquierda: hojas de mango var. Manila con diferentes grados de infestación por escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en invernadero, la primera es una hoja con infestación baja, las siguientes hojas con infestación alta. Derecha: Mismas fotografías editadas para obtener umbrales de daño. Montecillo, México, septiembre 2013. 51

Figura 3.3. Curva de regresión para relacionar cuantitativamente la tasa instantánea de fotosíntesis en hojas de mango var. Manila con la magnitud de área infestada. Montecillo, México, septiembre 2013. 53

Figura 3.4. Cinéticas de asimilación neta de CO_2 (A) en relación con la concentración interna de CO_2 (C_i) de mango Manila en tres fechas de muestreo: 3.4a (07 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.4b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.4c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero). Las flechas señalan el punto de saturación (P_{sat})..... 56

Figura 3.5. Parte lineal de las cinéticas A/C_i de hojas de mango Manila, mediante la cual se estima la eficiencia de carboxilación de la enzima Rubisco (ER), como pendiente de la recta, y el punto de compensación por CO_2 (P_{comp}), por la intersección con el eje de C_i , en tres fechas de muestreo: 3.5a (07 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.5b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz) ; 3.5c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero). 58

Figura 3.6. Conductancia estomática (g_s) de hojas de mango Manila en tres fechas de muestreo: 3.6a (7 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.6b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.6c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero). 60

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El mango (*Mangifera indica* L.) es una de las frutas más populares e importantes del mundo debido a sus excelentes características organolépticas y nutricionales. Está reconocido en la actualidad como uno de los tres o cuatro frutos tropicales más finos, lo que ha propiciado que en Asia se le conozca como “el rey de las frutas”. Tiene efecto laxante, diurético, astringente y refrescante. Es una buena fuente de calcio, fósforo, hierro, vitamina C, A, tiamina y niacina (Mukherjee, y Litz, 1997; Galán, 1999).

El mango es originario de Asia Meridional, muy probablemente del este de India. Ha estado distribuido por todo el sureste de Asia y el archipiélago malayo desde épocas remotas (Galán, 1999), y posteriormente fue llevado a África y América (Mukherjee, y Litz, 1997). Fue introducido a México a finales del siglo XVIII, cuando los españoles trajeron la variedad ‘Manila’ en la Nao de China, desde Manila a Acapulco, de donde se dispersó para su cultivo (Galán, 1999).

En el país, los estados como Veracruz y Guerrero cuentan con una diversidad de climas y altitudes que constituyen un amplio potencial para el desarrollo de la fruticultura tropical (SENASICA, 2009). En 2004 se reportaron 166,000 ha plantadas en más de once estados de México, en el que el estado de Veracruz contaba con 25,550 ha, donde el 85% de la superficie pertenecía a la variedad Manila (Martínez, *et al.*, 2007); sin embargo, para el ciclo 2012 sólo se registró una superficie sembrada de 16,298 ha, con una producción total de 77,854 t y un valor de la producción de \$245'890,341.00 (OEIDRUS-VERACRUZ, 2014)

El estado de Guerrero cuenta con una superficie de 19,835 ha de mango distribuido en cinco regiones, de las cuales la Costa Grande es la de mayor importancia por su superficie; le siguen Costa Chica, Tierra Caliente, Región Norte, y la Zona Centro-Montañosa. La producción de mango en el estado asciende a 240,000 t, con un costo de producción por hectárea de \$17,000 y una derrama económica de 600 millones de pesos en beneficio de 6,144 productores, con una relación beneficio-costo de 1:4. Colateralmente, por mano de obra se benefician 8,500 familias (SENASICA, 2009).

El mango, como la mayoría de los árboles frutales, suele ser atacado por dos o tres plagas clave, varias plagas secundarias y por un gran número de plagas ocasionales en las zonas localizadas donde se cultiva (Peña *et al.*, 2009). Cerca de 322 especies de insectos y ácaros han sido reportadas como plagas menores y mayores de mango: 127 (39 %) son los que se alimentan del follaje, 87 (27 %) del fruto, 36 (12 %) de la inflorescencia, 33 (10 %) habitan en las yemas y 39 (12 %) se alimentan de las ramas, el tronco y las raíces. Las plagas secundarias ocurren generalmente en niveles sub-económicos, pero pueden convertirse en plagas graves como resultado de cambios en las prácticas culturales o del cultivar o debido al uso indiscriminado de plaguicidas contra una plaga clave. Por ejemplo, las cochinillas se convirtieron plagas graves tras el uso no racional de insecticidas contra moscas de la fruta (Peña *et al.*, 2009).

Al menos 26 especies de diaspididos atacan al mango en todo el mundo (Peña *et al.*, 2009), entre los que se encuentra la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead Hemiptera: Diaspididae). La escama blanca se encuentra distribuida principalmente en el continente Africano, donde afecta zonas productoras de mango y cítricos (Daneel y Joubert 2009). Esta plaga se asocia principalmente con plantas de

los géneros *Aglasia*, *Cinnamomun*, *Citrus*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Desmos*, *Gaiadendron*, *Lurus*, *Litchi*, *Litsea*, *Luffa*, *Mangifera*, *Nephelium*, *Persea*, *Prunus* y *Psidium*. En el continente americano está presente en Puerto Rico, Centroamérica, Brasil, Colombia, Venezuela y México (Miller y Davidson, 2005). En México, la escama blanca (EB) del mango, se ha convertido en la segunda plaga de importancia para el cultivo, después de las moscas de la fruta y ha invadido todas las zonas productoras de mango (SENASICA, 2009).

Las hembras de la EB son planas, circulares, transparentes, de color blanco, en ocasiones de aspecto arrugado y pueden tener coloraciones desde amarillo a marrón, con una línea media de oscura a marrón. Los machos son alargados, con tres crestas longitudinales, de color blanco, y pueden tener coloraciones desde amarillo a marrón. El tiempo que tarda desde huevo a hembra adulta es de 82 días aproximadamente. Esta plaga se caracteriza por tener generaciones superpuestas, ya que el periodo normal de oviposición de la madre es de 52 días, mismos que tarda una hembra en iniciar su madurez reproductiva para iniciar la oviposición (Cunningham, 1991; Miller y Davidson, 2005; Daneel y Joubert, 2006)

La EB ataca desde las plantas que se encuentran en vivero, donde una infestación severa retarda el crecimiento. Los árboles jóvenes en el campo son más vulnerables a la pérdida de hojas. Las áreas infestadas en las hojas se tornan de verde pálido a amarillo y finalmente se necrosan (Cunningham 1991; Miller y Davidson, 2005), lo cual puede tener un efecto directo tanto en la concentración de clorofila y en la fotosíntesis y sus parámetros.

Casi toda forma de vida sobre la Tierra depende de la fotosíntesis (Conn *et al.*, 2007). En esencia, la fotosíntesis es con mucho el principal mecanismo de entrada de energía al mundo viviente. Las únicas excepciones se presentan en las bacterias quimiosintéticas, que obtienen energía al oxidar sustratos inorgánicos tales como iones ferrosos y azufre que se encuentran disueltos en la corteza terrestre, o bien al oxidar H₂S que se libera en la actividad volcánica (Salisbury y Ross, 2000).

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar mediante técnicas histológicas los tejidos dañados por el haz de estiletes (HE) de la escama blanca del mango derivado de su alimentación, y el efecto de diferentes gradientes de infestación natural de escama blanca del mango sobre variables fotosintéticas en las variedades Manila y Ataúlfo.

Objetivos específicos

Analizar histológicamente los tejidos de hojas de mango penetradas por el HE de la escama blanca, para determinar el patrón de penetración en los tejidos foliares, y determinar si causa daños anatómicos en tales tejidos, así como saber si la EB del mango se alimenta de savia como lo hacen otros insectos chupadores.

Evaluar el impacto derivado de diferentes gradientes de infestación natural de la EB del mango en campo e invernadero en el contenido de clorofila, fotosíntesis instantánea neta (A), conductancia estomática (g_s), concentración interna de CO_2 (C_i), en hojas maduras de las variedades Manila y Ataúlfo.

Determinar el comportamiento de cinéticas fotosintéticas en respuesta a diferentes niveles de concentración interna de CO_2 (A/C_i) en hojas de mango Manila sanas e infestadas por escama blanca del mango, en los estados de Veracruz y Guerrero.

LITERATURA CITADA

- Conn, E., Stumpf P., K. Bruening G. y Doi R., H. 2007. Bioquímica Fundamental. Ed. LImusa Wiley. México, D. F. 736 p.
- Cunningham, I. C. 1991. Common mango scales in Queensland. *Acta Horticulturae* 291: 409-412
- Daneel, M. S., and P. H. Joubert. 2009. Biological control of the mango scale *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Coccidea: Diaspididae) by a parasitoid *Aphytis chionaspis* Ren (Hymenoptera: Aphelinidae). *Acta Horticulturae*. 820: 567-574.
- Galán S., V. 1999. El cultivo del mango. Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 298 p.
- Martínez F. J., L., L. Tijerina C.; R. Arteaga R.; M. A. Vázquez P. y E. Becerril R. 2007. Determinación de zonas agroclimáticas para la producción de mango (*Mangifera indica* L. "Manila") en Veracruz, México. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM*. 63: 17-35
- Miller, D. R. and J. A. Davidson. 2005. Armored Scale Insect Pests of Trees and Shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Cornell University Press, Ithaca, NY.

Mukherjee, S. K., and R. E. Litz. 1997. Introduction: Botany and Importance pp. 1-18.

In: Litz, R. E. (ed.). 2009. The Mango: Botany, Production and Uses. 2nd Edition. CAB International. 669 p.

OEIDRUS-VERACRUZ. 2014. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable, Veracruz. Producción anual por cultivo: Mango.

<http://www.oeidrus->

[veracruz.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=75&Itemid=2](http://www.oeidrus-veracruz.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=75&Itemid=2)

90 Consultada: 03 agosto 2014

Peña, J. E., M. Aluja, and M. Wysoki. 2009. Pests. *In*: Litz R. E. (ed.). 2009. The Mango: Botany, Production and Uses (2nd ed.). CAB International. pp: 317-345

Salisbury, F. B. and C. W. Ross. 2000. Fotosíntesis: Cloroplastos y Luz. p. 333-355

In: Fisiología de las Plantas 2: Bioquímica Vegetal. Ed. International Thomson Editores Spain Paraninfo. Madrid, España. 214 p.

SENASICA. 2009. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Campaña de Manejo Fitosanitario del Mango en el Estado de Guerrero.

http://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=campa%C3%B1a+escama+blanca+senasica+guerrero&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.senasica.gob.mx%2Fincludes%2Fasp%2Fdownload.asp%3Fiddocumen%3D11745%26idurl%3D16658&ei=aP6mUay5LpK68wTo_YGgDg&usg=AFQjCNEfFrkcUfbCNLejk07NbGS4HmhXpw Consultada: 15 marzo 2013

**CAPÍTULO II. PATRÓN DE PENETRACIÓN FOLIAR DEL HAZ DE ESTILETES DE
ESCAMA BLANCA DEL MANGO (*Aulacaspis tubercularis* Newstead)
FOLIAR PENETRATION PATTERN OF MANGO WHITE SCALE (*Aulacaspis
tubercularis* Newstead) STYLET BUNDLE[♦]**

Pablo Juárez-Hernández¹, Jorge Valdez-Carrasco¹, Guadalupe Valdovinos-Ponce¹, J. Antonio Mora-Aguilera¹, Gabriel Otero-Colina¹, Daniel Téliz-Ortiz¹, Elías Hernández-Castro², Iván Ramírez-Ramírez¹ y Víctor A. González-Hernández^{1†}

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230.

² Universidad Autónoma de Guerrero. Km 2.5 Carretera Iguala-Tuxpan, Iguala, Guerrero, México. C. P. 40000

[†] Autor responsable: vagh@colpos.mx

RESUMEN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los principales cultivos frutícolas en México y es el primer exportador mundial de este producto. Una limitante de su producción es la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead; Hemiptera: Diaspididae). Las hojas infestadas cambian de verde pálido a amarillo y al final se necrosan, y la infestación demerita la calidad de los frutos de modo que no se pueden exportar. La alimentación de los diaspídeos no se ha estudiado extensamente, y en la literatura revisada no se encontraron reportes histológicos sobre el tema. Se analizaron histológicamente los tejidos foliares que penetra el haz de estiletes (HE) de la hembra de escama blanca, para determinar su ruta a través de los tejidos, detectar daños

[♦] Publicado en: *Florida Entomologist*. 97(1): 100–107 (<http://journals.fcla.edu/flaent/article/view/83059>).

celulares en la hoja y determinar si el insecto se alimenta de savia del floema. Plantas de mango var. 'Manila' fueron infestadas con este insecto en el Colegio de Postgraduados. En porciones de hojas se hicieron cortes histológicos mediante la técnica de inclusión en parafina y tinción con safranina y verde rápido, mientras que otras muestras se clarificaron con hipoclorito de sodio comercial para observar el HE intacto. En las muestras observadas al microscopio no fue posible encontrar el HE completo hasta su punta, y por ello no se determinó con precisión su longitud total. No obstante, se pudo estimar que al menos triplican la longitud de la hembra (1 mm). La penetración del HE es predominantemente intracelular a través del mesófilo, pero también puede atravesar células lignificadas del xilema y tejidos del floema ricos en nutrimentos. El HE encuentra los tejidos vasculares pero no permanece ahí sino que atraviesa por completo el haz vascular, incluyendo las fibras que lo envuelven, para continuar explorando el mesófilo. En la ruta de penetración del HE se observaron algunas zonas engrosadas y rojas, posiblemente constituidas de material fenólico. No se observó lisis ni colapso celular en el tejido vegetal atravesado por el HE.

Palabras clave: mango, escama blanca del mango, haz de estiletes, mesófilo, haces vasculares

ABSTRACT

Mango (*Mangifera indica* L.) is an intensively cultivated fruit in Mexico, the leading exporter of this product in the world. One important limiting factor in mango production is the white mango scale (*Aulacaspis tubercularis* Newstead; Hemiptera: Diaspididae). White mango scale infestation causes irreversible leaf yellowing and death, and it lowers fruit quality below export requirements. Feeding mechanisms of these diaspidids have not been extensively studied; no histological studies on this subject are known. We histologically analyzed leaf tissues penetrated by the stylet bundle (SB) of white mango scale females, in order to follow the SB path through tissues, to observe the extent of visually-detectable leaf cell damage, and to determine if this insect feeds on phloem sap. Mango plants of cv. 'Manila' were artificially infested with this insect in the Colegio de Postgraduados. Histological slices from infested leaves were processed for microscope observation of the intact SB. Through this process a complete SB could not be observed, so its full accurate length could not be reported. However, the SB length was estimated at 3 mm, i.e., 3 times the total length of the female body length, which was 1 mm. The SB path inside the leaf was mostly intracellular through the mesophyll, but it also pierced lignified xylem cells and nutrient-rich phloem tissues in the vascular bundles. Thick red masses were formed along the SB path, possibly containing phenolic compounds. Cell lysis or collapse was not observed in the SB-injured leaf tissue.

Key Words: mango, white mango scale, stylet bundle, mesophyll, leaf vascular bundles

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.; Sapindales: Anacardiaceae) es uno de los principales cultivos frutícolas en México, con 184,768 ha cultivadas, producción de 1'536,654 t (SIAP, 2011), y exportación de 275,366 t, que ubica al país como el primer exportador mundial de este producto (FAO, 2012). México posee características físicas y climáticas que permiten el óptimo desarrollo del mango, pero hay factores que restringen su rentabilidad y las plagas son una de las limitantes más importantes porque demeritan la calidad de la fruta y el rendimiento del cultivo (SENASICA, 2009).

La escama blanca (*Aulacaspis tubercularis* Newstead; Hemiptera: Diaspididae) es económicamente la segunda plaga del mango más importante en México, después de las moscas de la fruta (*Anastrepha* sp.; Diptera: Tephritidae), la plaga principal (SENASICA, 2009). La escama blanca del mango fue encontrada por primera vez en el estado de Nayarit en 2003 (Urías-López *et al.*, 2010), y luego se extendió a los estados de Guerrero y Michoacán (SENASICA, 2009).

Es un insecto sésil que pertenece al grupo de escamas armadas, el cual incluye a algunas de las plagas más dañinas e invasivas en la agricultura mundial (Miller y Davidson 2005; Andersen *et al.*, 2010; Rehmat *et al.*, 2011). Estos insectos pueden insertar un tubo quitinoso en cualquier parte aérea de las plantas. Este tubo está compuesto por cuatro estiletes, dos maxilares y dos mandibulares, que unidos forman dos ductos, uno salival y otro sibirial (para succionar). Al tubo también se le denomina haz de estiletes (HE), que es el término que se usará en este escrito. Así, estos insectos se alimentan principalmente del contenido de células de parénquima (Heriot,

1934) o tejido del haz vascular (Sadof y Neal, 1993) e inyectan saliva tóxica (Peña *et al.*, 2009; Rehmat *et al.*, 2011).

En vivero, una infestación severa de escama blanca puede retardar el crecimiento del mango. Los árboles jóvenes infestados con escama blanca son más vulnerables a la pérdida excesiva de hojas y muerte de ramitas, sobre todo durante la época de sequía (Cunningham, 1991; Daneel y Joubert, 2009; Rehmat *et al.*, 2011). Las infestaciones en los frutos causan lesiones externas y manchas rosadas (Cunningham, 1991), lo que demerita su calidad y los convierten en productos no comercializables para exportación (Cunningham, 1991; Daneel y Joubert, 2009). Las áreas infestadas en las hojas se tornan de color verde pálido a amarillo y finalmente se necrosan (Cunningham, 1991; Miller y Davidson, 2005) (Figura 2.1).



Figura 2.1. Colonias de escama blanca en hojas, ramas y fruto de mango var. Manila.

De acuerdo con Hill *et al.* (2011), la alimentación de los diaspídeos no se ha estudiado extensamente, y en escama blanca del mango no hay reportes histológicos sobre la ruta del HE en hojas de mango. Es por ello que el propósito del presente estudio fue analizar histológicamente los tejidos de hojas de mango penetradas por el HE de la escama blanca, para determinar el patrón de penetración en los tejidos foliares, y ver si causa daños anatómicos en tales tejidos. Un objetivo adicional fue saber si se alimenta de savia como lo hacen otros insectos chupadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una cámara de crecimiento del laboratorio de Acarología del Colegio de Postgraduados, en 2012 se reprodujeron colonias de escama blanca sobre plantas injertadas de mango var. Manila, lo cual se logró mediante inoculación por contacto directo con hojas infestadas colectadas en un huerto de Huejutla, Hgo. Una vez lograda la propagación de la plaga, se recolectaron hojas colonizadas en su haz por hembras vivas, de las cuales se obtuvieron 20 secciones foliares de aproximadamente 6.25 mm² para el estudio anatómico.

Para el procesamiento del tejido foliar (fijación, deshidratación, clarificación, tinción y montaje) se utilizó la técnica propuesta por López *et al.* (2005). Las muestras se fijaron en FAA [formaldehído (10 %), ácido acético glacial (5 %), etanol 96 % (50 %) y agua destilada (35 %)] donde permanecieron 24 h. Luego se lavaron en agua corriente durante 15 min y se deshidrataron con una serie ascendente de alcohol etílico (10, 30, 50, 70, 80, 96 y 100 %, v/v) por periodos de 4 h. Después las muestras se clarificaron,

primero con una mezcla 1:1 de alcohol 100 % y xileno por 4 h, y finalmente en xileno por 3 h. Una vez clarificados, los tejidos foliares se colocaron en parafina (Paraplast® Plus Sigma®) fundida y se dejaron en una estufa a 60 °C durante 24 h, para posteriormente hacer la inclusión. Para hacer los cortes se utilizó un micrótopo rotatorio (Spencer 820®). De cada muestra incluida en parafina se hicieron de 260 a 280 cortes sucesivos de 9 µm de grosor cada uno, algunos en dirección transversal y otros en dirección tangencial a la hoja, y se montaron en portaobjetos. Los cortes obtenidos se tiñeron con Safranina O (Sigma-Aldrich®) y verde rápido (Sigma®), y al final se les agregó una gota de resina sintética (Golden Bell®) y se cubrieron con cubreobjetos. Los cortes se observaron uno por uno en un microscopio Carl Zeiss® (Fotomicroscopio III) hasta localizar los fragmentos del HE en el tejido foliar, y éstos se fotografiaron con una cámara digital para microscopía PaxCam 3®.

En adición, se tomaron fotografías de hembras vivas que tenían su HE insertado en la hoja de mango, en un microscopio estereoscópico Carl Zeiss® (Tessovar) con una cámara digital para microscopía PaxCam 3®. Además de las observaciones directas de las fotografías obtenidas, se hicieron reconstrucciones digitales de la ruta de penetración del HE en el tejido foliar mediante el uso del programa digital Gimp® (v. 2.8.4) y se construyó un modelo tridimensional a partir de cortes histológicos sucesivos con el programa digital Blender® (v. 2.63).

Para observar el HE intacto en la hoja de mango, 10 muestras de tejido foliar de 0.25 cm² y cada una infestada con una hembra de escama blanca, se sometieron a un tratamiento de aclarado con hipoclorito de sodio comercial, como lo reportaron Valero y Durant (2001), Castellaro *et al.* (2007) y González y Briones–Salas (2012). Las

muestras se colocaron en alcohol a 70 % por 48 h, luego se lavaron con agua destilada durante 15 min y se transfirieron a otra caja Petri con 10 mL de hipoclorito de sodio comercial (4-6 % de NaOCl) donde fueron observadas aproximadamente 2 h con un microscopio estereoscópico American Optical Company® (Modelo 570) hasta asegurarse que las secciones foliares se decoloraron totalmente y que contenían al insecto con su HE insertado. Después las muestras se colocaron en agua destilada durante 24 h para eliminar el hipoclorito de sodio del tejido vegetal y se deshidrataron con alcohol etílico (70 y 90 %) y en dos ocasiones con alcohol etílico 100 %, por periodos de 5 h. Posteriormente las muestras se clarificaron con xileno por 2 h y se montaron en porta y cubreobjetos con Bálsamo de Canadá. Las porciones de tejido vegetal así preparadas se observaron en un microscopio Carl Zeiss® (Fotomicroscopio III) y se fotografiaron con una cámara digital para microscopia PaxCam 3®. La cámara se enfocó en el HE, es por ello que las fotografías variaron en el punto de enfoque. Se hizo la reconstrucción digital de la ruta de penetración del HE en el tejido foliar mediante el uso del programa digital Gimp® (v. 2.8.4).

RESULTADOS

Los cortes histológicos sucesivos hechos en hojas de mango infestadas con una hembra de escama blanca del mango, permitieron dar seguimiento a la ruta de penetración del HE a través de los tejidos foliares. Se encontró que penetra la epidermis del haz en dirección transversal, y que la porción externa del HE (la que queda fuera de la hoja, sin penetrarla) con frecuencia es de la misma dimensión que la de la propia hembra (Figura 2.2).

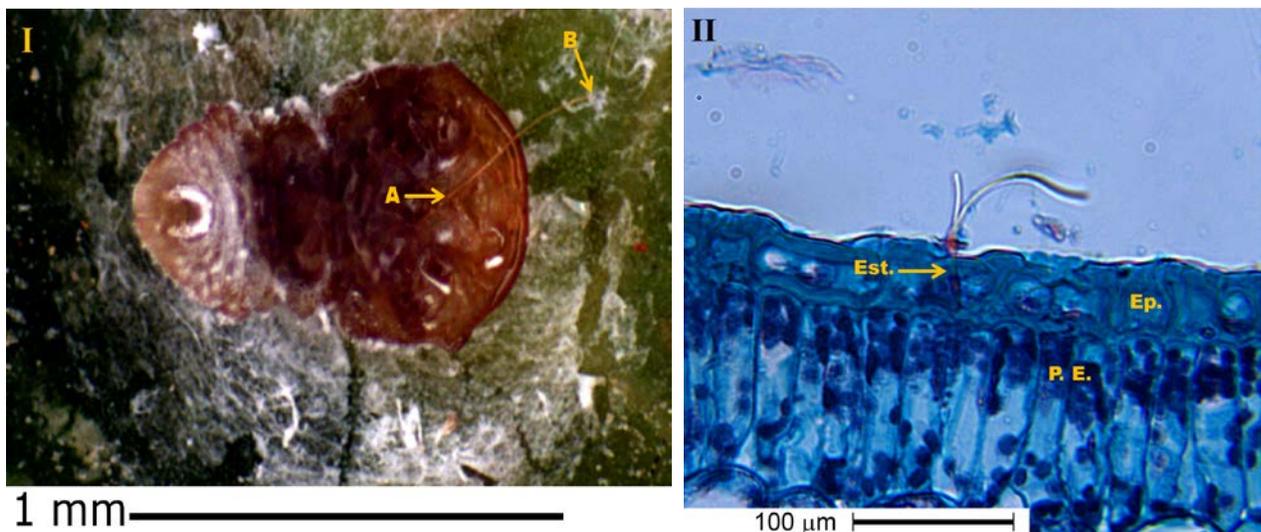


Figura 2.2. (I) Hembra de escama blanca en vista ventral, con una porción de su HE antes de penetrar la hoja de mango var. Manila. A = Rostrum, B = Punto de inserción del HE en la hoja. (II) HE de escama blanca atravesando en dirección perpendicular la cutícula del haz de la hoja. Est. = HE, Ep. = Epidermis, P. E. = Parénquima en empalizada, A= Rostrum, B = Punto de inserción del HE en la lámina foliar.

En los cortes del interior de la hoja se pudo apreciar que si bien la penetración a través de la epidermis foliar es perpendicular a la hoja (Figura 2.2), al llegar al mesófilo esponjoso el HE cambia varias veces de dirección, lo que incluye direcciones oblicuas (Figura 2.3A) y tangenciales, paralelas a la superficie de la hoja (Figura 2.3B).

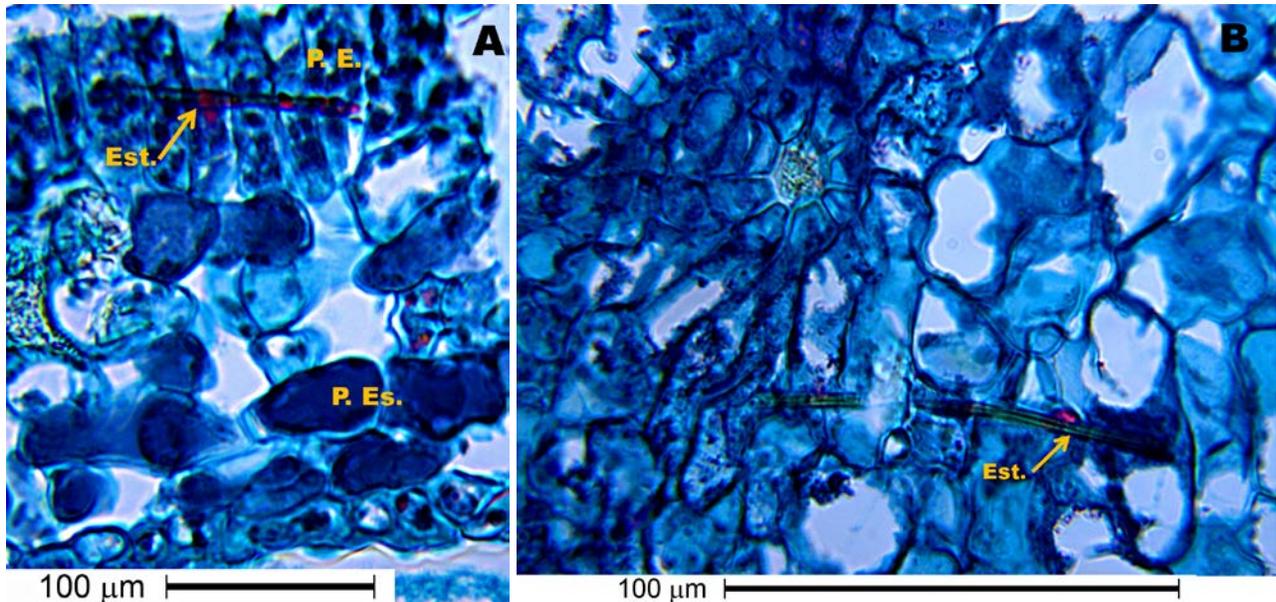


Figura 2.3. (A) Corte transversal de hoja de mango (9 µm de grosor) que muestra un fragmento del HE de una hembra de escama blanca penetrando al mesófilo en dirección oblicua, y (B) Corte tangencial de hoja de mango (9 µm de grosor) que muestra otro fragmento del HE penetrando al mesófilo esponjoso. Est. = HE, P. E. = Parénquima en empalizada, P. es. = Parénquima esponjoso.

Mediante reconstrucciones digitales (Figura 2.4, A y B), cada una hecha a partir de 13 cortes histológicos sucesivos (117 µm de grosor en total), se puede apreciar que este insecto tiene la capacidad de insertar su HE desde la epidermis del haz, atravesar el parénquima en empalizada y esponjoso así como los haces vasculares, y llegar hasta la epidermis contraria al sitio de inserción (haz), donde se le perdió el rastro.

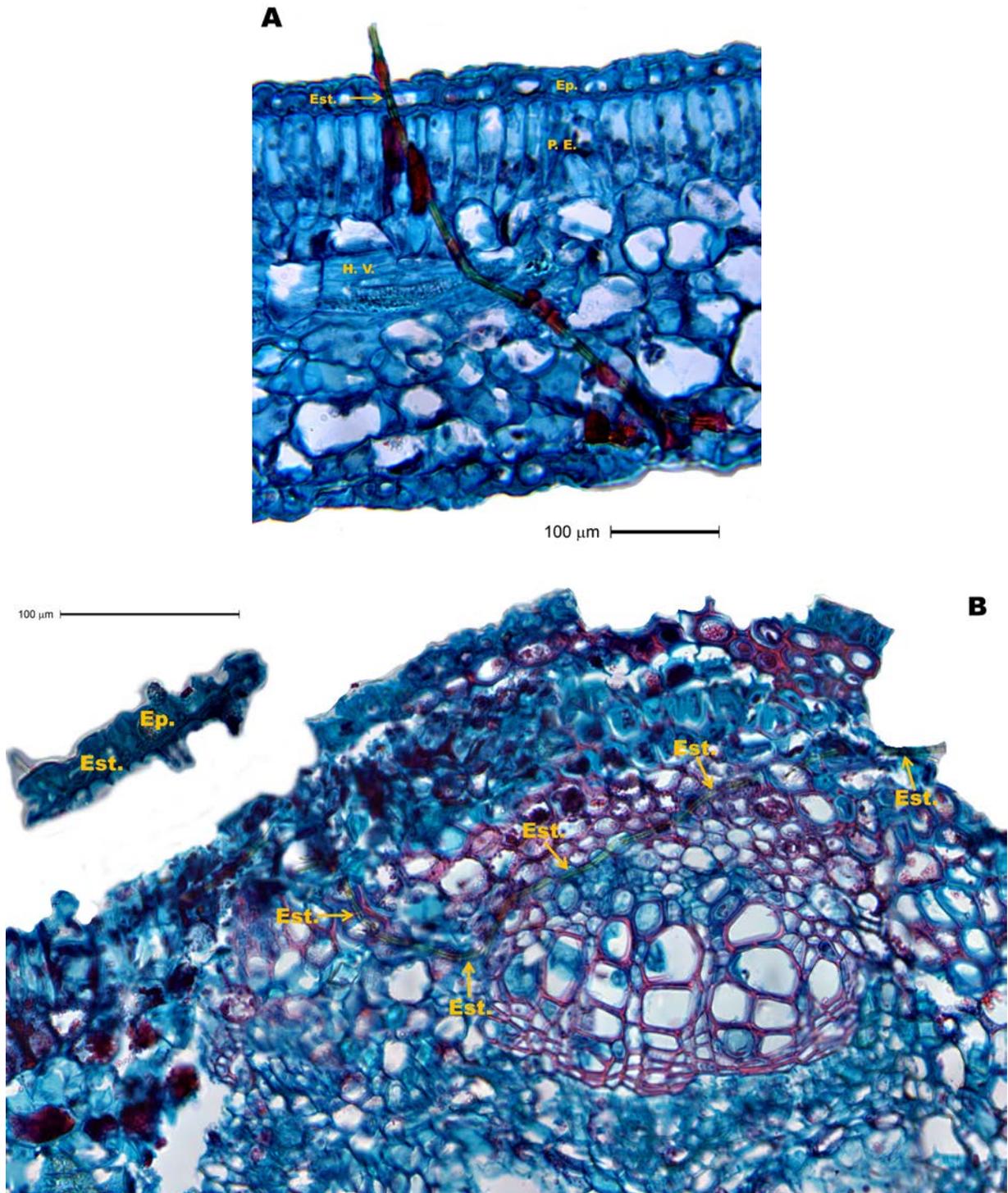


Figura 2.4. Dos reconstrucciones digitales (A y B), ambas de 13 cortes histológicos (117 µm de grosor en total) de la ruta de penetración de HE de escama blanca en hojas de mango. Est. = HE, Ep. = Epidermis, P. E. = Parénquima en empalizada, H. V. = Haz vascular.

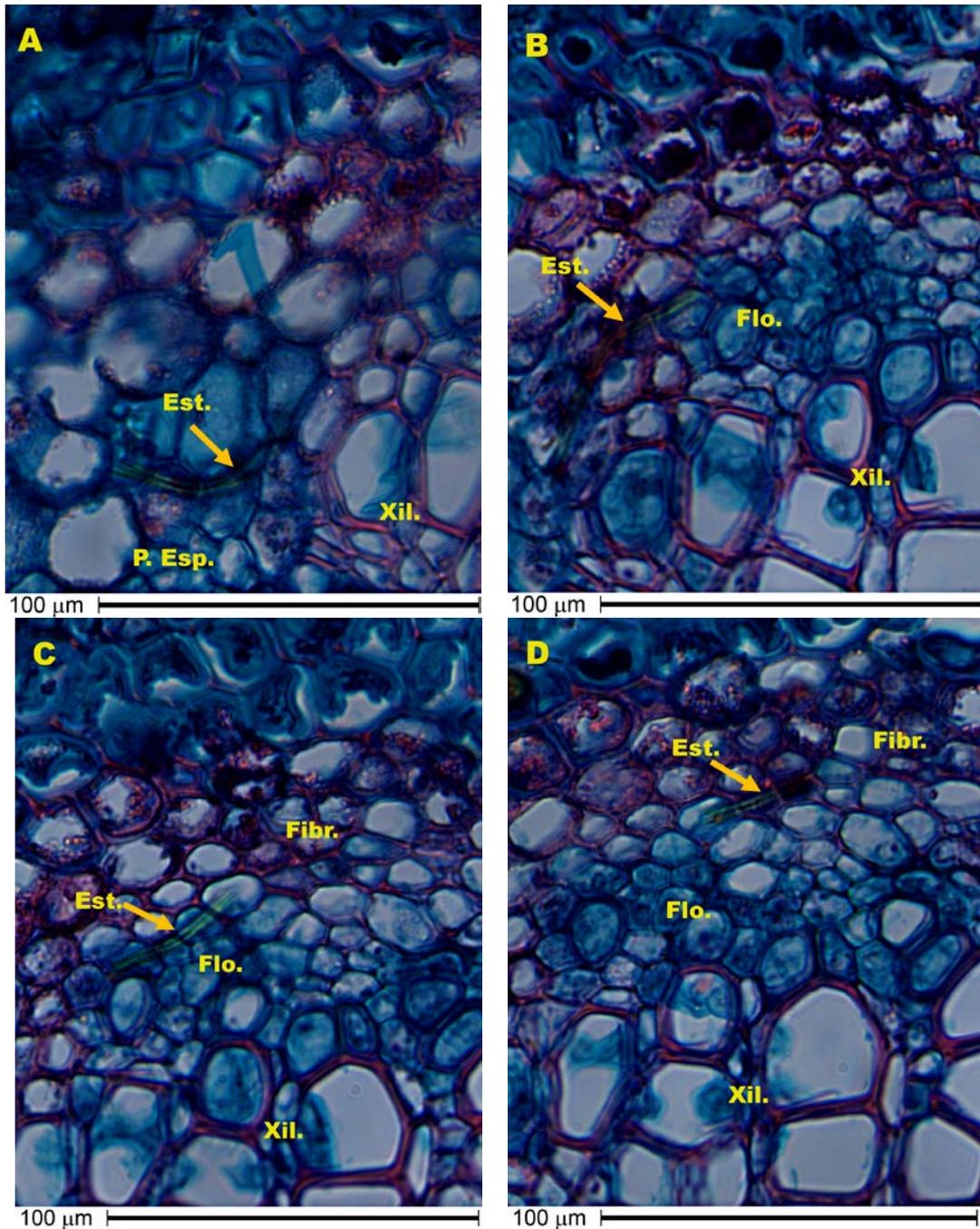


Figura 2.5. Cortes histológicos sucesivos hechos en hojas de mango (de 9 μm de grosor), que muestran la penetración del HE de escama blanca del mango a través de tejido vascular. Est. = HE, Flo. = Floema, Xil. = Xilema, Fibr.= Fibras.

A partir de cuatro cortes sucesivos (Figura 2.5) correspondientes a una sección de la Figura 2.4B, en este caso a través de un haz vascular, se efectuó un análisis

tridimensional (Figura 2.6) con el programa digital Blender (v. 2.63), que permitió demostrar que el HE tiene la capacidad de atravesar las paredes celulares, aún las paredes secundarias lignificadas del xilema. De ello se infiere que si bien estos insectos pueden encontrar los tejidos más ricos en nutrientes, en especial el floema, no permanecen ahí sino que atraviesan por completo el haz vascular, así como a las fibras (células lignificadas) que lo envuelven, para continuar explorando el mesófilo.

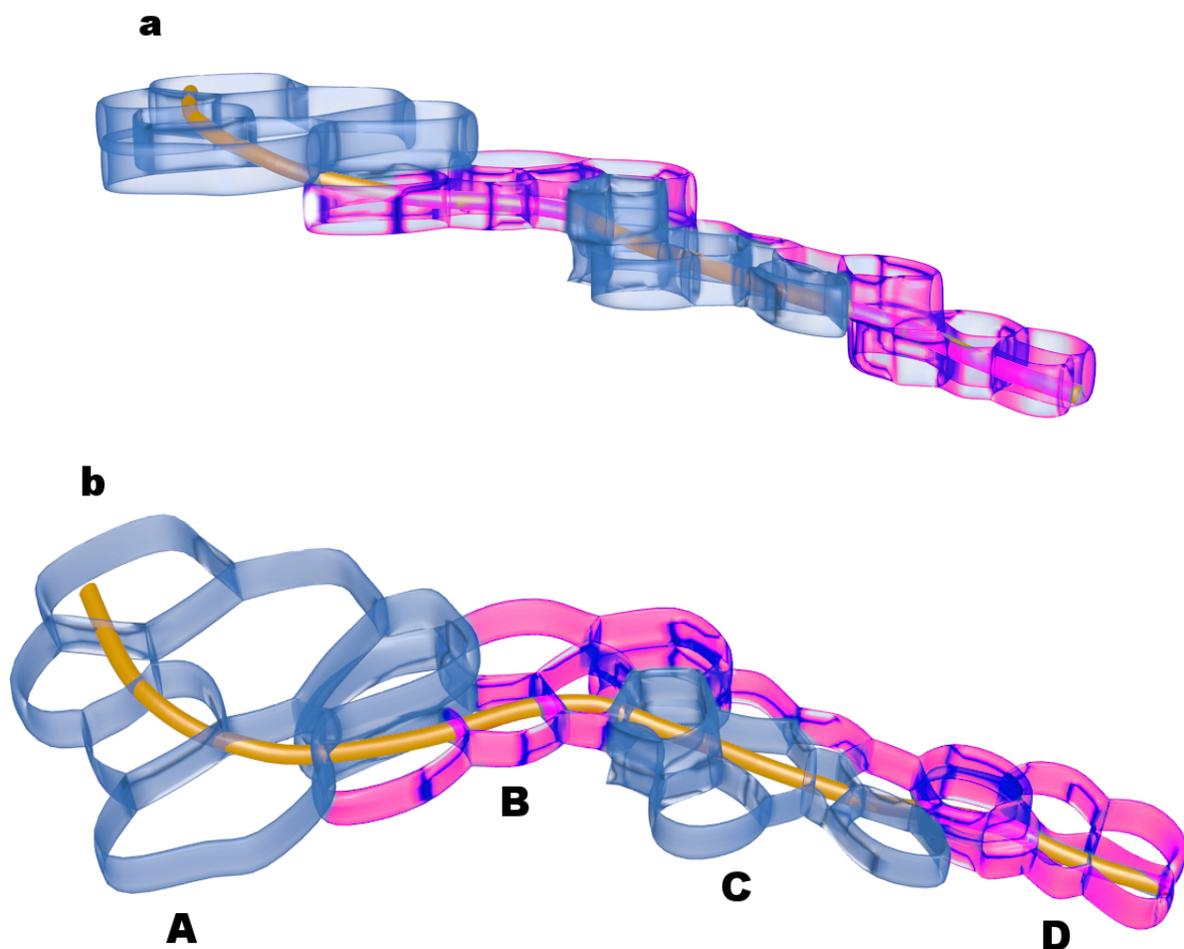


Figura 2.6. Vista lateral (a) y en 45° (b) del modelo tridimensional de cuatro cortes histológicos de 9 µm de grosor cada uno (correspondientes a la Figura 4), que evidencian la penetración intracelular de un HE de escama blanca en tejido vascular de hoja de mango. En color azul las células con pared primaria, en color rosa las de pared secundaria (lignificadas). A = Parénquima esponjoso, B = Xilema, C = Floema, D = Fibras.

En el presente estudio no fue posible observar la punta del HE de la hembra de escama blanca del mango, y por ello no se pudo medir su longitud total. Sin embargo considerando la sección del HE que se encuentra fuera de la hoja y la que se observó dentro del tejido foliar aclarado con hipoclorito de sodio (Figura 2.7a), se calcula que el HE al menos triplica la longitud de la hembra (1 mm). Con esta técnica del aclarado se comprobó que el HE es capaz de penetrar todos los tejidos foliares y que la mayor proporción de su extensión se ubica en el parénquima esponjoso y en el de empalizada.

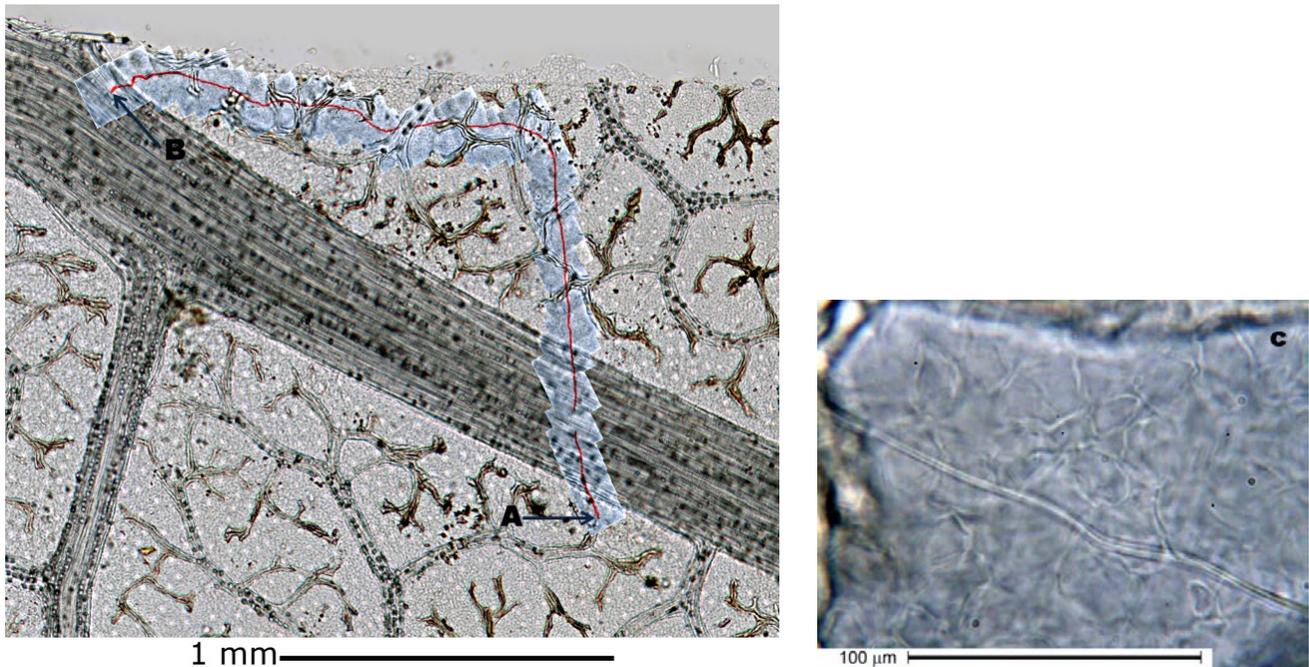


Figura 2.7. Hoja de mango aclarada con hipoclorito de sodio, que muestra el HE intacto de una hembra de escama blanca a través de 41 fotografías de alta resolución, en las que el HE se coloreó digitalmente de rojo. A = Sitio de inserción del HE en el haz de la hoja, B = Último campo foliar con evidencia del HE, C = Micrografía que muestra una porción del HE.

Otro aspecto a destacar del análisis de la ruta de penetración del HE en las hojas de mango, es la presencia de varias regiones oscuras y rojizas tanto en el HE como en

algunas células vegetales adyacentes, que por su coloración se considera están constituidas de material fenólico (Figura 2.8).

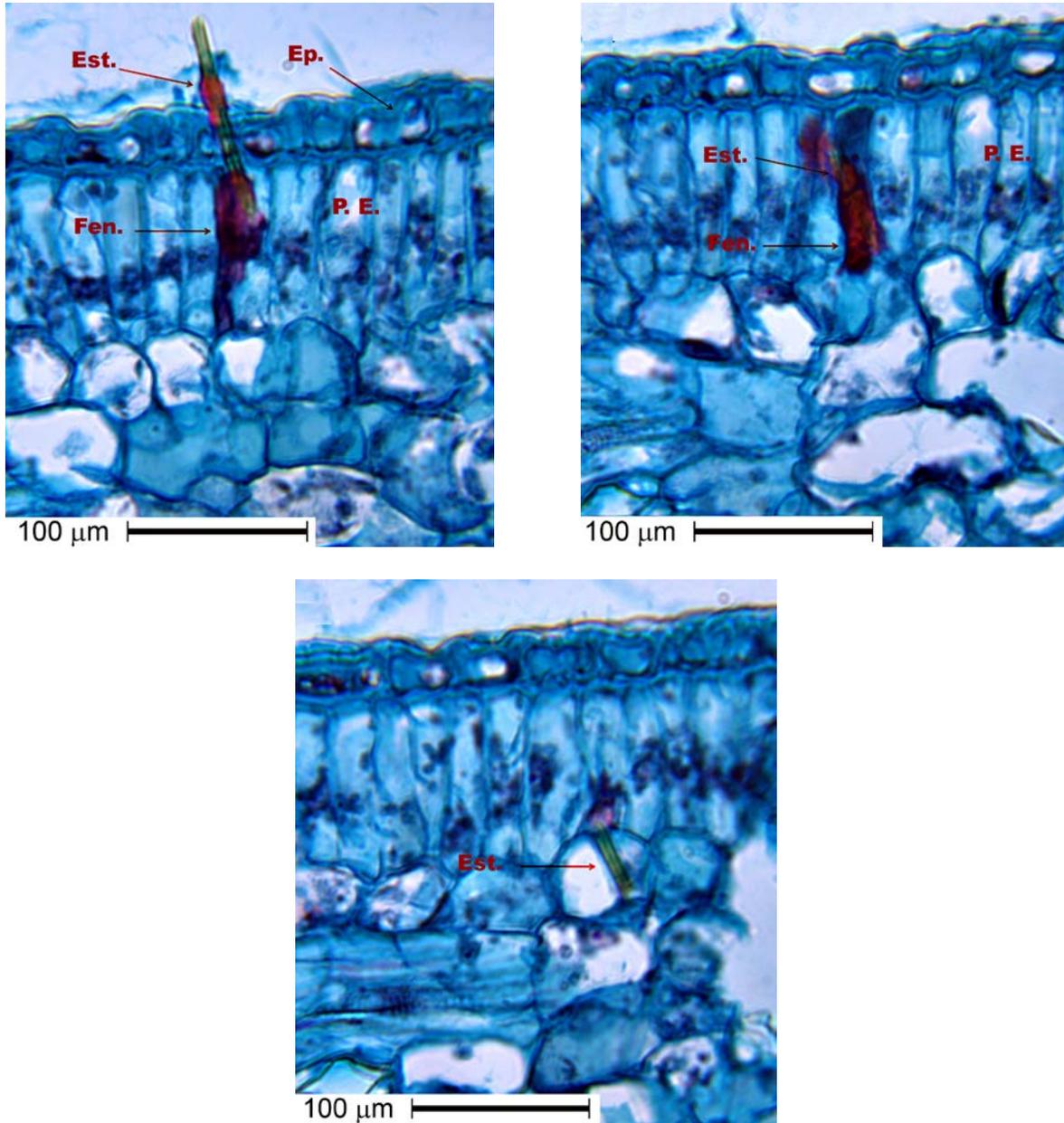


Figura 2.8. Cortes histológicos sucesivos de tejidos foliares de mango (cada uno de 9 μm de grosor) que muestran la presencia de regiones con probable acumulación de material fenólico en la ruta de penetración del HE de escama blanca del mango. Est. = HE, Flo. = Floema, Xil. = Xilema, Fen= Probable material fenólico.

DISCUSIÓN

La evidencia histológica indica que después de penetrar la cutícula coriácea y la epidermis, el HE de la escama blanca del mango explora el interior del tejido de las hojas de mango, incluyendo los haces vasculares, y cambia su trayectoria pero manteniendo la mayor parte de su ruta en el mesófilo. La regulación de estos cambios de dirección no se puede determinar con esta investigación, pero parece diferir de otras especies de hemípteros en las que los movimientos del HE han sido atribuidos a los mecano-receptores en los maxilares y mandíbulas que sirven para hacer que el HE se mueva para evitar la resistencia mecánica de los tejidos foliares (Smith 1985).

Los resultados concuerdan con los de Washington y Walker (1990) quienes reportaron que el HE de la escama roja de California (*Aonidiella aurantii*) (Hemiptera: Diaspididae) tiende a penetrar hojas de cítricos perpendicularmente en el parénquima en empalizada u oblicuamente a la superficie de la hoja y se orienta más o menos paralelo a la superficie de la hoja en el parénquima esponjoso; estos autores estimaron que más del 85 % de la longitud del HE se ubica en el parénquima en empalizada y esponjoso. Según Heriot (1934), en escamas es común la penetración lenta y sin control direccional del HE, lo que el autor atribuye a la gran longitud de éstos.

El HE de la escama blanca del mango es capaz de perforar las paredes celulares, incluso las paredes secundarias lignificadas del xilema, en la exploración a lo largo de una ruta intracelular, probablemente porque las vías pericelulares no producen alimentos mientras que las rutas intracelulares sí lo hacen. Ésta escama es entonces una de las pocas especies de escamas armadas que son capaces de perforar las

paredes lignificadas de células vegetales como las fibras y los vasos del xilema en los haces vasculares. La penetración del HE en tejidos vasculares se ha reportado previamente sólo en dos especies de escamas, por lo que estos haces no se consideran como la fuente principal de alimentación de estos insectos (Heriot, 1934; Washington y Walker, 1990).

La penetración intracelular del mesófilo también ha sido observada por Sadof y Neal (1993) con *Unaspis euonymi* (Comstock) (Hemiptera: Diaspididae) en *Euonymus fortunei* (L.) y *Euonymus japonica* (L.), pero solo a través del mesófilo. En kiwi (*Actinidia chinensis* L.) infestado por las escamas armadas *Hemiberlesia rapax* (Comstock) y *H. lataniae* (Signoret) (Hemiptera: Diaspididae), Hill *et al.* (2011) reportaron que el HE penetró la epidermis y parénquima de la corteza del tallo, sin penetrar la capa de fibras debajo del parénquima ni al floema que se encuentra debajo de estas fibras. De acuerdo con Washington y Walker (1990), el HE de la escama roja de California cambia abruptamente de dirección cuando alcanza el borde de las células lignificadas del xilema y se aleja del haz vascular.

Ya que la punta del HE de la escama blanca del mango no permaneció en el floema para alimentarse de la savia, sino que continuó su exploración del mesófilo, aquí se propone que este insecto no se alimenta exclusivamente de la savia del floema, como lo hacen otras especies chupadoras, tales como el pulgón verde *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hemiptera: Aphididae) en trigo (*Triticum aestivum* L.) (Goussain *et al.*, 2005) y el áfido *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) en guayabo (*Psidium guajava* L.) (David *et al.*, 2009). El HE de estas especies de áfidos penetra en las células vegetales en su mayoría por una ruta periférica. Por lo tanto, la

escama blanca del mango posiblemente se alimente del jugo celular del mesófilo conforme su HE pasa a través de estas células.

A pesar de la larga ruta del HE de la escama blanca del mango, no se detectó lisis celular en los tejidos dañados de las hojas (ni en las células atravesadas ni en las circundantes). De hecho no se detectó reducción del volumen debido a la pérdida de la turgencia celular, como ocurriría si un insecto chupador hubiese vaciado las células perforadas, a menos que la succión fuera tan lenta que el agua que rodea las células de las hojas pudo rellenar la célula perforada y así evitar que colapsara. Las pérdidas de turgencia y volumen aparecen en las células del mesófilo de plantas sometidas a condiciones de estrés por sequía (Stuedler *et al.*, 1977). Con las técnicas utilizadas en este estudio no se pudo identificar con precisión el mecanismo que evita la lisis celular. Sin embargo, en infestaciones naturales, las colonias de ninfas causan manchas cloróticas y hasta necróticas, tal vez porque estas colonias están constituidas por al menos 49 individuos (Urías-López *et al.*, 2010), que simultáneamente están penetrando una pequeña superficie de la hoja.

Las observaciones histológicas de este estudio apoyan la hipótesis de que estas escamas prefieren los tejidos del parénquima para su alimentación. Del mismo modo, Sadof y Neal (1993) encontraron que 62 % de las puntas de los estiletes de la escama *Unaspis euonymi* terminaron en el parénquima en empalizada en hojas de *Euonymus fortunei* (L.) y *E. japonica* (L.). En las especies de escamas *Hemiberlesia rapax* y *H. lataniae* (Hemiptera: Diaspididae), Hill *et al.* (2011) encontraron que sus estiletes se ubicaron solamente en el parénquima de la corteza del tallo de kiwi, de lo que infieren que es de este tejido vegetal que obtienen la mayor parte de su alimentación. Por su

parte, Washington y Walker (1990) documentaron que la punta del HE de la escama roja de California se localizó en el parénquima esponjoso de los cítricos en 80 % de las veces y ninguna en la epidermis. Estos antecedentes apoyan la propuesta de que las escamas armadas prefieren el tejido parenquimatoso para alimentarse, pero de estas especies solamente la escama blanca del mango ha mostrado ser capaz de perforar paredes lignificadas así como la cutícula gruesa que poseen las hojas coriáceas del mango.

Las gruesas masas rojas observadas en la ruta del HE de la escama blanca del mango y en las células cercanas después de la tinción con safranina se presume que son depósitos fenólicos. Al respecto Zamora-Magdaleno *et al.* (2001) demostraron que los depósitos de fenoles en paredes celulares y espacios intercelulares se tiñeron de color rojizo por la safranina en plantas infectadas por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Estos autores confirmaron sus observaciones mediante la reacción nitrosa para polifenoles totales.

En el presente estudio la presencia de tales acumulaciones fenólicas no causó el colapso, ya sea de las afectadas o las circundantes. También Hill *et al.* (2011) encontraron que algunas de las células heridas del tallo de kiwi estaban llenas de material fenólico de coloración oscura, pero cuatro semanas después la mayoría de las células mostraban signos de lisis o colapso.

CONCLUSIONES

El HE de la hembra de escama blanca del mango es muy largo, al menos del triple de la longitud del insecto, por esa razón no fue posible encontrar su punta. Por su trayectoria se infiere que la hembra de escama blanca se alimenta principalmente de células del parénquima conforme las va atravesando, sin causar su colapso. La vía de penetración del HE es intracelular, con capacidad de atravesar células con paredes lignificadas de los haces vasculares. En la ruta de penetración del HE se observaron zonas con coloración rojiza, posiblemente por acumulación de material fenólico.

LITERATURA CITADA

- Andersen, J. C., J. Wu, M. E. Gruwell, R. Gwiazdowski, S. E. Santana, N. M. Feliciano, G. E. Morse, and B. B. Normark. 2010. A phylogenetic analysis of armored scale insects (Hemiptera: Diaspididae), based upon nuclear, mitochondrial, and endosymbiont gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57 (3): 992-1003
- Castellaro G., G., F. Squella N., T. Ullrich R., F. León C., y A. Raggi S. 2007. Algunas técnicas microhistológicas utilizadas en la determinación de la composición botánica de dietas de herbívoros. *Agricultura Técnica* 67(1): 86-93
- Cunningham, I.C. 1991. Common mango scales in Queensland. *Acta Horticulturae* 291: 409-412
- Daneel, M. S., and P. H. Joubert. 2009. Biological control of the mango scale *Aulacaspis tubercularis* NEWSTEAD (Coccidea: Diaspididae) by a parasitoid *Aphytis chionaspis* Ren (Hymenoptera: Aphelinidae). *Acta Horticulturae* 820: 567-574
- David G., R. D., J. A. Quiroz G., F. Yepes R., y A. Henry S. P. 2009. Nuevo registro de *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) en guayabo *Psidium guajava* (Myrtaceae) en Antioquia, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62(1): 4999-5002
- FAO. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Estadísticas mundiales de la FAO (FAOSTAT)

http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE_BY_DOMAI
N (Consulta: marzo 2013)

González, G., y M. Briones-Salas. 2012. Dieta de *Odocoileus virginianus* (Artiodactyla: Cervidae) en un bosque templado del norte de Oaxaca, México. *Revista Biología Tropical (Int. J. Trop. Biol.)* 60 (1): 447-457

Goussain, M. M., E. Prado, and J. C. Moraes. 2005. Effect of silicon applied to wheat plants on the biology and probing behaviour of the greenbug *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 34(5): 807-813

Heriot, A. D. 1934. The renewal and replacement of the stylets of sucking insects during each stadium, and the method of penetration. *Canadian Journal of Research* 11:602-612

Hill, M. G., N. A. Mauchline, M. K. Jones, and P. W. Sutherland. 2011. The response of resistant kiwifruit (*Actinidia chinensis*) to armoured scale insect (Diaspididae) feeding. *Arthropod-Plant Interactions* 5 (2): 149-161

López C., M. L., G. Márquez. J., y S. Murguía G. 2005. Técnicas Para el Estudio del Desarrollo en Angiospermas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. 178 p.

Miller, D. R., and J. A. Davidson. 2005. Armored Scale Insect Pests of Trees and Shubs. Cornell University Press, Ithaca, USA. 442 p.

- Peña, J. E., M. Aluja, and M. Wysoki. 2009. Pests. *In*: Litz R. E. (ed.). The Mango: Botany, Production and Uses (2nd ed.). CAB International. pp: 317-345
- Rehmat, T., S. B. Anis, M. T. Khan, J. Fatma, and S. Begum. 2011. Aphelinid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of armoured scale insects (Homoptera: Diaspididae) from India. *Biology and Medicine* 3 (2): 270-281
- Sadof, C. S., and J. J. Neal. 1993. Use of host plant resources by the euonymus scale, *Unaspis euonymi* (Homoptera: Diaspididae). *Annals of the Entomological Society of America* 86 (5): 614-620
- SENASICA. 2009. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Campaña de Manejo Fitosanitario del Mango en el Estado de Guerrero.
http://www.google.com.mx/url?sa=t&rct=j&q=campa%C3%B1a+escama+blanca+senasica+guerrero&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.senasica.gob.mx%2Fincludes%2Fasp%2Fdownload.asp%3Fiddocumen%3D11745%26idurl%3D16658&ei=aP6mUay5LpK68wTo_YGgDg&usg=AFQjCNEfFrkcUfbCNLejk07NbGS4HmhXpw (Consulta: Marzo 2013).
- SIAP. 2011. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350 Consultada: 20 sept. 2012.

Smith, J. J. B. 1985. Feeding mechanisms, pp. 34-85 *In*: G. A. Kerkut and L. I. Gilbert [eds.], *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol. 4. Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion. Pergamon Press. Oxford, UK.

Stuedler, E., U. Zimmermann, and U. Lütge. 1977. Effect of turgor pressure and cell size on the wall elasticity of plant cells. *Plant Physiol.* 59: 285-289

Urías-López, M. A., J. A. Osuna-García, V. Vázquez-Valdivia, y M. H. Pérez-Barraza. 2010. Fluctuación poblacional y distribución de la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en Nayarit, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16 (2): 77-82

Valero, L., y P. Durant. 2001. Análisis de la dieta del conejo de páramo *Sylvilagus brasiliensis meridensis* Thomas, 1904 (Lagomorpha: Leporidae) en Mucubaji, Mérida, Venezuela. *Revista Ecología Latino Americana* 8 (2): 1-13

Washington, J., R., and G. P. Walker. 1990. Histological studies of California red scale (Homoptera: Diaspididae) feeding on citrus. *Annals of the Entomological Society of America* 83 (5):939-948

Zamora-Magdaleno, T., E. Cárdenas-Soriano, J. F. Cajuste-Bontemps, y M. T. Colinas-León 2001. Anatomía del daño por rozamiento y por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en fruto de aguacate 'Hass'. *Agrociencia* 35: 237-244

**CAPÍTULO 3. RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL MANGO EN FUNCIÓN DEL
DAÑO POR ESCAMA BLANCA DEL MANGO (*Aulacaspis tubercularis* Newstead)
PHOTOSYNTHETIC RESPONSE OF MANGO IN FUNCTION OF MANGO WHITE
SCALE (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) DAMAGE**

Pablo Juárez Hernández¹, Víctor A. González Hernández¹, Antonio Mora Aguilera¹, Gabriel Otero Colina¹, Daniel Téliz Ortíz¹, Elías Hernández Castro², Iván Ramírez Ramírez¹ y Nicacio Cruz Huerta¹.

¹ Colegio de Postgraduados Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. C. P. 56230, Montecillo, Texcoco, México.

² Universidad Autónoma de Guerrero. Km 2.5 Carretera Iguala-Tuxpan, Iguala, Guerrero, México. C. P. 40000

RESUMEN

La productividad primaria neta depende de la absorción y fijación del carbono a través de la fotosíntesis, con ayuda de la clorofila. Las plantas experimentan una variedad de estreses bióticos y abióticos que impiden su crecimiento óptimo; un factor biótico es el ataque de insectos. México es el principal exportador de mango a nivel mundial y la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead Hemiptera: Diaspididae), es la segunda plaga de importancia económica para el cultivo en el país. La medición de la respuesta de la fotosíntesis neta a diferentes concentraciones internas de CO₂ en la hoja (curva A/Ci) ha sido utilizada en estudios ecofisiológicos, entre ellos para determinar el efecto de la alimentación de algunos insectos sobre parámetros fotosintéticos. A pesar de la importancia de la producción del mango en México, actualmente no existe estudio alguno sobre el efecto de la infestación de escama

blanca en los parámetros fotosintéticos del mango. Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar el impacto de gradientes de infestación natural por escama blanca del mango en campo e invernadero sobre contenido de clorofila, tasa instantánea de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) y concentración interna de CO_2 (C_i), en hojas maduras de mango de las variedades Manila y Ataúlfo; así mismo determinar el comportamiento de cinéticas fotosintéticas (A/C_i) en hojas de mango Manila sanas e infestadas por este insecto. Se usó un sistema de fotosíntesis portátil LI-6400® (LICOR, Inc., USA) y un equipo Minolta SPAD® 502. Se encontró que la infestación redujo el contenido de clorofila únicamente en las zonas colonizadas. En cambio, la tasa instantánea de fotosíntesis neta disminuyó en toda la hoja, aún en las zonas sanas de hojas infestadas. Las curvas A/C_i mostraron que la infestación redujo la fotosíntesis máxima (A_{max}), punto de saturación por CO_2 (P_{sat}), eficiencia de carboxilación de la Rubisco (ER), velocidad máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$), regeneración de ribulosa bifosfato (J), uso de triosas fosfato (TPU), y aumentó hasta el doble el punto de compensación por CO_2 (P_{comp}).

Palabras clave: Manila, Ataúlfo, curvas A/C_i , clorofila, parámetros fotosintéticos.

ABSTRACT

Net primary productivity depends on the absorption and carbon fixation through photosynthesis, using chlorophyll. Plants are exposed to a variety of biotic and abiotic stresses that prevent optimal growth. The attack of insects is an example of a biotic factor. Mexico is the main exporter mango worldwide, and the mango white scale (*Aulacaspis tubercularis* Newstead Hemiptera: Diaspididae) is the second pest of economic importance for the crop in the country. Measuring the photosynthetic response to different internal CO₂ concentrations in the leaf (curve A / Ci) has been used in ecophysiological studies to determine the effect of feeding of some insects on photosynthetic parameters. Despite the importance of mango production in Mexico, there are currently no studies on the effect of mango white scale infestation in mango's photosynthetic parameters. The objectives of this study were to evaluate the impact of natural gradients of mango white scale infestation under field and greenhouse conditions on chlorophyll content, net photosynthetic rate (A), stomatal conductance, and internal CO₂ concentration (Ci) in mature leaves varieties Ataulfo and Manila, and to determine the behavior of photosynthetic kinetics (A/Ci) in healthy and infested mango leaves by this insect. A portable photosynthesis system LI-6400® (LICOR, Inc., USA) and a Minolta SPAD® 502 chlorophyll meter were used. The results showed that infestation reduced chlorophyll content only in colonized areas. On the other hand, the instantaneous rate of net photosynthesis declined across the leaf, even in healthy areas of infested leaves. A/Ci curves showed that the infestation reduced maximum photosynthesis (A_{max}), CO₂ saturation point (P_{sat}), Rubisco carboxylation efficiency (ER), maximum carboxylation rate ($V_{C_{max}}$), ribulose biphosphate regeneration (J),

triose phosphate use (*TPU*), and increased to double the CO₂ compensation point (*P_{comp}*).

Keywords: Manila, Ataulfo, A/Ci curves, chlorophyll, photosynthetic parameters.

INTRODUCCIÓN

La productividad primaria neta de las plantas depende de la absorción y fijación del carbono a través de la fotosíntesis y su posterior liberación a través de la respiración. A nivel de la hoja, la tasa fotosintética y la tasa de respiración son expresadas como la cantidad de CO₂ absorbido (o emitido) por unidad de área foliar por unidad de tiempo ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) (Long y Bernacchi, 2003). La fotosíntesis en las plantas se compone de procesos biológicamente interconectados en diferentes compartimentos de las células. Los procesos biofísicos, que incluyen el transporte de CO₂ a través de la hoja y estomas, así como los procesos bioquímicos situados en las membranas de los tilacoides de los cloroplastos, estroma, mitocondrias y el citosol de la célula, determinan la tasa neta de asimilación de CO₂ (*A*) (Sharkey *et al.*, 2007).

Durante la fotosíntesis, la captación de carbono en las hojas de las plantas se produce a través de los estomas que se abren y se cierran (Nikinmaa *et al.*, 2013), proceso en el cual el CO₂ se mueve desde la atmósfera que rodea la hoja a las cavidades internas sub-estomáticas a través de los estomas, y desde allí hasta el sitio de carboxilación en el interior del estroma del cloroplasto después de ingresar al mesófilo de la hoja. Este último componente de difusión del CO₂ se llama conductancia del mesófilo (*g_m*) (Taiz y Zeiger, 2002; Long y Bernacchi, 2003; Flexas *et al.*, 2008). Estos procesos biofísicos y bioquímicos, así como las variables ambientales tales como la intensidad de la luz y la temperatura, pueden tener diferentes efectos en la tasa neta de asimilación de CO₂ (Sharkey *et al.*, 2007).

La medición de la respuesta de la fotosíntesis neta a diferentes concentraciones internas de CO_2 en la hoja (curvas A/C_i) puede proporcionar datos sobre una serie de parámetros importantes relacionados con la fisiología de la hoja (Sharkey *et al.*, 2007), y desde la introducción del modelo de la fotosíntesis por Farquhar *et al.* (1980), estas curvas han sido ampliamente utilizadas en estudios ecofisiológicos para determinar los parámetros de la fotosíntesis en las hojas (Flexas *et al.*, 2007). Las curvas de respuesta A/C_i también proporcionan un método práctico y sencillo para cuantificar la limitación que los estomas imponen a la asimilación de CO_2 (Long y Bernacchi, 2003). Varios aspectos de la bioquímica de la asimilación fotosintética de carbono en plantas C_3 se integran en una forma compatible con los estudios de intercambio de gases en las hojas (Farquhar *et al.*, 1980).

Además, las curvas A/C_i han sido utilizadas para determinar el efecto sobre sobre parámetros fotosintéticos derivado de la alimentación de algunos insectos como las chinches *Blissus occiduus* Barber en el forraje *Buchloe dactyloides* (Nuttall) Engelman (Heng-Moss *et al.*, 2006) y *Blissus leucopterus leucopterus* (Say) en el forraje *Pennisetum glaucum* L. R. Br. (Ni *et al.*, 2009).

Las plantas experimentan una variedad de estreses bióticos y abióticos que impiden su crecimiento óptimo. Un estrés biótico es la herbivoría, que elimina o lesiona los tejidos vegetales (McNaughton, 1983; Maschinski y Whitham, 1989). Los insectos herbívoros ocasionan consecuencias variables sobre la fisiología, crecimiento y reproducción de las plantas. A pesar de la importancia del daño causado por artrópodos en el crecimiento y rendimiento de las plantas, los mecanismos de respuesta de las plantas a estos estreses no han sido entendidos en su totalidad (Peterson y Highley, 1993).

Entre especies vegetales y aún dentro de ellas, las respuestas derivadas de la herbivoría son altamente variables (McNaughton, 1983; Maschinski y Whitham, 1989). Los herbívoros pueden afectar directamente la ganancia de carbono de la planta mediante la eliminación del tejido fotosintético de la hoja e indirectamente mediante la inducción de la producción de complejos compuestos de defensa o interrumpiendo el movimiento del agua y los nutrimentos (Aldea *et al.*, 2005).

La escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead Hemiptera: Diaspididae) es actualmente una plaga generalizada en todas las zonas productoras de mango de Sudáfrica (Labuschagne *et al.*, 1995). En México también se encuentra presente y representa la segunda plaga de importancia económica para el mango. Aunque no causa daño al interior del fruto, su efecto cosmético sobre el epicarpio del fruto disminuye significativamente la proporción de fruta exportable y ello causa pérdidas financieras importantes para el productor (Labuschagne *et al.*, 1995).

Las ninfas macho de escama blanca del mango se agrupan en colonias formadas desde unos pocos individuos hasta más de cien, lo que en infestaciones severas les permite ocupar toda la hoja. Los machos en su mayoría se establecen en el dosel inferior de los árboles, mientras que las hembras se distribuyen de manera más homogénea en todo el árbol, pero a medida que la temperatura aumenta, se mueven hacia la cubierta inferior, que es el área más fría del árbol (Bautista-Rosales *et al.*, 2013). De acuerdo con Zvereva *et al.* (2010), tanto los insectos que se alimentan de savia como los que se alimentan del mesófilo reducen significativamente el crecimiento (-29 %), reproducción (-17 %), y fotosíntesis (-27 %), y las plántulas son más susceptibles que los árboles.

México es el principal exportador de mango a nivel mundial (FAO, 2012), y desde la introducción de la escama blanca del mango en México en 2003 (Urías-López *et al.*, 2010), este insecto ha tenido una rápida invasión a las zonas productoras de mango del país (SENASICA, 2009). No obstante, no existe estudio alguno sobre el efecto de la infestación de escama blanca en los parámetros fotosintéticos del mango.

Es por ello que en el presente trabajo se plantearon los objetivos de evaluar el impacto de diferentes gradientes de infestación natural en campo e invernadero de escama blanca del mango en el contenido de clorofila, fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) y concentración interna de CO_2 (C_i), en hojas maduras de mango de las variedades Manila y Ataúlfo; así mismo determinar el comportamiento de cinéticas fotosintéticas en respuesta a diferentes niveles de concentración interna de CO_2 (A/C_i) en hojas de mango Manila sanas e infestadas por escama blanca del mango en los estados de Veracruz y Guerrero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El presente estudio se hizo en dos fases. La primera o fase de campo se desarrolló en tres fechas de medición de fotosíntesis y muestreo de hojas durante el mes de mayo de 2011 en huertas comerciales de mango (var. Manila) en Tierra Blanca, Veracruz ($18^{\circ} 37' 59.9''$ N, $96^{\circ} 15' 57.1''$ O) y en las variedades Manila y Ataúlfo en Tecpan de Galeana, Guerrero, México ($17^{\circ} 16' 15.1''$ N, $100^{\circ} 53' 31.7''$ O). Muestras foliares se llevaron al Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal, del programa de Genética en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México ($19^{\circ} 27' 55.4''$ N, $98^{\circ} 54' 18.7''$ O) durante el mes de septiembre de 2011, para la determinación de clorofila.

La segunda fase fue la reproducción de los insectos y su inoculación en plántulas de mango Manila para la medición de fotosíntesis en invernadero, que se llevó a cabo en 2013 en un invernadero de vidrio del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México. Para ello se adquirieron plantas injertadas de mango var. Manila en Actopan, Veracruz en marzo de 2013 y se trasladaron al Colegio de Postgraduados. A partir de abril de 2013 las hojas maduras de las plántulas se infestaron con colonias de escama blanca, colectadas en un huerto de Huejutla de Reyes, Hgo., México. Para septiembre de 2013 los insectos habían colonizado las plantas de tal forma que fue posible ubicar hojas con diferentes gradientes de infestación similares a los encontrados en campo.

Material vegetal

Tanto en campo como en invernadero, las mediciones se hicieron en hojas maduras de mango con dos niveles de infestación por escama blanca: con infestación alta (IA), con infestación baja [en dos zonas de la hoja: zona sana (ZS) y zona infestada (ZI)], y en hojas sanas (HS) como testigo (Figura 3.1). Se procuró que las hojas medidas estuvieran expuestas a la radiación solar, aunque esto no siempre se logró porque el insecto prefiere la sombra. Después de la medición se colectaron las hojas para su análisis de contenido de clorofilas en laboratorio.

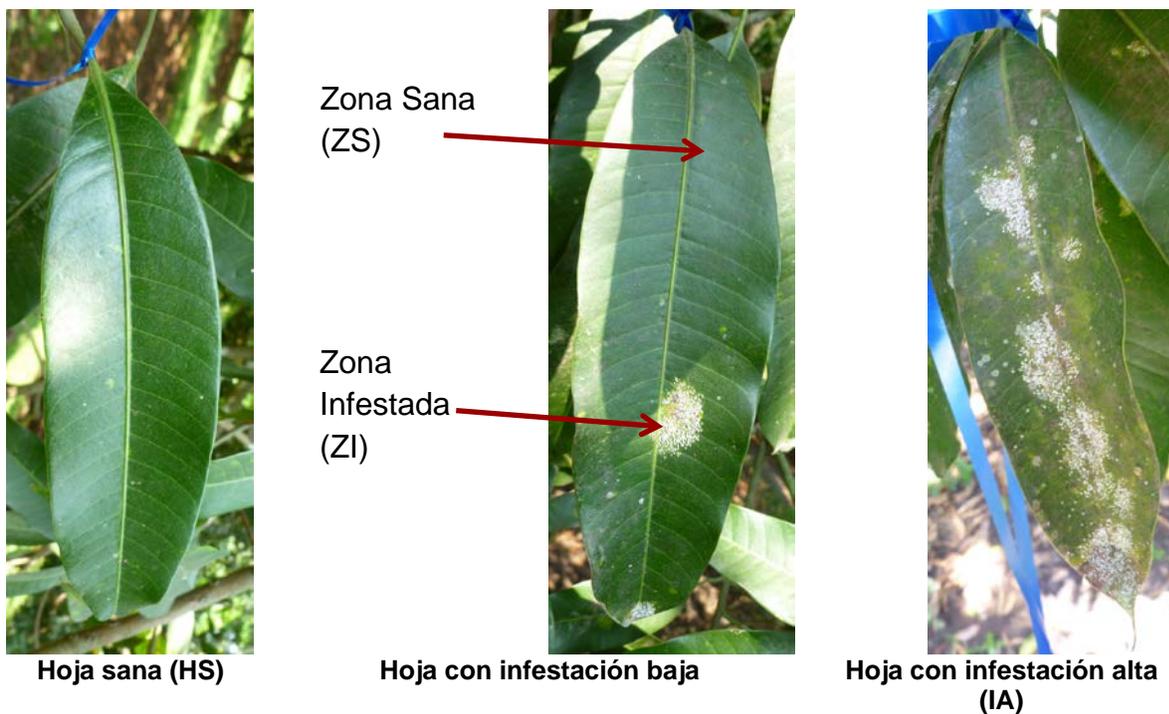


Figura 3.1. Gradientes de infestación por escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en hojas de mango var. Manila en campo.

Además, por fecha de muestreo en campo se ubicaron tres hojas sanas y tres hojas con infestación alta para hacer las cinéticas de fotosíntesis en respuesta a diferentes concentraciones internas de CO₂ (curvas *A/Ci*).

Variables de respuesta

Determinación del contenido de clorofila.

Método de refracción. Las hojas que se midieron en la fase 1 se colectaron y trasladaron al Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. El contenido de clorofila se midió con un equipo Minolta SPAD® 502 (Soil Plant Analysis Development, Minolta Co. Ltd., Osaka, Japón). En cada hoja se realizaron tres mediciones en zonas diferentes, y posteriormente se estimó su promedio. Los valores medidos por el aparato corresponden a la cantidad de clorofila presente en la hoja de una planta, calculada con base en la cantidad de luz absorbida por una hoja, que fue emitida por un diodo en la banda del rojo (aprox. 650 nm) y del infrarrojo (aprox. 940 nm), y recibida en un receptor (fotodiodo de silicio) que la transforma en señal eléctrica y posteriormente en señal digital que es de fácil lectura en un dial (Orihuela *et al.*, 2007).

Método químico. Posterior al método de refracción, las hojas se usaron para la determinación de clorofila mediante un método químico. La extracción de clorofila se realizó con Dimetil Sulfóxido (DMSO) con el método de Wellburn (1994), el cual consistió en extraer tres círculos de tejido de hoja con un sacabocados, posteriormente se pesaron en una balanza analítica. Las muestras se depositaron en tubos de plástico y a cada una se le adicionó 3 mL de DMSO; luego se dejaron reposar por 24 h en refrigeración a 4 °C y en condiciones de oscuridad. Posteriormente se agregaron 7 mL de DMSO para aforar a 10 mL y se determinó la absorbancia a 649 y 665 nm, en espectrofotómetro marca Bausch&Lomb, modelo Spectronic 20.

El contenido de clorofilas en $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ se obtuvo mediante las siguientes ecuaciones:

$$C_a = 12.47 (A_{665 \text{ nm}}) - 3.62 (A_{649 \text{ nm}})$$

$$C_b = 25.06 (A_{649 \text{ nm}}) - 6.5 (A_{665 \text{ nm}})$$

$$C_t = C_a + C_b$$

Donde:

$A_{649 \text{ nm}}$ = Lectura de absorbancia a 649 nm

$A_{665 \text{ nm}}$ = Lectura de absorbancia a 665 nm

El contenido de C_t es en 1 mL, por tanto como se aforó a 10 mL el valor resultante se multiplicó por 10 ($C_t \times 10$).

Para obtener la concentración de clorofila en el tejido se usó la siguiente ecuación:

$$\text{Cont. clorofila } (\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}) = \frac{C_t \times 10}{\text{Peso de la muestra (g)} \times 1000}$$

Para convertir las lecturas SPAD a valores del contenido foliar de clorofila ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de materia fresca), en el Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal se hizo una curva de calibración con hojas de mango var. Manila de diferentes edades y por consiguiente diferentes tonalidades del color verde. Primero se determinó el verdor con el método de refracción y posteriormente se hizo la determinación del contenido de clorofila por el método químico. Los resultados se graficaron y mediante una regresión lineal se obtuvo la siguiente fórmula:

$$\text{Clorofila } (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = (0.4753) (e^{0.0265 \times \text{SPAD}})$$

Dónde:

SPAD es el promedio de las lecturas SPAD

Determinación de variables fotosintéticas. Con un sistema de fotosíntesis portátil LI-6400® (LICOR, Inc., USA) se midió la tasa instantánea de fotosíntesis neta (A), la concentración interna de CO_2 (C_i) y la conductancia estomática (g_s) en hojas de mango con los grados de infestación establecidos. Además, el equipo permitió el monitoreo de variables ambientales como temperatura, humedad relativa, radiación fotosintéticamente activa incidente y concentración de CO_2 ambiental (del aire, C_o). En campo las mediciones se hicieron en tres fechas (6, 16 y 21 de mayo de 2011) y en invernadero en una fecha (23 de septiembre de 2013).

Las mediciones instantáneas se hicieron desde las 11:00 a las 14:00 h. En estas mediciones se usó la lámpara que provee la radiación fotosintéticamente activa (RFA) a una intensidad constante de $1400 \text{ mol de fotones de luz} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, y se fijaron las siguientes condiciones constantes de medición (lo cual también permite hacer el LI-6400®): temperatura de la hoja $36 \text{ }^\circ\text{C}$, humedad relativa de la cámara de asimilación a $38 \pm 5 \%$, y una concentración de CO_2 de 400 ppm en el aire de entrada (LI-COR, 2008). Estos sistemas portátiles proporcionan mediciones en tiempo real de la absorción de CO_2 (A), la transpiración (E), la conductancia estomática (g_s) y la fracción molar de CO_2 intercelular (C_i), entre otros parámetros (Long y Bernacchi, 2003).

En invernadero, después de la medición de las variables fotosintéticas, se tomaron fotografías de las hojas medidas, a las cuales se les colocó una regla graduada en cm para usarla como escala con la finalidad de establecer umbrales de daño. A las fotografías se les cambió luego el color: la lámina foliar sana se coloreó de azul y las colonias de escamas de rojo, con el uso del programa Gimp® v 2.8.4 (<http://gimp.es/>). Con el programa Irfanview® v. 4.38 (<http://www.irfanview.com/>), se hizo la calibración

en cada una de las fotografías originales con base en la escala (regla) en cm, para así poder determinar el área foliar total e infestada en cm^2 , y se estimó el porcentaje de área infestada en las imágenes editadas por el programa Gimp®.

Los datos obtenidos se organizaron mediante el programa Microsoft Excel 2010®, con el que se calcularon promedios y desviaciones estándar. Con el programa Statistical Analysis System (SAS) v. 9 se hizo el análisis de varianza y se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey para parámetros como A , C_i , y g_s de las hojas con y sin infestación de escama blanca.

Para relacionar cuantitativamente la tasa instantánea de fotosíntesis neta con la magnitud de área infestada, se hizo una curva de regresión a partir de los datos observados de la tasa instantánea de fotosíntesis neta en invernadero, los cuales se ajustaron con el programa Curve Expert Professional v.2.0.3 ® (<http://www.curveexpert.net/download/>), el cual proporcionó los modelos y valores de las ecuaciones de mejor ajuste estadístico y fisiológico, que permitieron calcular los datos predichos.

Cinéticas fotosintéticas. La cinética fotosintética de una hoja madura en tres árboles de mango var. Manila se hicieron los días 7, 17 y 21 de mayo de 2011, en tres repeticiones (hojas), con el monitoreo continuo durante 30 a 40 min de la tasa de fotosíntesis neta (A), en función de diversos niveles de CO_2 atmosférico (C_o) e interno (C_i). Durante las respectivas mediciones se mantuvieron constantes las variables ambientales del interior de la cámara: RFA incidente en la hoja en $1400 \text{ mol de fotones de luz} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, temperatura de $34 \text{ }^\circ\text{C}$, y humedad relativa de $48 \pm 10 \%$.

Los niveles evaluados de CO₂ del aire de entrada (*C_o*) variaron desde 50 hasta 2000 ppm, en el siguiente orden: 400, 200, 100, 50, 400, 400, 600, 1000, 1200, 1600, 2000 ppm, con intervalos de 3 min por nivel de CO₂. Se usó un sistema de fotosíntesis portátil LI-6400® (LICOR, Inc., USA), que permite regular la temperatura de la cámara de intercambio de gases, la radiación incidente en la hoja con una lámpara programable (6400-02B® RedBlue #SI-1171 light source; LICOR, Inc., USA) y la concentración de CO₂ con un dosificador (6400-01® CO₂ mixer, LI-COR, 2008). Estas mediciones de cinéticas se hicieron entre las 10:00 y las 14:00 h.

Los datos obtenidos se organizaron mediante el programa Microsoft Excel 2010®, con el que se calcularon promedios y desviaciones estándar. A partir de los datos observados, se obtuvieron las curvas *A/C_i*, que luego fueron ajustadas con el programa Curve Expert Professional v. 2.0.3 ®, el cual proporcionó los modelos y valores de las ecuaciones de mejor ajuste estadístico y fisiológico, que permitieron calcular los datos predichos.

Las cinéticas fotosintéticas *A/C_i* se graficaron con respecto a los promedios de *A* en cada *C_i* correspondiente a cada nivel de *C_o* aplicado, con los valores predichos de cada tipo de hoja; por tanto, los datos ajustados por modelos se consideran libres de error experimental. Con estas gráficas se pudo calcular el punto de compensación por CO₂ (*P_{comp}*), el cual refleja el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración como una función de la concentración de *C_i* de modo que la fotosíntesis neta es igual a cero; el punto de saturación por CO₂ (*P_{sat}*), en la que *A* alcanza su máximo valor (*A_{max}*); y la eficiencia de carboxilación por la enzima Rubisco (*ER*) o tasa de captura enzimática del CO₂ (Taiz y Zeiger, 2002). El *P_{sat}* se señaló en las gráficas con datos predichos, pero

también tomando en cuenta los datos observados para asegurar que ya no hubiera aumentos de A al aumentar C_i , o que tales cambios fueran mínimos.

RESULTADOS

Contenido de clorofila

El mayor contenido de clorofila se registró en hojas sanas y en las zonas sanas, donde la concentración del pigmento fue aproximadamente el doble que el encontrado en las zonas infestadas y en las hojas con infestación alta (Tukey $\alpha \leq 0.05$) (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Contenido de clorofila en hojas maduras de mango (vars. Manila y Ataúlfo) con diferentes grados de infestación por escama blanca del mango. (6 y 16 de mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz; 21 de mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero).

Nivel de infestación	Clorofila ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Manila	Manila	Manila	Ataúlfo
	06-05-2011	16-05-2011	21-05-2011	21-05-2011
HS	2.071a ^z	2.036 a	2.573 a	1.135 a
ZS	1.871 ab	2.020 a	2.333 a	1.318 a
ZI	1.461 bc	1.338 b	1.473 b	0.644 b
IA	1.297 c	1.193 b	1.386 b	No se observó
DMSH	0.447	0.286	0.706	0.38

DMSH= Diferencia mínima significativa honesta. HS = Hoja sana, ZS = Zona sana, ZI = Zona infestada, IA = Infestación alta. ^z Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes, con $\alpha \leq 0.05$

Los resultados indican que la reducción de clorofila ocurre únicamente en las partes colonizadas de las hojas, sin importar si la infestación es alta o baja. Este mismo comportamiento se observó en las dos variedades.

El contenido de clorofila en las hojas de la variedad Ataúlfo fue menor al registrado en la variedad Manila, no obstante, en las dos variedades la reducción del pigmento en la zona infestada fue de la misma proporción.

Tasas instantáneas de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) y concentración interna de CO_2 (C_i).

En la variedad Manila, las mediciones de campo del 6 y 16 de mayo de 2011, así como la medición en invernadero, permitieron observar que la infestación por escama blanca del mango causó la reducción de la tasa instantánea de fotosíntesis neta (A) no sólo en las partes infestadas sino también en la zona sana de hojas infestadas. En la medición del 21 de mayo de 2011 en la variedad Manila no hubo diferencias estadísticas ($\alpha \leq 0.05$) en A , a pesar de que en las hojas sanas tuvieron la mayor A , y ésta fue hasta 60 % menor que la registrada en las dos mediciones anteriores (Cuadro 3.2).

En la variedad Ataúlfo no se encontraron diferencias en la tasa instantánea de fotosíntesis neta. Cabe destacar que en esta variedad no se encontraron hojas con infestación alta.

Los datos indican que la infestación por escama blanca induce el cierre de estomas (reducción de la conductancia estomática), ya que en todas las mediciones de campo se observaron diferencias estadísticas entre las hojas sanas que presentaron las

mayores conductancias respecto al resto de los tratamientos, aún en las zonas de la hoja libres de la presencia de insectos. En las plantas en invernadero la conductancia estomática de hojas sanas e infestadas no tuvo efectos significativos.

La concentración interna de CO₂ (*C_i*), fue similar en hojas sanas e infestadas en campo, a excepción del 16 de mayo de 2011, donde las hojas infestadas tuvieron la mayor *C_i* y las hojas sanas la menor. En invernadero, la situación fue inversa.

Cuadro 3.2. Tasa instantánea de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (gs), concentración interna de CO₂ (Ci) en hojas maduras de mango (vars. Manila y Ataúlfo) con diferentes grados de infestación por escama blanca en campo e invernadero.

Nivel de infestación	Campo	Campo	Campo	Campo	Invernadero
	Manila 06-05-2011	Manila 16-05-2011	Manila 21-05-2011	Ataúlfo 21-05-2011	Manila 23 sept. 2013
A ($\mu\text{m CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)					
HS	10.610 a	9.978 a	4.170 a	10.040 a	18.10 a
ZS	3.188 b	3.618 b	3.676 a	7.877 a	10.60 b
ZI	1.945 b	2.224 bc	3.056 a	7.507 a	7.60 bc
IA	3.394 b	0.794 c	2.284 a	No se observó	3.13 c
DMSH	1.769	2.731	3.1037	2.7626	7.35
gs ($\mu\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)					
HS	0.121 a	0.101 a	0.025 a	0.0613 a	0.089 a
ZS	0.063 b	0.048 ab	0.008 b	0.03125 b	0.099 a
ZI	0.060 b	0.048 ab	0.007 b	0.03710 ab	0.099 a
IA	0.045 b	0.027 b	0.011 b	No se observó	0.044 a
DMSH	0.042	0.070	0.009	0.030	0.063
Ci ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)					
HS	227.50 a	229.83 c	103.9 a	102.7 a	386.667 a
ZS	275.00 a	253.33 bc	-202.3 a	-83.0 a	377.333 ab
ZI	279.67 a	269.50 ab	-382.7 a	-18.6 a	382.0 a
IA	250.13 a	305.33 a	-4.3 a	No se observó	363.750 b
DMSH	57.208	38.242	504.15	312.57	18.06

DMSH= Diferencia mínima significativa honesta. ^z Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes, con $\alpha \leq 0.05$
 HS = Hoja sana, ZS = Zona sana, ZI = Zona infestada, IA = Infestación alta

Umbrales de daño

Como se puede observar en la Figura 3.2, en invernadero se logró la infestación de escama blanca del mango en diferentes gradientes, lo que permitió estimar la tasa instantánea de fotosíntesis neta y demás parámetros fotosintéticos en hojas con niveles de infestación similares a los medidos en campo. En invernadero se pudieron establecer umbrales aproximados de daño.

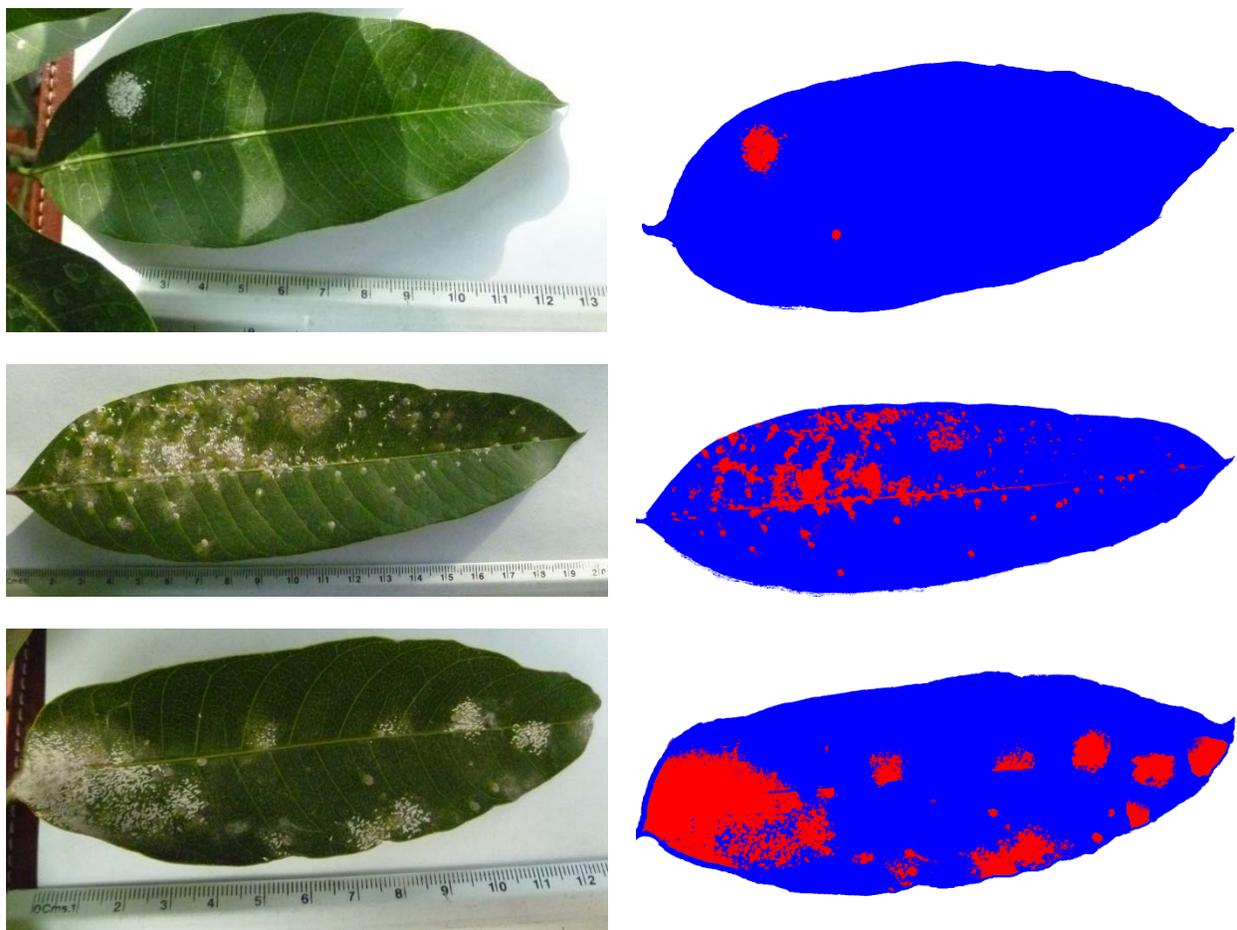


Figura 3.2. Izquierda: hojas de mango var. Manila con diferentes grados de infestación por escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en invernadero, la primera es una hoja con infestación baja, las siguientes hojas con infestación alta. Derecha: Mismas fotografías editadas para obtener umbrales de daño. Montecillo, México, septiembre 2013.

Los resultados indican que la infestación de escama blanca aun en porcentajes bajos (1.30 %) de área foliar infestada pueden inducir reducciones importantes en la tasa de fotosíntesis neta no sólo en la zona con infestación sino también en la zona sana, efecto que se acentúa con porcentajes de infestación mayores, ya que a partir de 11.51 % de hoja infestada la tasa de fotosíntesis se reduce ampliamente, al grado que con 23 % de superficie colonizada la hoja no fotosintetiza sino solamente respira (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Tasa instantánea de fotosíntesis neta (A) de hojas de mango var. Manila con diferente grado de infestación por escama blanca, medida en invernadero después de inducir infestación.

Nivel de infestación	Área total cm ²	Área Infest. cm ²	P. Infest. %	A (Z. S.) µm CO ₂ ·m ⁻² ·s ⁻¹	A (Z. I.) µm CO ₂ ·m ⁻² ·s ⁻¹
Sana		0	0	13.4	
Sana		0	0	19.9	
Sana		0	0	21	
Baja	59.65	0.77	1.30	10	7.6
Baja	35.66	0.53	1.44	5.9	3.6
Baja	60.13	1.14	1.89	14.1	9
Baja	38.97	1.50	3.85	12.4	10.2
Alta	85.73	9.87	11.51		2.3
Alta	67.89	9.03	13.30		4.2
Alta	50.79	8.93	17.59		6.4
Alta	90.11	20.96	23.26		-0.4

Area Infest. = Área infestada, P. Infest. = Porcentaje de infestación, A (Z. S) = Tasa instantánea de fotosíntesis neta en la zona sana, A (Z. I) = Tasa instantánea de fotosíntesis neta en la zona infestada

Al relacionar cuantitativamente la tasa instantánea de fotosíntesis neta con la magnitud de área infestada a través de una curva de regresión (Figura 3.2) se observa que el umbral de tolerancia a la infestación por escama blanca del mango es muy bajo, ya que con 1 % de área infestada A es similar al valor más bajo registrado en hojas sanas, sin embargo con 4 % de infestación el abatimiento de la fotosíntesis es del 57 % al grado

que con 21.75 % de infestación la tasa instantánea de fotosíntesis neta es cercana a cero ($0.17 \mu\text{mol de CO}_2 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

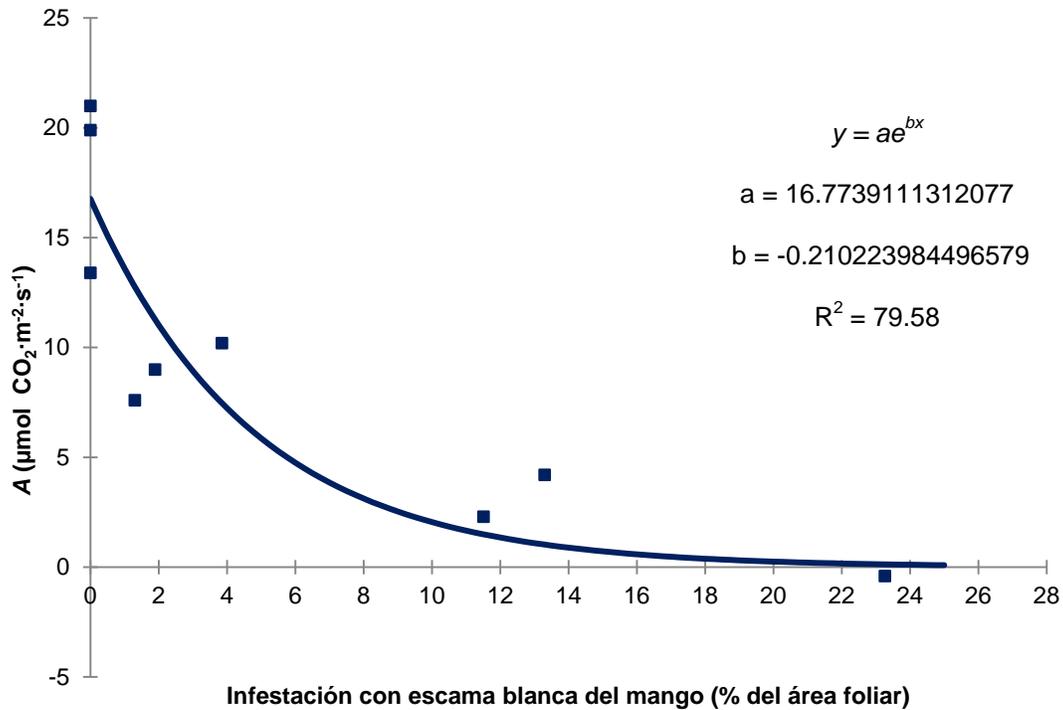


Figura 3.3. Curva de regresión para relacionar cuantitativamente la tasa instantánea de fotosíntesis en hojas de mango var. Manila con la magnitud de área infestada. Montecillo, México, septiembre 2013.

Al igual que en los datos obtenidos en campo, en las zonas sanas de hojas con infestación baja la tasa instantánea de fotosíntesis neta es menor que en las hojas totalmente sanas.

Cinéticas fotosintéticas (A/C_i)

Punto de saturación por CO₂ (P_{Sat}) y A_{max} . Las cinéticas se hicieron en función de la concentración interna de CO₂ (C_i), porque es la que está disponible para la fotosíntesis en los cloroplastos (Damián *et al.*, 2009). En todas las mediciones se mantuvo constante la RFA en 1400 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Las cinéticas fotosintéticas en ambos tipos de hoja mostraron un comportamiento similar, en las que se observó que la infestación por escama blanca redujo el punto de saturación por CO₂ (P_{sat}), y A_{max} en todas las fechas de muestreo (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4. Puntos de compensación (P_{comp}) y saturación (P_{sat}) por CO₂, tasa máxima de fotosíntesis (A_{max}) y eficiencia de Rubisco (ER) en hojas de mango var. Manila, sanas e infestadas por escama blanca del mango en Tierra Blanca, Veracruz (7 y 17 de mayo de 2011) y Tecpan de Galeana, Guerrero (21 de mayo de 2011).

	7 mayo 2011		17 mayo 2011		21 mayo 2011	
	Sanas	Infestadas	Sanas	Infestadas	Sanas	Infestadas
P_{comp}^* ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	113.9	124.1	78.1	134.1	77.2	172.8
P_{sat}^* ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	840	480	1200	760	410	327
A_{max}^* ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	8.5	3.8	13	4.6	8.8	1.95
ER^* ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	0.0255	0.0173	0.0286	0.0204	0.0479	0.0153
Temp* (°C)	34	34	34.3	35.1	35.1	35.1
RFA* ($\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1400.3	1399.8	1400	1400.2	1400.1	1399.4

*Los valores de las variables no presentan estadísticos de dispersión porque se obtuvieron a partir datos predichos

El 7 de mayo de 2011 en hojas sanas el P_{sat} , es decir la concentración de C_i a la cual A alcanzó su máximo valor y se mantuvo constante, se encontró a una C_i de $840 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, con una A_{max} de $8.5 \mu\text{mol de CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, mientras que en hojas infestadas el P_{sat} fue de $480 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, con A_{max} en $3.8 \mu\text{mol de CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Cuadro 3.4). A partir del punto de saturación A se volvió asintótica (Figura 3.4a).

El 17 de mayo de 2011, el P_{sat} en hojas sanas aumentó a $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, y en hojas infestadas a $760 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Figura 3.4b). En hojas sanas, se registró un aumento de 130 % de la concentración de C_i a la cual alcanzaron el P_{sat} respecto a la medición del 7 de mayo, mientras que en hojas infestadas el incremento fue de 158 %.

No obstante, A_{max} en hojas sanas tuvo un incremento de 153 % respecto a la primera medición, y en hojas infestadas de 121 %. Es decir, que las hojas infestadas en la segunda medición tuvieron la capacidad de usar una mayor concentración de C_i respecto a la primera, aunque no tuvo un incremento significativo en A_{max} , lo cual puede ser efecto del daño al aparato fotosintético ocasionado por la infestación de la escama blanca, caso contrario de las hojas sanas donde el incremento del P_{sat} fue igual en proporción pero el incremento de A_{max} fue mayor (Figura 3.4b).

Para el 21 de mayo de 2011, en las hojas sanas se observó un rápido incremento de A y el P_{sat} se observó a $410 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, con A_{max} en $8.8 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, mientras que en hojas infestadas el P_{sat} se registró a $327 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, con A_{max} en $1.95 \mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Figura 3.4c). En esta medición se registraron los valores más bajos en P_{sat} en ambos tipos de hoja, aunque sólo las hojas infestadas tuvieron la menor A_{max} .

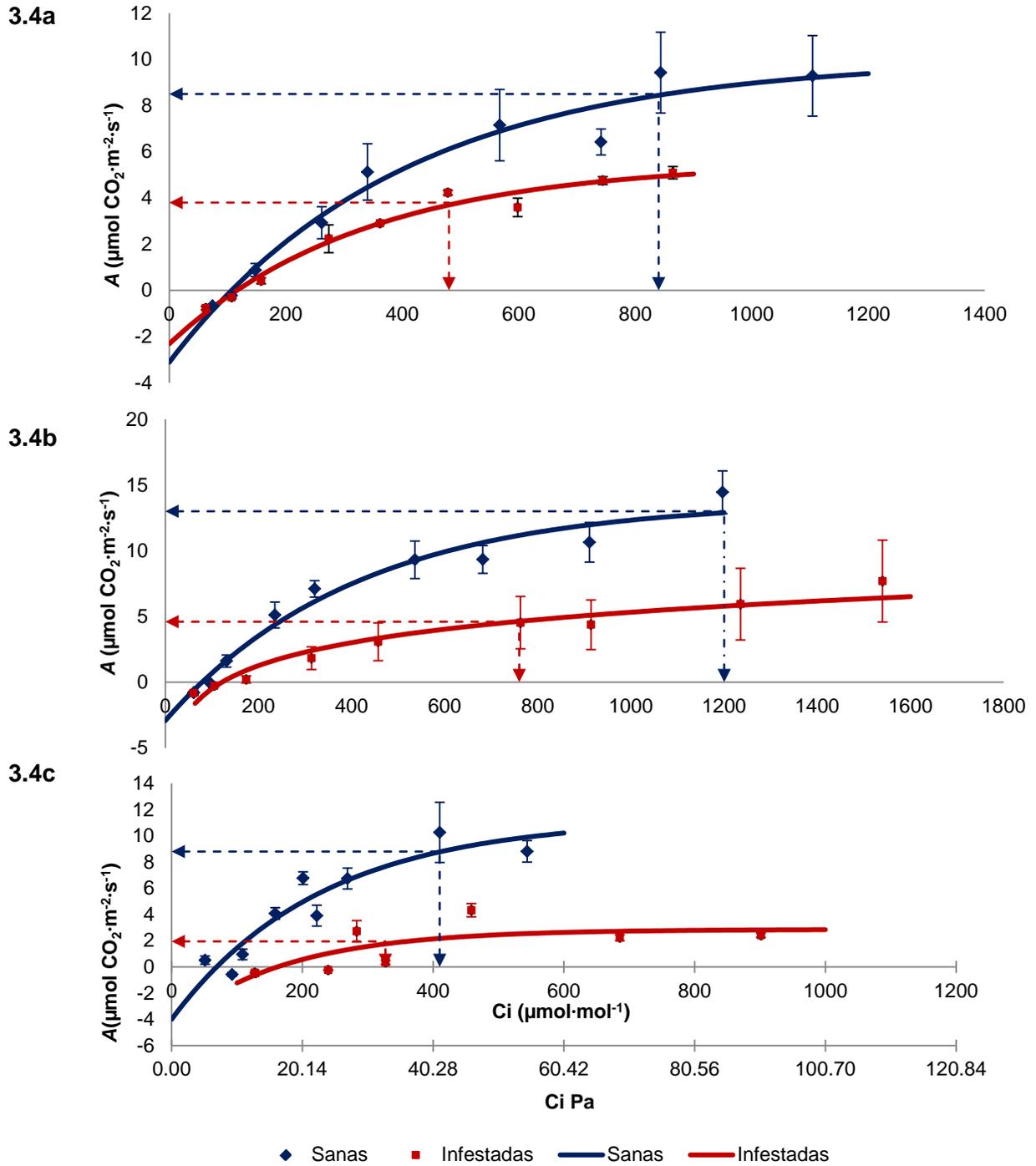


Figura 3.4. Cinéticas de asimilación neta de CO₂ (A) en relación con la concentración interna de CO₂ (C_i) de mango Manila en tres fechas de muestreo: 3.4a (07 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.4b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.4c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero). Las flechas señalan el punto de saturación (P_{sat}).

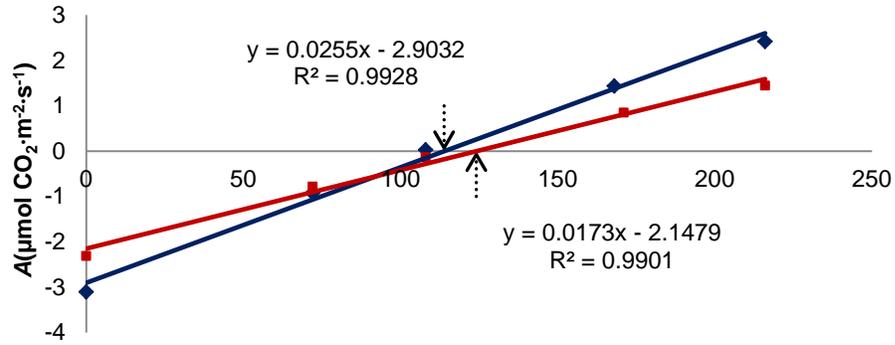
La infestación por escama blanca del mango reduce tanto el P_{sat} y como A_{max} , ya que estos parámetros fueron menores que en las hojas sanas.

Punto de compensación (P_{comp}). El punto de compensación por CO_2 (P_{comp}) refleja el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración como una función de la concentración de CO_2 (Taiz y Zeiger, 2002); es decir, que la tasa de asimilación neta en el P_{comp} es igual a cero.

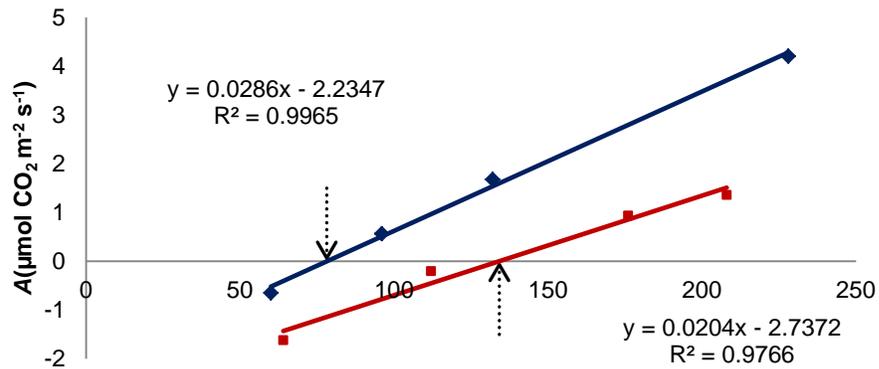
El 7 de mayo de 2011, el P_{comp} de hojas sanas fue de $113.9 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 , mientras que en hojas infestadas se encontró en $124.1 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 (Figura 3.5a). Para el 17 y 21 de mayo de 2011, en hojas sanas el P_{comp} se encontró en 78.1 y $77.2 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 , mientras que en hojas infestadas fue de 134.1 y $172 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 , respectivamente (Figura 3.5b y 3.5c).

Los P_{comp} bajos de las hojas sanas indican que fueron más eficientes en el aprovechamiento de CO_2 respecto a las hojas infestadas, las cuales requirieron mayor concentración interna de CO_2 para empezar a fotosintetizar.

3.5a



3.5b



3.5c

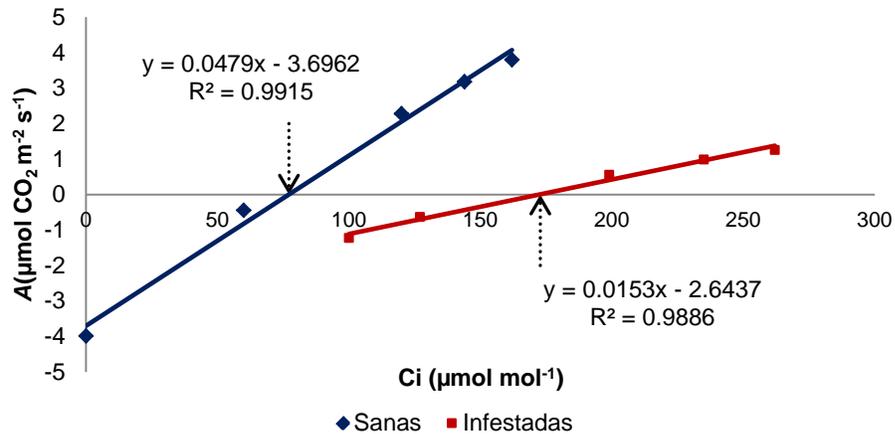


Figura 3.5. Parte lineal de las cinéticas A/C_i de hojas de mango Manila, mediante la cual se estima la eficiencia de carboxilación de la enzima Rubisco (ER), como pendiente de la recta, y el punto de compensación por CO_2 (P_{comp}), por la intersección con el eje de C_i , en tres fechas de muestreo: 3.5a (07 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.5b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz) ; 3.5c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero).

Eficiencia de Rubisco (ER). El cálculo de la pendiente de la parte recta de las curvas A/C_i , (trazada desde 0 hasta 262 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2) permitió obtener la eficiencia de carboxilación del mango, tanto en hojas sanas como infestadas (Figura 3.5).

La eficiencia de carboxilación en hojas sanas fue de 0.0255, 0.0286 y 0.0479 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, y en hojas infestadas 0.0173, 0.0204 y 0.0153 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, en las tres fechas de medición respectivamente. La infestación por escama blanca del mango también disminuye la eficiencia de Rubisco, ya que en hojas infestadas hubo una reducción de 32, 29 y 68 % en la eficiencia de carboxilación con respecto a las hojas sanas.

Conductancia estomática (g_s). La conductancia estomática (g_s) de las hojas sanas e infestadas de mango disminuyó de manera lineal al aumentar C_i . El 7 de mayo de 2011 se observó que a bajas concentraciones de C_i la conductancia estomática de las hojas infestadas fue 27 % mayor que en las hojas sanas, pero a medida que C_i aumentó, g_s de hojas infestadas disminuyó rápidamente a tal grado de tener casi cerrados sus estomas a 900 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 , mientras que en hojas sanas esta disminución fue gradual y a 1100 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 sus estomas aún permanecían abiertos (Figura 3.6a).

En las siguientes mediciones tanto en hojas sanas como infestadas no se observó una diferencia en g_s (Figura 3.6b, 3.6c). La reducción de g_s a medida que aumentó la concentración de C_i fue gradual, sin presentar cierre de estomas a altas concentraciones internas de CO_2 . Sin embargo, la diferencia en A_{max} fue evidente en

las tres mediciones, lo que indica que la reducción de A no se debió al cierre de estomas.

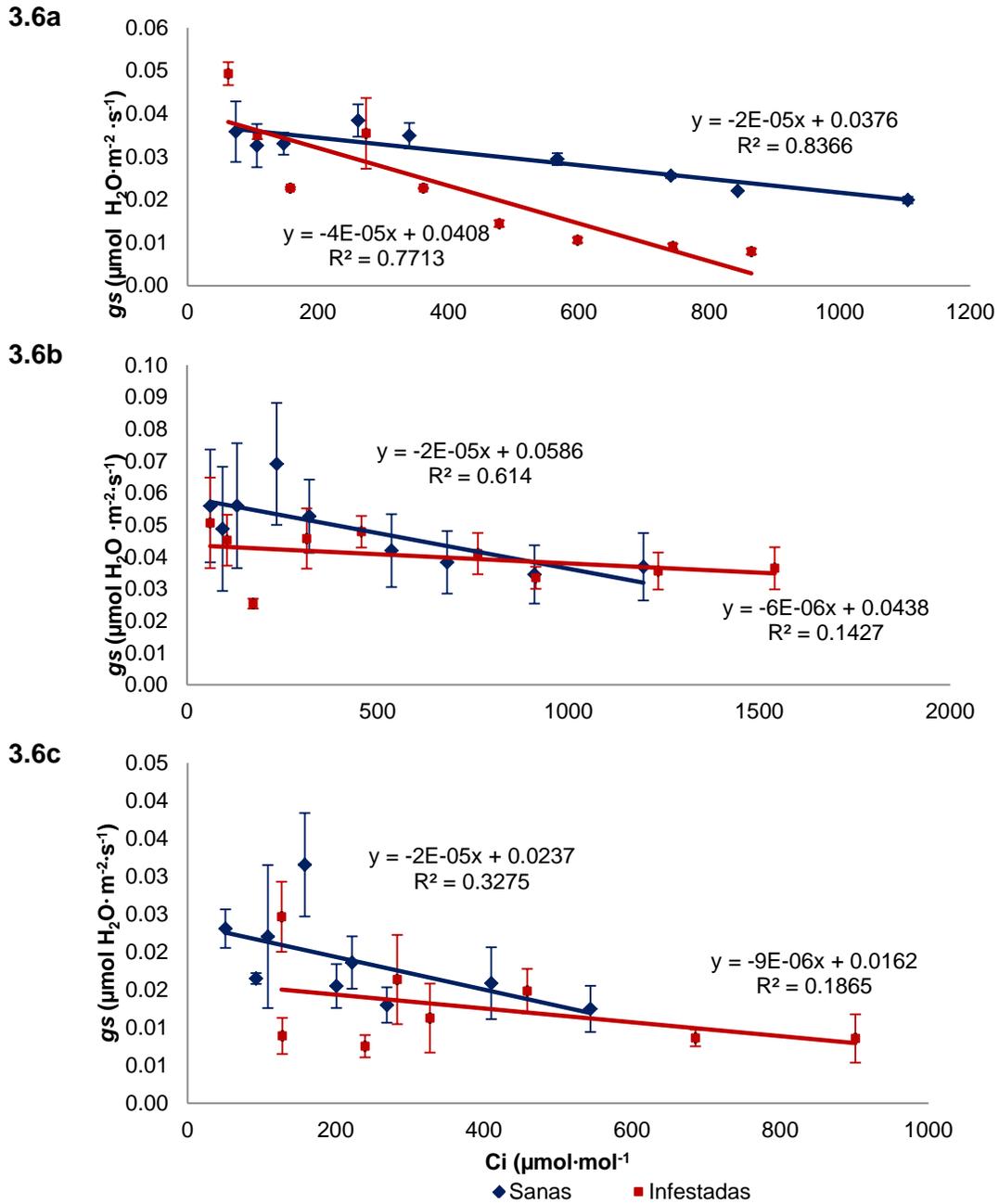


Figura 3.6. Conductancia estomática (g_s) de hojas de mango Manila en tres fechas de muestreo: 3.6a (7 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.6b (17 mayo 2011, Tierra Blanca, Veracruz); 3.6c (21 mayo 2011, Tecpan de Galeana, Guerrero).

Al aplicar el método de Sharkey *et al.* (2007) se observó que la infestación por escama blanca reduce todos los parámetros calculados. En el caso de la velocidad máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$), la infestación puede inducir reducciones desde 56 % hasta 71 %, como lo registrado en la primera y segunda fecha de muestreo, respectivamente. Las hojas sanas presentaron una tasa de regeneración de ribulosa bifosfato (J) superior hasta en 56 % a las hojas infestadas.

En cuanto al uso de triosas fosfato (TPU), las hojas sanas también fueron superiores a las hojas infestadas desde 40 hasta en 68 %.

En hojas infestadas la respiración (R_d) se redujo hasta 60 % con respecto a las hojas sanas. La conductancia del mesófilo (g_m) en la primera fecha en hojas infestadas fue 13 % mayor que en las hojas sanas, aunque en la segunda fecha los datos que proporcionó la hoja de cálculo fueron negativos para hojas infestadas, los cuales no son posibles; por ello se optó en poner cero, lo mismo ocurrió en la tercera fecha en ambos tipos de hoja (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. Parámetros fotosintéticos de Sharkey *et al.* (2007) de hojas de mango var. Manila, sanas e infestadas por escama blanca del mango en Tierra Blanca, Veracruz (7 y 17 de mayo de 2011) y Tecpan, Guerrero (21 de mayo de 2011).

	7 mayo 2011		17 mayo 2011		21 mayo 2011	
	Sanas	Infestadas	Sanas	Infestadas	Sanas	Infestadas
<i>V_{Cmax}</i>						
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	28.75 ± 1.37	12.60 ± 3.23	69.35 ± 9.11	20.07 ± 18.24	54.43 ± 21.66	18.11 ± 8.84
<i>J</i>						
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	35.88 ± 11.56	17.72 ± 2.15	43.48 ± 2.80	19.13 ± 17.10	44.61 ± 14.91	20.52 ± 1.20
<i>TPU</i>						
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.14 ± 0.74	1.53 ± 0.08	4.13 ± 0.16	2.47 ± 2.02	3.67 ± 0.19	1.16 ± 0.09
<i>Rd</i>						
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1.39 ± 0.59	0.78 ± 0.05	2.42 ± 1.25	0.97 ± 0.57	2.41 ± 2.07	1.24 ± 0.19
<i>gm</i>						
$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$	0.21 ± 0.11	0.24 ± 0.12	0.48 ± 0.40	0	0	0 ± 0.00

± Desviación estándar (n=2). *V_{Cmax}* = Velocidad máxima de carboxilación, *J* = Regeneración de ribulosa bifosfato, *TPU* = Uso de triosas fosfato, *Rd* = Respiración, *gm* = Conductancia del mesófilo

DISCUSIÓN

La clorofila es un pigmento fotosintético, que ayuda a las plantas a obtener energía de la luz. Las plantas usan la energía para combinar el dióxido de carbono y agua en carbohidratos para mantener su proceso de vida (Shibghatallah *et al.*, 2013).

La clorofila determina el color verde de las hojas (Costa *et al.*, 2003). El color de las hojas de una planta puede ser usado para identificar niveles de estrés, debido a su adaptación a los cambios ambientales (Shibghatallah *et al.*, 2013).

La baja concentración de clorofila en hojas con infestación alta y la zona infestada de una hoja con infestación baja se atribuye al daño celular producido por el haz de estiletes de la escama blanca del mango, ya que suelen ser muy largos y en el caso de hembras que miden aproximadamente 1 mm, pueden hasta triplicar su tamaño (3 mm), por lo que tienen la capacidad de explorar un área considerable a partir de su zona de inserción (Juárez-Hernández *et al.*, 2014). De acuerdo con Sytykiewicz *et al.* (2013) los cambios en el contenido de la clorofila total (a+b) en tejidos foliares son un indicador importante de cloroplastos perturbados y el deterioro de la capacidad fotosintética en plantas expuestas a un amplio espectro de factores de estrés biótico y abiótico.

Sytykiewicz *et al.* (2013) mencionan que la infestación de insectos por periodos largos y en densidades altas reduce en mayor grado el contenido de clorofila en comparación con la presencia de insectos por periodos y densidades menores. No obstante, en el presente trabajo se encontró que la reducción de clorofila producida por la infestación de colonias pequeñas, como es el caso de la zona infestada de una hoja con

infestación baja, es del mismo orden que la que ocurre en una hoja con infestación alta, donde el número de individuos y por consiguiente de haces de estiletes que simultáneamente dañan y se alimentan de células superan ampliamente a los encontrados en las colonias pequeñas.

Farquhar y Sharkey (1982) mencionan que un descenso de la C_i indica que la causa principal de la reducción de la tasa fotosintética es la reducción de la conductancia estomática, mientras que un incremento de la C_i sugiere que se debe a la disminución de la actividad fotosintética de las células del mesófilo (factor no estomático) como la causa principal de la reducción de la tasa fotosintética.

En el presente estudio, la reducción de A en las zonas sanas, zonas infestadas y hojas con infestación alta respecto a las hojas sanas en la medición del 6 de mayo de 2011, no se debió a una disminución de C_i ya que tanto en hojas sanas como infestadas la concentración interna de CO_2 fue la misma, pero posiblemente se debió a que los estomas estaban casi cerrados (reducción de g_s), mientras que para el 16 de mayo de 2011 la reducción de A en las hojas infestadas además de la disminución de la conductancia estomática, también pudo acumularse el efecto de la disminución de la actividad fotosintética de las células del mesófilo y se vio reflejado en el incremento de C_i .

Schaffer y Mason (1990) indican que los árboles de guayacán (*Guaiaicum sanctum* L.) infestados con la escama *Toumeyella* sp. tuvieron menor fotosíntesis, menor conductancia estomática y transpiración, comparado con árboles no infestados. Sin embargo, en el presente trabajo se observó que incluso en las zonas sanas la tasa de

fotosíntesis fue similar al de las hojas con infestación baja y alta; es decir, que la presencia de las escamas en la hoja puede inducir reducciones de A en zonas libres de ellas.

Patankar *et al.* (2011) reportaron descensos en la capacidad fotosintética (aprox. 60 %) y conductancia estomática (aprox. 50 %) en hojas de árboles de arce de azúcar (*Acer saccharum* Marsh.) agalladas por el ácaro *Vasates aceriscrumena* (Riley & Vasey 1870), con niveles muy bajos de agallamiento (aprox. 1 % del área foliar), lo cual afectó el intercambio de gases en la hoja entera. En el presente estudio, al relacionar la tasa instantánea de fotosíntesis con el área infestada se encontró que con 4 % de área infestada la reducción de la fotosíntesis fue de 57 %, redujo incluso en las zonas sanas de hojas con infestaciones bajas, respecto a hojas totalmente sanas.

Se encontró además que la reducción de A de las zonas sanas respecto a las hojas sanas fue de 70 y 64 % en la primera y segunda fecha respectivamente, mientras que en g_s la reducción fue de 48 y 53 % respectivamente. Delaney *et al.* (2008) mencionan que algunos insectos que eliminan parte del tejido foliar reducen la actividad fotosintética en la parte restante de las hojas dañadas. Esto se debe a que actúan simultáneamente sustancias contenidas en las secreciones salivales y la alimentación de los insectos, lo que causa considerable estrés en las células vegetales atacadas; en respuesta a este estrés la planta trasloca metabolitos (principalmente fotoasimilados) y promotores del crecimiento al sitio bajo tensión (Raman, 2007).

La reducción de A en la parte sana de una hoja con infestación baja hace suponer que la infestación por escama blanca del mango induce la producción de mensajeros

secundarios; sin embargo, los alcances del trabajo no permiten comprobar tal afirmación. Walling (2000) menciona que los artrópodos que se alimentan del contenido celular como los ácaros o trips causan un daño tisular extensivo y activan vías de señalización de daño.

De acuerdo con Jolliffe *et al.* (1968) y Ku *et al.* (1976), hay muchos factores que afectan a la tasa de fotosíntesis neta: los principales son la intensidad de luz, la concentración de dióxido de carbono, y la temperatura. En el presente trabajo, las condiciones de radiación natural, luz artificial aplicada por el equipo portátil de fotosíntesis, flujo de CO₂ y temperatura fueron similares en todas las fechas de muestreo (Cuadro 6), por lo que los valores de *A* el 21 de mayo de 2011 donde no se encontraron diferencias entre hojas sanas e infestadas respecto a las dos fechas anteriores no puede ser explicada por estos factores.

Cuadro 3.6. Variables ambientales proporcionados por el equipo LI-6400 durante la medición de los parámetros fotosintéticos.

	06-05-2011	16-05-2011	21-05-2011
Temp. aire (°C)	33.62	34.080	35.15
Temp. hoja (°C)	34.53	35.305	36.71
CO₂ ref. (ppm)	384.45	399.427	399.859
CO₂ muestra (ppm)	377.00	384.610	394.573
Hum. Rel. ref. (%)	32.11	24.927	32.788
Hum. Rel. muestra (%)	38.09	37.882	34.311
RFA muestra (μmol fotón·m⁻²·s⁻¹)	1399.58	1400.33	1359.83
RFA amb. (μmol fotón·m⁻²·s⁻¹)	630.14	679.42	568

Temp. = Temperatura, ref. = referencia, Hum. Rel. = Humedad relativa, RFA = Radiación fotosintéticamente activa, amb. = ambiental

El P_{sat} por CO_2 en hojas sanas varió de 410 a 1200 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 (C_i); en hojas infestadas de 327 a 760 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 (C_i). Lo anterior coincide con (Taiz y Zeiger, 2002) quienes mencionan que en las plantas C_4 las tasas de fotosíntesis se saturan a valores de C_i de aproximadamente 190.9 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, lo que refleja los mecanismos de concentración de CO_2 efectivos que operan en estas plantas, en tanto que en las plantas C_3 , como el mango, continúa el aumento de los niveles de C_i para estimular la fotosíntesis en un rango mucho más amplio. Estos resultados indican que las plantas C_3 pueden beneficiarse más de los aumentos continuos en las concentraciones atmosféricas de CO_2 .

De acuerdo con Taiz y Zeiger (2002), el P_{comp} máximo de la mayoría de especies C_3 es de 70 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 . En el presente estudio se observó un amplio rango de C_i en el cual se encontró el P_{comp} en las tres fechas de medición tanto en hojas sanas (36.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2), como en hojas infestadas (48.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2); el P_{comp} en hojas sanas siempre fue menor que en hojas infestadas. Sólo el 16 de mayo de 2011, el P_{comp} de hojas sanas superó en 63 % al valor reportado por Taiz y Zeiger, (2002), porque en las siguientes mediciones el P_{comp} de hojas sanas fue 12 y 10 % mayor, respectivamente, por lo que podría considerarse igual. No obstante, en las hojas infestadas fue 77, 92 y 245 % mayor a los 70 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ de CO_2 . El 21 de mayo de 2011, las hojas infestadas además de registrar el mayor valor en P_{comp} , tuvieron la menor A_{max} de las tres mediciones.

La eficiencia de carboxilación de hojas sanas de mango Manila (0.0479 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) fue menor que la reportada por Damián *et al.* (2009) para guayabo (0.078.6 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e igual que en naranjo (0.047 $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Es decir, el mango

es igual de eficiente en la captura del CO₂ que el naranjo y menos eficiente que el guayabo.

La eficiencia de la Rubisco fue menor en las hojas infestadas que en las sanas en todas las mediciones, merma debida al estrés causado por la presencia de las colonias escamas. Sampol *et al.* (2003) mencionan que en vid (*Vitis vinifera* L.) la infección por el virus de la hoja de abanico (GFLV) y el virus asociado al enrollamiento de la hoja (GLRaV), disminuyó en 50 % la fotosíntesis, así mismo, la conductancia del mesófilo y la actividad de la Rubisco disminuyeron sustancialmente en las plantas infectadas. Estos mismos autores encontraron que la apertura y cierre estomáticos no se vieron afectados en las plantas infectadas por los virus GFLV y GLRaV, lo que demostró que el cierre de estomas no estaba causando la disminución de la fotosíntesis. En el presente estudio, la conductancia estomática fue similar tanto en hojas sanas como infestadas, aunque sí se vieron diferencias evidentes en la fotosíntesis.

La escama blanca del mango tuvo un impacto negativo en $V_{C_{max}}$ y J , los cuales fueron menores que en las hojas sanas. De acuerdo con un estudio comparativo hecho por Wullschleger (1993), en plantas perennes el promedio de $V_{C_{max}}$ y J es de 44 y 97 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente. Sin embargo, en el presente trabajo en hojas sanas se registraron valores máximos para esos parámetros en 69.35 y 44.61 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, lo cual constituye un aumento en $V_{C_{max}}$ de 158 % y una disminución de 55 % en J a los promedios reportados. Por su parte, Lloyd *et al.* (1987) reportaron en naranja Valencia valores para $V_{C_{max}}$ y J de 11 y 29 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente; es decir, el mango es más eficiente que el naranjo en estos parámetros.

En el uso de triosas fosfato las hojas sanas fueron superiores a las infestadas. El máximo TPU registrado en hojas sanas ($4.13 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) es inferior al promedio para especies C_3 reportado por Wullschleger (1993), el cual lo ubica en $10.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

En la medición del 6 de mayo de 2011, tanto para hojas sanas como infestadas todos sus parámetros representaron limitaciones fotosintéticas, ya que mostraron valores bajos para $V_{C_{\max}}$, J , y TPU . Caso contrario ocurrió en la segunda fecha de muestreo, donde se registraron los valores más altos. A pesar de los valores bajos registrados en la primera medición, los parámetros fotosintéticos en hojas sanas fueron superiores a las infestadas, lo cual no sólo se vio reflejado en la capacidad de usar mayores concentraciones de CO_2 (P_{sat}), sino también en el aumento de A_{\max} .

CONCLUSIONES

La presencia de colonias de escama blanca del mango redujo la concentración de clorofila en las zonas infestadas, en comparación con las zonas libres.

La tasa instantánea de fotosíntesis neta disminuyó en las zonas infestadas, incluso en la zona sana de una hoja con infestación baja, similar a un efecto sistémico.

Se propone una escala diagramática para cuantificar el daño fotosintético de la escama blanca en árboles de mango.

Las curvas A/C_i mostraron que la infestación por escama blanca redujo los parámetros fotosintéticos A_{max} , el punto de saturación por CO_2 (P_{sat}), la eficiencia de carboxilación de la Rubisco (ER), la velocidad máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$), la regeneración de ribulosa bifosfato (J), uso de triosas fosfato (TPU) y aumentó hasta el doble el punto de compensación por CO_2 (P_{comp}). Estos resultados evidencian que la escama blanca del mango afecta al cloroplasto, que es el organelo donde ocurre la fotosíntesis

LITERATURA CITADA

- Aldea M., J. G. Hamilton, J. P. Resti, A.R. Zangerl, M. R. Berenbaum, and E. H. De Lucia. 2005. Indirect effects of insect herbivory on leaf gas exchange in soybean. *Plant, Cell and Environment*. 28: 402–411
- Bautista-Rosales, P. U., J. A. Ragazzo-Sánchez, M. Calderón-Santoyo, E. Cortéz-Mondaca, and R. Servín-Villegas. 2013. *Aulacaspis tubercularis* Newstead in mango orchards of Nayarit, México, and relationship with environmental and agronomic factors. *Southwestern Entomologist*. 38(2): 221–230
- Costa M. S., M. A. Montenegro, T. Arregui, M. I. S. De Pinto, M. A. Nazareno, y B. L. De Mishima. 2003. Caracterización de acelga fresca de Santiago del Estero (Argentina). Comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. Evaluación de los carotenoides presentes. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 23(1): 33-37
- Damián N. A., I. Ramírez R., C. B. Peña V., G. Díaz V., y V. A. González H. 2009. Características del intercambio de gases en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 15 (2): 119–126
- Delaney, K. J., F. J. Haile, R. K. D. Peterson, and L. G. Higley. 2008. Impairment of leaf photosynthesis after insect herbivory or mechanical injury on common milkweed, *Asclepias syriaca*. *Environ. Entomol.* 37(5): 1332–1343
- Dungan R. J., M. H. Turnbull y D. Kelly. 2007. The carbon costs for host trees of a phloem-feeding herbivore. *Journal of Ecology*. 95: 603–613

- FAO. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Estadísticas mundiales de la FAO (FAOSTAT) http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#VISUALIZE_BY_DOMAIN Consultada: 15 marzo 2013
- Farquhar, G.D., S. Von Caemmerer, and J.A. Berry. 1980. A Biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149: 78-90
- Farquhar, G. D., and Sharkey, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345
- Flexas, J., A. Díaz-Espejo, J. A. Berry, J. Cifre, J. Galmés, R. Kaldenhoff, H. Medrano, and M. Ribas-Carbó. 2007. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany.* 58 (6): 1533–1543
- Flexas, J., M. Ribas-Carbó, A. Diaz-Espejo, J. Galmés and H. Medrano. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment.* 31: 602–621
- Heng-Moss, T; T. Macedo, L. Franzen, F. Baxendale, L. Higley, and G. Sarath. 2006. Physiological responses of resistant and susceptible buffalograsses to *Blissus occiduus* Hemiptera Blissidae feeding. *Journal of economic entomology* 99 (1): 222–228

- Jolliffe P. A., and E. B. Tregunna. 1968. Effect of temperature, CO₂ concentration, and light intensity on oxygen inhibition of photosynthesis in wheat leaves. *Plant Physiol.* 43: 902–906
- Juarez-Hernández, P., J. Valdez-Carrasco, G. Valdovinos-Ponce, J. A. Mora-Aguilera, G. Otero-Colina, D. Téliz-Ortiz, E. Hernández-Castro, I. Ramírez-Ramírez and V. A. González-Hernández. 2014. Leaf penetration pattern of *Aulacaspis tubercularis* (Hemiptera: Diaspididae) stylet in mango. *Florida Entomologist.* 97(1): 100–107
- Ku, S. B., G. E. Edwards, and C. B. Tanner. 1976. Effects of light, carbon dioxide, and temperature on photosynthesis, oxygen inhibition of photosynthesis, and transpiration in *Solanum tuberosum*. *Plant Physiol.* 59: 868–872
- Labuschagne, T. I., H. Van Hamburg, and I. J. Froneman. 1995. Population dynamics of the mango scale, *Aulacaspis tubercularis* (Newstead) (Coccoidea: Diaspididae), in South Africa. *Israel Journal of Entomology.* 29: 207–217
- LI-COR. 2008. Using the LI-6400/LI-6400XT: Portable Photosynthesis System (Software version 6) LI-COR, Inc. Publication Number 9806–122. Lincoln, NE. USA.
- Lloyd J, P. E. Kriedemann, and J. P. Syvertsen. 1987. Gas exchange, water relations and ion concentrations of leaves on salt stressed 'Valencia' orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Australian Journal of Plant Physiology.* 14: 387-396

- Long, S. P., and C. J. Bernacchi. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*. 54 (392): 2393–2401
- Manter D. K., and J. Kerrigan. 2004. A/Ci curve analysis across a range of woody plant species: influence of regression analysis parameters and mesophyll conductance. *Journal of Experimental Botany*. 55 (408): 2581–2588
- Maschinski, J., and T. G. Whitham. 1989. The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability, and timing. *American Naturalist*. 134: 1–19
- McNaughton, S. J. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos*. 40: 329–336.
- Ni, X., J. P. Wilson, and G. D. Buntin. 2009. Differential responses of forage pearl millet genotypes to chinch bug (Heteroptera: Blissidae) feeding. *Journal of Economic Entomology*. 102 (5): 1960–1969
- Nikinmaa, E., T. Hölttä, P. Hari, P. Kolari, A. Mäkelä, S. Sevanto, and T. Vesala. 2013. Assimilate transport in phloem sets conditions for leaf gas exchange. *Plant, Cell and Environment*. 36: 655–669
- Orihuela D. L.; J. C. Hernández, R. Maestre R. y R. J. López-Bellido. 2007. Calibración de un Minolta SPAD meter en un cultivo de fresón. *Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. XI Congreso SECH. Albacete, España. Actas de Horticultura*. 48: 340–343.

2Fwww.senasica.gob.mx%2Fincludes%2Fasp%2Fdownload.asp%3Fiddocume
nto%3D11745%26idurl%3D16658&ei=aP6mUay5LpK68wTo_YGgDg&usg=AF
QjCNEfFrkcUfbCNLejk07NbGS4HmhXpw Consultada: 15 marzo 2013

Sharkey, T. D., C. J. Bernacchi, G. D. Farquhar, and E. L. Singaas. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment*. 30: 1035–1040

Shibghatallah, M. A. H., S. N. Khotimah, S. Suhandono, S. Viridi, S., and T. Kesuma. 2013. Measuring leaf chlorophyll concentration from its color: A way in monitoring environment change to plantations. *arXiv preprint arXiv:1305.1148*.

Sytykiewicz, H, P. Czerniewicz, I. Sprawka, and R. Krzyżanowski. 2013. Chlorophyll content of aphid-infested seedling leaves of fifteen maize genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*. 55 (2): 51–60

Taiz, L., and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology* (3rd. ed). Sinauer Associates. 690 p.

Urías-López, M. A., J. A. Osuna-García, V. Vázquez-Valdivia, y M. H. Pérez-Barraza. 2010. Fluctuación poblacional y distribución de la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en Nayarit, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 16 (2): 77–82.

Walling L., L. 2000. The myriad plant responses to herbivores. *J Plant Growth Regul* 19: 195–216

- Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307–313.
- Wullschleger, S. D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C3 plants-a retrospective analysis of the *A/Ci* curves from 109 species. *Journal of Experimental Botany.* 44 (262): 907–920.
- Zvereva E. L., V. Lantana y M. V. Kozlov. 2010. Effects of sap-feeding insect herbivores on growth and reproduction of woody plants: a meta-analysis of experimental studies. *Oecologia.* 163: 949–960.

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN GENERAL

Después de atravesar la cutícula coriácea y la epidermis, el haz de estiletes (HE) de la escama blanca del mango explora el mesófilo de las hojas de mango, atravesando los haces vasculares y cambiando su trayectoria, pero manteniendo la mayor parte de su ruta en el mesófilo. Este insecto es una de las pocas especies de escamas armadas que son capaces de perforar las paredes lignificadas de células vegetales como las fibras y los vasos del xilema en los haces vasculares. Caso contrario de especies de escamas armadas como *A. aurantii*, las cuales evitan los haces vasculares al cambiar abruptamente de dirección cuando alcanzan el borde de las células lignificadas del xilema y se alejan del haz vascular (Washington y Walker, 1990), o las escamas *H. rapax* y *H. lataniae*) las cuales penetran la epidermis y parénquima de la corteza del tallo de kiwi, sin penetrar la capa de fibras debajo del parénquima ni al floema que se encuentra debajo de estas fibras (Hill *et al.*, 2011).

Debido a que la punta del HE de la escama blanca del mango no permaneció en el floema para alimentarse de la savia, sino que continuó su exploración del mesófilo, aquí se propone que este insecto no se alimenta exclusivamente de la savia del floema, como lo hacen otras especies chupadoras como los pulgones, sino más bien se alimenta del jugo celular del mesófilo conforme el HE pasa a través de estas células.

La infestación por escama blanca del mango causa la reducción de la concentración de clorofila en las zonas colonizadas de las hojas, lo cual se atribuye al daño celular causado por el HE de la escama blanca del mango que es muy largo (3 mm) y puede superar hasta tres veces la longitud de una hembra. Debido a su gran longitud los HE

tienen la capacidad de explorar un área considerable a partir de su zona de inserción, además de que penetran a la hoja en dirección transversal y tangencial a su superficie.

A lo largo de larga ruta del HE de una sola hembra no se observó lisis celular en los tejidos dañados de las hojas, ni en las células atravesadas o en las circundantes, ni tampoco se detectó reducción del volumen debido a la pérdida de la turgencia celular. Ello sería posible si la succión es tan lenta que el agua que rodea las células puede rellenar la célula perforada y así evitar que la célula colapse. En infestaciones naturales, las colonias de escama blanca en las hojas inicialmente causan manchas cloróticas y después necróticas (Cunningham, 1991; Miller y Davidson, 2005), tal vez porque cada colonia está constituida por al menos 49 individuos (Urías-López *et al.*, 2010), que simultáneamente están penetrando una pequeña superficie de la hoja.

En las mediciones en campo efectuadas en este estudio, la presencia de estos insectos indujo el cierre de estomas (reducción de la conductancia estomática), mientras que en invernadero no se observaron diferencias entre hojas sanas e infestadas.

Porcentajes bajos (4 %) de área foliar infestada pueden inducir reducciones importantes en la tasa instantánea de fotosíntesis neta, no sólo en la zonas colonizadas sino también en la zona sana, similar a un efecto sistémico. Aunque los alcances del presente estudio no permiten demostrar esta afirmación, se sabe que los insectos inyectan a las plantas sustancias químicas en sus secreciones salivales, los cuales causan estrés en las células atacadas y en respuesta la planta trasloca metabolitos y reguladores del crecimiento al sitio de tensión (Raman, 2007).

Además, los artrópodos que se alimentan del contenido celular como los ácaros o trips causan un daño tisular extensivo y activan vías de señalización de daño (Walling, 2000). En estudios previos, Patankar *et al.* (2011) reportaron descensos hasta de 60 % en la capacidad fotosintética y de 50 % en la conductancia estomática de *A. saccharum* agalladas por el ácaro *V. aceriscrumena*, con niveles de agallamiento aproximadamente de 1 % de área foliar, lo cual afectó al intercambio de gases en la hoja entera.

La reducción de la tasa instantánea de fotosíntesis neta se acentuó con porcentajes de infestación mayores, ya que a partir de 11.5 % de hoja infestada la tasa de fotosíntesis se redujo ampliamente, al grado que con 23 % de hoja colonizada la hoja ya no fotosintetizó sino solamente respiraba.

Las cinéticas fotosintéticas (A/C_i) mostraron que la infestación por escama blanca del mango hizo menos eficientes a las hojas de mango, ya que en algunos casos redujo en más del 50 % el valor de parámetros fotosintéticos como A_{max} , P_{sat} y ER , con respecto a las hojas sanas. En el caso del P_{comp} , en hojas infestadas se observó un incremento hasta de 200 % en relación al P_{comp} de las hojas sanas, cuyo valor fue aproximado a lo reportado por Taiz y Zeiger (2002). Los P_{comp} bajos de las hojas sanas indican que fueron más eficientes en el aprovechamiento de CO_2 respecto a las hojas infestadas, las cuales requirieron mayor concentración interna de CO_2 para empezar a fotosintetizar.

Los resultados de aplicar el método propuesto por Sharkey *et al.* (2007) mostraron que la infestación por escama blanca redujo todos los parámetros calculados: la velocidad

máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$) hasta en 71 %, la tasa de regeneración de ribulosa bifosfato (J) en 44 %, el uso de triosas fosfato (TPU) y la respiración (R_d) se redujeron hasta en 60 %, todo con respecto a las hojas sanas. La conductancia del mesófilo (g_m) en hojas infestadas fue 13 % mayor que en las hojas sanas.

Estos resultados evidencian que la escama blanca del mango afecta al cloroplasto, que es el organelo donde ocurre la fotosíntesis. Al respecto, Sytykiewicz *et al.* (2013) mencionaron que los cambios en el contenido de la clorofila total ($a+b$) en tejidos foliares y el deterioro de la capacidad fotosintética en plantas expuestas a un amplio espectro de factores de estrés biótico y abiótico, constituyen un indicador importante de cloroplastos perturbados.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES

La escama blanca es una de las pocas especies de escamas armadas que tienen la capacidad de atravesar células con paredes lignificadas de los haces vasculares.

El haz de estiletes de la hembra de escama blanca del mango es muy largo (3 mm), al menos del triple de la longitud de la hembra, si bien no fue posible observar su punta.

Por su trayectoria se infiere que la hembra de escama blanca se alimenta principalmente de células del parénquima conforme las va atravesando, pero sin causar su colapso. Sin embargo, la presencia en las hojas de varios individuos agrupados en colonias daña a los cloroplastos y a la fotosíntesis, de tal forma que a partir de 4 % del área foliar colonizada la tasa instantánea de fotosíntesis neta disminuye hasta en 57 % en las zonas infestadas, incluso en la zona sana de una hoja con infestación baja, lo que evidencia un efecto sistémico.

La clorosis reportada en la literatura se debe a que en las zonas infestadas por colonias de escama blanca del mango se redujo la concentración de clorofila en comparación con las zonas libres.

La escama blanca redujo los parámetros fotosintéticos A_{max} , el punto de saturación por CO_2 , la eficiencia de carboxilación de la Rubisco, la velocidad máxima de carboxilación, la regeneración de ribulosa bifosfato y el uso de triosas fosfato, a la vez que aumentó hasta el doble el punto de compensación por CO_2 .

LITERATURA CITADA

- Cunningham, I.C. 1991. Common mango scales in Queensland. *Acta Horticulturae* 291: 409-412
- Hill, M. G., N. A. Mauchline, M. K. Jones, and P. W. Sutherland. 2011. The response of resistant kiwifruit (*Actinidia chinensis*) to armoured scale insect (Diaspididae) feeding. *Arthropod-Plant Interactions* 5 (2): 149-161.
- Miller, D. R., and J. A. Davidson. 2005. *Armored Scale Insect Pests of Trees and Shubs*. Cornell University Press, Ithaca, USA. 442 p.
- Patankar R., S. C. Thomas, and S. M. Smith. 2011. A gall-inducing arthropod drives declines in canopy tree photosynthesis. *Oecologia*. 167: 701–709
- Raman A. 2007. Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. *Current Science*. 92 (6): 748–757
- Sharkey, T. D., C. J. Bernacchi, G. D. Farquhar, and E. L. Singsaas. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment*. 30: 1035–1040
- Sytykiewicz, H, P. Czerniewicz, I. Sprawka, and R. Krzyżanowski. 2013. Chlorophyll content of aphid-infested seedling leaves of fifteen maize genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*. 55 (2): 51–60
- Taiz L., and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology* (3rd. ed). Sinauer Associates. 690 p.

- Urías-López, M. A., J. A. Osuna-García, V. Vázquez-Valdivia, y M. H. Pérez-Barraza. 2010. Fluctuación poblacional y distribución de la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en Nayarit, México. Revista Chapingo Serie Horticultura. 16 (2): 77–82.
- Walling L., L. 2000. The Myriad Plant Responses to Herbivores. J Plant Growth Regul 19: 195–216
- Washington, J., R., and G. P. Walker. 1990. Histological studies of California red scale (Homoptera: Diaspididae) feeding on citrus. Annals of the Entomological Society of America 83 (5):939-948