



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA**

**HISTOLOGÍA DEL DAÑO CAUSADO POR ESCAMAS ARMADAS
(HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) EN FRUTO Y TALLO DE AGUACATE 'HASS'**

RUBÉN HERNANDEZ RIVERO

**T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis, titulada: **HISTOLOGÍA DEL DAÑO CAUSADO POR ESCAMAS ARMADAS (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) EN FRUTO Y TALLO DE AGUACATE 'HASS'**, realizada por el alumno: **Rubén Hernández Rivero**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

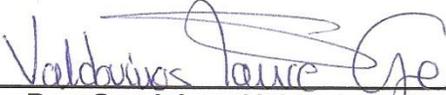
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza

ASESOR:



Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce

ASESOR:



Dra. Martha Elva Ramírez Guzmán

ASESOR:



Dr. Héctor González Hernández

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2013.

HISTOLOGÍA DEL DAÑO CAUSADO POR ESCAMAS ARMADAS (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) EN FRUTO Y TALLO DE AGUACATE 'HASS'

Rubén Hernández Rivero, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013.

RESUMEN.

El objetivo de esta investigación fue determinar si las especies de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass' causan alteraciones histológicas en estos órganos. Se colectaron frutos en madurez fisiológica y ramas jóvenes con y sin presencia de escamas armadas en cinco huertas comerciales ubicadas en Michoacán, México. Se realizaron cortes histológicos para observar los cambios a nivel celular como respuesta a la presencia de la escama. Del material colectado se identificaron tres especies de escamas armadas: *Hemiberlesia lataniae*, *Hemiberlesia diffinis* y *Abgrallaspis aguacatae*. Estas escamas no provocaron cambios macroscópicos ni anatómicos en los tejidos de ramas y frutos, pero como respuesta a la presencia y al proceso de alimentación de estas especies, se detectó acumulación significativa ($P < 0.0001$) de compuestos de naturaleza fenólica en las paredes celulares, en el interior de las células de peridermis y corteza, en las paredes y el citoplasma de los tejidos epidérmico y parenquimatoso del exocarpio y en los sitios correspondientes al área en donde se localizó el insecto. En rama, los estiletes de las escamas se detectaron a nivel de corteza, y en los frutos la mayoría de éstos se localizaron a nivel de las células del exocarpio. Aparentemente la penetración del aparato bucal de las escamas en los tejidos del aguacate fue intracelular y no se observó asociación de los estiletes con el tejido vascular.

Palabras clave: *Hemiberlesia lataniae*, *Hemiberlesia diffinis*, *Abgrallaspis aguacatae*, compuestos de naturaleza fenólica, plantaciones de aguacate, plaga.

HISTOLOGY OF THE DAMAGE CAUSED BY ARMORED SCALES (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) ON FRUIT AND STEM OF AVOCADO 'HASS'

Rubén Hernández Rivero, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013.

ABSTRACT

The objective of the present research was determine if species of scales armoured present on fruits and branches of 'Hass' avocado cause histological alterations. Fruits at physiological maturity and young branches with and without the presence of armoured scales were collected in five commercial orchards of Michoacan, México. Histology cuts were made to observe changes at the cell level in response to the presence of the scale. From the collected material, three species of armored scales were identified: *Hemiberlesia lataniae*, *Hemiberlesia diffinis* and *Abgrallaspis aguacatae*. There were no macroscopic changes, either anatomical at the tissues of branches and fruits of avocado, but in response to the presence and to the feeding process of these armored scales, significant accumulation ($P < 0.0001$) of compounds of phenolic nature was detected on the walls cellular, inside the cells of the epiderm and cortex, wall and cytoplasm of epidermal tissue and parenchymal of the exocarp and corresponding sites in the area where the armored scale were found. The stylets of the scales in branches, were detected at the level of cortex, while in the fruits were located at the level of exocarp cells. Apparently the mouth parts penetrate avocado tissue intracellularly and there was no observed association of the stylets with avocado vascular tissue.

Key words: **Key words:** *Hemiberlesia lataniae*, *Hemiberlesia diffinis*, *Abgrallaspis aguacatae*, compounds of phenolic nature, avocado orchards, pest.

AGRADECIMIENTOS

A Jehová, por permitirme vivir este momento de culminación.

Al pueblo Mexicano, quien financio mis estudios a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT), por la beca otorgada para la culminación de esta tesis.

Al Colegio de Postgraduados, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría dentro del Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad – Fruticultura.

A la Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza por su apoyo, enorme calidad humana y excelente profesionalismo al dirigir acertadamente esta investigación.

A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce, por sus acertadas observaciones y sugerencias que enriquecieron y mejoraron el presente trabajo. Sin duda, ha sido una excelente asesora.

A la Dra. Martha Elva Ramírez Guzmán, agradezco el apoyo brindado en la asesoría para el procesamiento de los datos y en la interpretación estadística de resultados. Gracias por su paciencia, tiempo y esfuerzo dedicados para la culminación de esta tesis.

Al MC. Jorge Valdez Carrasco, por su excelente profesionalismo y disponibilidad para colaborar en el presente trabajo. Gracias por brindarme su amistad. Siempre estaré agradecido con usted.

Al Dr. Héctor González Hernández, excelente profesor y asesor. Agradezco su apoyo incondicional y el tiempo dedicado en la revisión de esta tesis. Sus acertadas sugerencias fueron fundamentales para mejorar la presente investigación.

Al Dr. Edicberto Avitia García, agradezco las facilidades brindadas para la realización de los cortes histológicos de ramas y frutos de aguacate en el laboratorio de Anatomía de frutales.

A la MC. Greta Hanaco Rosas, de la unidad de microscopía del Colegio de Postgraduados, por el excelente trabajo y la manipulación de los insectos en el microscopio electrónico.

A Miriam Hernández Rivero, por su excelente e invaluable apoyo en el trabajo de laboratorio. Por eso, este logro también es en buena parte tuyo. Siempre estaré agradecido contigo.

A Ángela, del Laboratorio de Anatomía de Frutales, por el apoyo brindado en la realización de los cortes histológicos. Gracias por tu amistad, consejos y gran calidad humana.

A todos y cada uno de los Docentes e investigadores por compartir sus conocimientos y contribuir en mi formación profesional.

A la Asociación de Productores y Empacadores de Aguacate de Michoacán, A.C. (APEAM), por el financiamiento otorgado al presente trabajo a través del proyecto "Eficiencia del Proceso de empaque para reducir presencia de escamas armadas de frutos de aguacate 'Hass' y manejo de escamas armadas del aguacate 'Hass' en Michoacán."

Al Dr. Salvador Ochoa Ascencio por su apoyo en la logística de trabajo en campo, y a los ingenieros Armando y Leopoldo por el apoyo logístico y técnico en los muestreos de campo realizados en las diferentes huertas del estado de Michoacán.

A los dueños de huertas por las facilidades brindadas al permitirnos coleccionar el material de estudio.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis con respeto, admiración y cariño:

A mis padres

Tomas Hernández Huerta y Josefina Rivero Zerón

En agradecimiento a su amor y sacrificios.

A mis hermanos

Por sus grandes e invaluable ejemplos, afectos, y estímulos.

A mis amigos

A quienes guardo un sincero aprecio por los inolvidables momentos compartidos.
Gracias: Ale, Ariday, Carlos Lázaro, Dany López, Dany Bocanegra, Iliana, Miguel Muñoz, Nadia, Paco, Sara y demás personas que de una u otra manera hicieron más agradable mi estancia en el CP.

CONTENIDO.

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo General:.....	3
2.2 Objetivos Particulares:.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1 Origen y distribución del cultivo de aguacate.....	4
3.2 Descripción del cultivo.....	4
3.3 Razas y cultivares.....	5
3.4 Importancia del cultivo.....	5
3.4.1 Producción de Aguacate en Michoacán.....	7
3.5 Descripción anatómica del fruto y rama.....	8
3.5.1 Fruto.....	8
3.5.2 Rama.....	9
3.6 Problemas fitosanitarios del aguacate.....	10
3.7 Generalidades de las escamas armadas.....	11
3.7.1 Morfología.....	11
3.7.2 Ciclo de vida y hábitos.....	13
3.8 Importancia de la infestación de escamas armadas en frutos de aguacate 'Hass' mexicano.....	14
3.9 Alteraciones histológicas provocadas por la herbivoría de escamas armadas en tejidos vegetales.....	17
3.10 Importancia de los compuestos fenólicos en la defensa de las plantas.....	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1 Material vegetal.....	20
4.2 Identificación de las especies de escamas armadas.....	20
4.3 Análisis histológico.....	21
4.3.1 Fijación, deshidratación e inclusión en paraplast.....	21

4.3.2 Corte y montaje	21
4.3.3 Desparafinación y tinción	22
4.4 Estimación de polifenoles totales	22
4.5 Análisis estadístico.....	23
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5.1 Características de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass'	25
5.2 Respuesta externa de ramas y frutos de aguacate al establecimiento de escamas armadas	28
5.2.1 Rama.....	28
5.2.2 Fruto	29
5.3 Anatomía de ramas y frutos de aguacate sin presencia de insectos escama armada	30
5.3.1 Rama.....	30
5.3.2 Fruto	31
5.4 Respuesta histológica al establecimiento de escamas armadas en ramas y frutos de aguacate.	33
5.4.1 Rama.....	33
5.4.2 Fruto	34
5.5.- Respuesta histológica de los tejidos de ramas y frutos a la penetración del estilete.....	36
5.5.1. Rama	37
5.5.2. Fruto.....	38
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	42
VIII. LITERATURA CONSULTADA	43
IX. APÉNDICE.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Cubierta de <i>Abgrallaspis aguacatae</i> . Hembra adulta (A). Pupa macho (B).....	12
Figura 2.	Ciclo biológico de la escama roja de California (<i>Aonidiella aurantii</i>).....	14
Figura 3.	Escamas armadas encontradas en muestras de aguacate ‘Hass’. (A) Cubierta removida de <i>Abgrallaspis aguacatae</i> (cr), mostrando a la hembra adulta (ha) y tres “caminantes” (cw). (B) Escama <i>A. aguacatae</i> (ag) sobre la superficie del fruto de aguacate. (C) Cubierta cerosa de <i>Acutaspis aldopicta</i> . (D) Hembra adulta de <i>Diaspidis</i> spp. (ha) y huevecillos sin eclosionar (h). (E) Escama <i>Hemiberlesia lataniae</i> . (F). Escama <i>Hemiberlesia</i> spp.....	16
Figura 4.	Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de <i>H. lataniae</i> . Tercer lóbulo (L3), segundo lóbulo (L2), lóbulo medio pigidial (LM), abertura o poro anal (A).....	25
Figura 5.	Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de <i>H. diffinis</i> . Tercer lóbulo (L3), segundo lóbulo (L2), lóbulo medio pigidial (LM), abertura o poro anal (A).....	27
Figura 6.	Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de <i>A. aguacatae</i> . Tercer lóbulo (L3), segundo lóbulo (L2), lóbulo medio pigidial (LM), macroducto submarginal (MS), Abertura o poro anal (A).....	28
Figura 7.	Presencia de escamas armadas (señaladas por flechas en color rojo) sobre ramas (A y B) y frutos de aguacate ‘Hass’ (C y D) en el estado de Michoacán, México. Escama café (<i>A. aguacatae</i>) (A y C). Escama blanca (<i>H. lataniae</i>) (B y D). Figuras C y D son acercamientos o detalles de la escama en frutos.....	30

- Figura 8.** Fotomicrografías de cortes transversales de ramas jóvenes (A, B, C) y frutos (D, E, F) de aguacate ‘Hass’ sin presencia de escama. Tejido epidérmico y cortical (A), xilema y médula (B), xilema (C), exocarpio (D), mesocarpio (E), células de mesocarpio y tejido vascular (F). Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); médula (Me); mesocarpio (Mes); tejido vascular (Tv); xilema (Xi)..... 32
- Figura 9.** Fotomicrografías de secciones transversales de rama de aguacate ‘Hass’ infestadas con escamas armadas. (A) Escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*), (B) escama café (*A. aguacatae*). Corteza (Co); epidermis (Ep); fibras (Fi). Flechas señalan la localización de la escama..... 34
- Figura 10.** Fotomicrografías de secciones transversales de fruto de aguacate ‘Hass’ con presencia de especies de escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*) (A), tejidos epidérmico y parenquimatoso con depósitos de compuestos de naturaleza fenólica (B y C), secciones transversales de fruto de aguacate ‘Hass’ con presencia de escama café (*A. aguacatae*) (D). Cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex). Flechas en color blanco señalan la ruta de penetración del estilete a través de los tejidos parenquimatosos del exocarpio. Flechas en color negro señalan la localización de la escama..... 35
- Figura 11.** Fotomicrografías de secciones transversales de aguacate ‘Hass’ mostrando la penetración de los estiletes de la escama a través de los tejidos epidérmico y fundamental de frutos (A y C) y ramas (B y D) de aguacate ‘Hass’. Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex). Flechas señalan los estiletes de la escama y la ruta de penetración de los mismos a través de los tejidos parenquimatosos de ramas y frutos de aguacate..... 37

Figura 12. Fotomicrografías de secciones transversales de frutos de aguacate ‘Hass’, mostrando acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en las paredes celulares del exocarpio a través de la ruta de penetración (señalada por flecha en color blanco) de los estiletes de la escama (A), células de exocarpio sin daño aparente, pero con engrosamiento de pared celular y deposición de compuestos de naturaleza fenólica (B). Epidermis (Ep); exocarpio (Ex)..... 39

Figura 13. Fotomicrografías de cortes transversales de frutos (A y B) y ramas (C y D) de aguacate ‘Hass’. Sin presencia de escamas armadas (B y D). Con presencia de escamas armadas (A y C). Mostrando deposición de compuestos de naturaleza fenólica en las células parenquimatosas del exocarpio de fruto (A) y de peridermis y corteza de rama (C). Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex)..... 40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Producción de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill) en México en 2010	7
Cuadro 2.	Huertas muestreadas durante los meses de enero y julio de 2011 en Michoacán, México.....	20
Cuadro 3.	Acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en ramas de aguacate 'Hass' infestadas con escamas armadas.....	34
Cuadro 4.	Acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en frutos de aguacate 'Hass' infestados con escamas armadas.....	36
Cuadro 5.	Análisis de varianza (ANOVA) de sitios (tratamientos) para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en ramas y frutos de aguacate 'Hass'.....	40

I. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es originario de Mesoamérica. Después del descubrimiento de América el fruto se dispersó a diversas partes del mundo donde actualmente también es cultivado (Vallejo, 2011). La importancia de este cultivo en el mercado internacional ha crecido sostenidamente al incorporarse en la dieta de muchos países debido a su delicado sabor y alto valor nutricional (Gutiérrez *et al.*, 2010).

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 3.8 millones de toneladas métricas de aguacate fueron producidas mundialmente en 2010 (FAO, 2012). El 29% de esta producción le correspondió a México, principal productor, exportador (40%) y mayor consumidor *per cápita* de frutos de aguacate (10 kg/persona) en el mundo (SE, 2012). En México, la producción de este cultivo se lleva a cabo en 28 entidades federativas, de las cuales Michoacán destaca por ser el estado con mayor producción, aportando el 86% de la producción nacional, y es el de mayor superficie sembrada y cosechada (Gutiérrez *et al.*, 2010; SE, 2012). El aguacate 'Hass' es el cultivar que más se produce y el único que se exporta, se cultivan aproximadamente 110 mil hectáreas con una producción de 950 mil toneladas anuales. En 2010, México exportó 368 mil toneladas (98.9% de la producción) a Estados Unidos, Japón, Canadá, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Guatemala y Francia con valor de 672 millones de dólares (Gutiérrez *et al.*, 2010; INEGI, 2010; SE, 2012), por lo que este fruto representa una de las principales fuentes de divisas para el sector agrícola del país (SE, 2012).

El panorama para la exportación del aguacate en el mercado extranjero es alentador; sin embargo, en el sistema productivo del aguacate la presencia de plagas insectiles y enfermedades, afectan la productividad y el rendimiento del cultivo, limitando en algunos casos el comercio internacional debido a los riesgos fitosanitarios que representan y a la exigencia de productos de mejor calidad en los mercados.

Recientemente, en Estados Unidos de América, se reportó la presencia de ciertas especies de escamas armadas en frutos de aguacate 'Hass' provenientes de Michoacán, México, de las cuales algunas no están reportadas para ese país (Morse *et al.*, 2009).

Las escamas armadas pertenecen a la familia Diaspididae y constituyen el grupo más numeroso de la superfamilia Coccoidea con alrededor de 400 géneros y 2,650 especies, de las cuales cerca de 200 son consideradas plagas de importancia económica (Miller y Davidson, 1990; Moran y Goolsby, 2010). La mayoría de las especies de este insecto son polífagas y cosmopolitas. Su presencia y severidad varía en función del país productor y algunas especies son endémicas de una determinada región geográfica (Kondo y Muñoz, 2009). A nivel mundial se reportan asociadas al cultivo de aguacate a 53 especies de este insecto pertenecientes a 29 géneros, pero pocas son de interés cuarentenario (Evans *et al.*, 2009; Kondo y Muñoz, 2009). En México, particularmente en Michoacán, se han detectado nueve especies de escamas armadas, de las cuales *Hemiberlesia lataniae* (Signoret) y *Abgrallaspis aguacatae* (Evans, Watson y Miller) fueron las de mayor distribución en el estado, siendo *A. aguacatae* probablemente endémica de Michoacán (Lázaro-Castellanos *et al.*, 2011).

Con sus largos y finos estiletes adaptados para perforar los tejidos celulares y succionar sus fluidos nutritivos (Foldi, 1997), las escamas armadas dañan por punción las células del mesófilo y algunas veces los tejidos vasculares de hojas, tallos y frutos, afectando el crecimiento y en ocasiones (altas infestaciones) provocando la muerte de los tejidos de la planta (McClure, 1990). Estos insectos se establecen en zonas de difícil acceso como es el pedúnculo del fruto de aguacate, lo que dificulta su remoción en línea de empaque, causando un incremento en el costo del proceso porque obliga a su remoción manual.

En México, el interés en la presencia de estos insectos se ha ido incrementando por ser una plaga ampliamente distribuida en la región productora de aguacate. Sin embargo, a la fecha se desconoce el efecto de su establecimiento y alimentación en

ramas y frutos. Además, existe escasa información acerca de la variabilidad en la susceptibilidad y en los mecanismos de defensa utilizados por el tejido vegetal ante el ataque de la escama armada (Miller y Davidson, 2005). En este sentido, la histología es una de las herramientas para el diagnóstico e identificación y hábitos de algunos fitopatógenos, que provee información de la interacción planta-patógeno, permitiendo conocer los mecanismos estructurales de defensa que tiene la planta para contrarrestar el ataque del patógeno. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación, fue determinar si las especies de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass' causan alteraciones a nivel histológico y sus implicaciones en los frutos y ramas.

II. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo General:

- Determinar si las especies de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass' causan alteraciones a nivel histológico.

2.2 Objetivos Particulares:

- Identificar las especies de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass'.
- Determinar el nivel de daño causado por las escamas armadas en ramas y frutos de aguacate 'Hass'.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Origen y distribución del cultivo de aguacate

El aguacate (*Persea americana* Mill) es originario de Mesoamérica. Existe evidencia de su selección y consumo en México desde hace aproximadamente 10,000 años (Sánchez *et al.*, 2001). México fue el centro de expansión de este cultivo y tal vez con el intercambio comercial entre las civilizaciones nativas, se distribuyó y adaptó a Centro América y se extendió hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú, en donde fue encontrado y descrito por los conquistadores españoles, quienes lo difundieron a otros países de América y Europa (Téliz y Marroquín, 2007). En la actualidad el aguacate está presente en los cinco continentes del planeta (Vallejo, 2011).

3.2 Descripción del cultivo

El aguacate pertenece a la familia Lauraceae y al género *Persea*, del cual actualmente existen registradas alrededor de 85 especies (Barrientos *et al.*, 2007). El árbol es frondoso, de hoja perenne y con muchas ramificaciones. Sus hojas tienen forma variable, son de color verde oscuro, coriáceas, pecioladas, alternas y provistas de células oleíferas (Crane *et al.*, 2005; Financiera Rural, 2009). Sus flores son perfectas en racimos sub-terminales que abren primero como femeninas y posteriormente como masculinas evitando así la autofecundación. Cada árbol puede llegar a producir un millón de flores pero sólo el 0.1% de éstas se transforma en fruto. El fruto es una baya con una semilla oval rodeada por pulpa oleosa, de superficie lisa o rugosa, tiene un rango de peso bastante amplio que en las variedades comerciales oscila entre los 120 g y los 2.5 kg, es muy rico en proteínas y en grasas, con un contenido de aceite del 10 al 20 % (SIAP, 2009; SE, 2012).

Este cultivo es sensible al frío y humedad, los suelos más recomendados para su cultivo son los de textura ligera, profundos, bien drenados con un pH neutro o ligeramente ácido (5.5 a 7), pero puede cultivarse en suelos arcillosos o franco arcillosos siempre que exista un buen drenaje (Financiera Rural, 2009; SE, 2012). Necesita precipitación pluvial de 1200 a 2000 mm anuales y humedad relativa de 60%

(ANACAFE, 2004). En plantas jóvenes la propagación es por injerto, debido a que la mayoría de las variedades no reproducen las características de la planta madre cuando se propagan por semilla (Crane *et al.*, 2005).

3.3 Razas y cultivares

Existen tres razas de aguacate: Mexicana, Guatemalteca y Antillana. Su clasificación botánica ha sido variada, aunque actualmente se les considera dentro de la especie *P. americana* Mill. La raza mexicana tiene como principal característica la resistencia al frío, alto contenido de aceite y el olor a anís de sus hojas (Barrientos-Priego *et al.*, 2007). La raza Guatemalteca presenta una cáscara bastante gruesa, protegiendo al fruto del daño mecánico; sin embargo, es difícil saber mediante el tacto si los frutos ya están en madurez de consumo. La raza Antillana se adapta a clima tropical y como portainjerto es más tolerante a la salinidad, además el periodo de floración a fructificación es bastante corto (Barrientos-Priego *et al.*, 2007).

De acuerdo a su adaptación al ambiente, las variedades se dividen a su vez en subtropicales y tropicales. En el primer grupo se encuentran las variedades Hass, Fuerte, Bacon, Colin V-33, Reed, Pinkerton, Whitsell, Gwen y LambHass. Dentro de los tropicales se tienen Boot 8, Choquette y Lula (Barrientos-Priego *et al.*, 2007). En México y California (EUA), el principal cultivar establecido fue Hass, originado en La Habra, Heights California, EUA, y desarrollado por Rudolph G. Hass. De progenitores desconocidos (más cercano a guatemalteco), se piensa que proviene del antiguo cultivar Lyon. El fruto presenta una pulpa cremosa de sabor excelente, sin fibra, con un contenido de aceite del 23.7%; cáscara algo coriácea, rugosa, de color púrpura oscuro al madurar, semilla pequeña y adherida a la cavidad; puede mantenerse en el árbol por algunos meses después de su madurez fisiológica (Barrientos-Priego *et al.*, 2007).

3.4 Importancia del cultivo

Actualmente el aguacate se cultiva en 60 países, de los cuales México es el principal productor (29 %), exportador (40 %) y el de mayor consumo *per cápita* (10 kg)

en el mundo (Gutiérrez *et al.*, 2010; SE, 2012). En 2010, las importaciones a nivel mundial del fruto se concentraron en Estados Unidos (47.1 %), Francia (12.8 %), Japón (6.1 %) y Canadá (4.9 %) (SE, 2012), por lo que las perspectivas del aumento en su consumo son amplias, debido al alto valor nutricional y a los beneficios que aporta su ingesta en la salud humana por los aceites insaturados que contiene (Gutiérrez *et al.*, 2010).

Para 2010, en México había 134,322 ha cultivadas con aguacate con una producción de 1, 107,140 toneladas (SIACON, 2011). Durante el mismo año, se exportaron 368 mil toneladas principalmente a Estados Unidos (73.3 %), Japón (11.0 %), Canadá (6.8 %), Costa Rica (2.1 %) El Salvador (2.1 %), Honduras (1.5 %), Guatemala (1.1 %) y Francia (1.0 %), que sumaron el 98.9 % de las exportaciones, con valor de 672 millones de dólares (INEGI, 2010; SE; 2012).

De esta manera, el cultivo y comercialización del aguacate contribuyen en el crecimiento económico del sector agrícola del país generando 47 mil empleos directos y 70 mil estacionales, equivalentes a 10.5 millones de jornales anuales, y 187 mil empleos indirectos, para un total de 304 mil empleos (INIFAP, 2009).

La producción nacional de aguacate se lleva a cabo en 28 entidades federativas, de las cuales Michoacán destaca por ser el principal productor y el de mayor superficie sembrada y cosechada (Cuadro 1) (SE, 2012). Otras entidades federativas que también participan en la producción de este cultivo son Jalisco (2.7 %), Morelos (2.4 %), Nayarit (2.3 %), Estado de México (1.9 %), Guerrero (1.1 %) y Yucatán (0.9 %), estas siete entidades en conjunto aportaron el 97.3 % de la producción nacional en 2010 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de aguacate (*Persea americana* Mill) en México en 2010.

Estado	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	% Producción	% Prod. Acumulado
Michoacán	107,058	103,303	950,942	85.9	85.9%
Jalisco	8,468	4,226	29,987	2.7	88.6%
Morelos	3,348	2,999	26,860	2.4	91.0%
Nayarit	2,708	2,696	25,843	2.3	93.4%
México	3,615	2,156	21,328	1.9	95.3%
Guerrero	2,391	1,896	12,334	1.1	96.4%
Yucatán	489	467	10,418	0.9	97.3%
Resto	6,246	5,650	29,423	2.7	100.0%
Total	134,322	123,393	1,107,135	100 %	

Fuente: (Secretaría de Economía, 2012 con datos del SIAP – SAGARPA, 2010).

3.4.1 Producción de Aguacate en Michoacán

El aguacate se cultiva en 32 municipios del estado de Michoacán, pero solo 11 son los más relevantes y conforman la llamada “franja aguacatera”, en donde se concentra el 94% de la superficie cosechada (Echánove, 2008). Dicha franja abarca 7,752 kilómetros cuadrados y forma parte del eje neo-volcánico mexicano, se localiza en la porción central del estado y tiene una extensión en producción de 96,764 hectáreas (INIFAP, 2009). En esta franja existen 11 microclimas que permiten la cosecha de aguacate durante todo el año, aunque la temporada de mayor producción va de octubre a enero (Echánove, 2008).

En Michoacán, este cultivo tiene gran importancia socioeconómica, por el beneficio que genera a los participantes de la cadena productiva. En este estado, la producción y comercialización de aguacate ‘Hass’ constituye la principal actividad económica, generando una derrama económica de 750 millones de pesos al año, más de 40 mil empleos permanentes, 60 mil empleos estacionales por actividades indirectas, y un total de 9 millones de jornales al año (APROAM, 2007).

3.5 Descripción anatómica del fruto y rama

3.5.1 Fruto

El fruto de aguacate está formado por el pericarpio, el cual consiste de tres capas: el exocarpio (cáscara), el mesocarpio (porción comestible de la fruta), y el endocarpio (una capa interna delgada junto a la semilla) (Barrientos-Priego *et al.*, 1996).

El exocarpio, que puede ser rugoso e irregular (Barrientos-Priego *et al.*, 1996), está compuesto por una capa externa de cutina y cera que cubre completamente al fruto, posee una epidermis uniestratificada con paredes celulósicas cutinizadas, interrumpida por lenticelas o estomas (frutos jóvenes) (Schroeder, 1950).

Adyacentemente se localiza una hipodermis y varias capas de tejido parenquimatoso, cuyas células son isodiamétricas, de pared delgada, y ricas en cloroplastos, aceite y taninos (Cummings y Schroeder, 1942). Hacia la región más interna de este tejido parenquimatoso y limitando al exocarpio en su superficie más interna, puede haber grupos de células pétreas (esclerénquima) (Roth, 1977; Zamora *et al.*, 2001).

El mesocarpio posee una estructura celular uniforme, está compuesto de células parenquimatosas de pared delgada, que contienen aceite y en ocasiones cristales de oxalato y almidón. Además, cuenta con un sistema vascular que forma una red a través de este tejido (Cummings y Schroeder, 1942; León, 1987). El endocarpio consiste en una capa frágil de células pequeñas y aplanadas adheridas a la cubierta seminal (Cummings y Schroeder, 1942; León, 1987).

La semilla está compuesta por la cubierta seminal, embrión con cotiledones pulposos y un endospermo que cubre al embrión en etapas tempranas de desarrollo, y que desaparece aproximadamente a los tres meses del amarre del fruto (Cummings y Schroeder, 1942; León, 1987).

3.5.2 Rama

La rama de aguacate tiene una peridermis que brinda protección al tallo cuando la epidermis se va perdiendo durante el crecimiento secundario. La peridermis está formada por tres capas: félogeno, felodermis y corcho (Esau, 1977). Después de la peridermis se encuentra la corteza, compuesta principalmente de elementos parenquimatosos pequeños y diferenciados, y usualmente con cloroplastos. Posteriormente se localiza el tejido vascular y la médula conformada por células de parénquima más grandes y de paredes delgadas (Esau, 1977).

El xilema y el floema están separados por una capa de células meristemáticas (cambium vascular). El crecimiento secundario del tallo tiene lugar en el cambium, dando origen a floema secundario y células parenquimáticas hacia el exterior y xilema secundario y radios vasculares en el interior (Esau, 1977).

El xilema es el tejido más importante en el transporte de agua (Devlin, 1982) está compuesto principalmente de células conductoras muertas, de pared gruesa, ya sean vasos o traqueidas, a través de los cuales se realiza el transporte de agua (Devlin, 1982). También se encuentran en el tejido xilemático fibras de xilema (parecidas a las traqueidas pero con extremos más largos y estrechos) y cordones o láminas de células parenquimatosas (Bidwell, 1979).

El floema es un tejido mucho más complejo que el xilema (Bidwell, 1979), está conformado principalmente por células cribosas de pared delgada que cuando maduran pierden el núcleo, y cuentan con placas terminales a manera de cribas. Las células cribosas se unen, extremo con extremo para formar los tubos cribosos. El parénquima floemático y las células acompañantes se encuentran yuxtapuestas a las células de los tubos cribosos (Esau, 1977; Bidwell, 1979).

3.6 Problemas fitosanitarios del aguacate

Los problemas fitosanitarios asociados al cultivo de aguacate pueden ser ocasionados por plagas cuarentenarias, plagas de importancia económica y plagas secundarias (Lázaro-Castellanos, 2011). Las plagas cuarentenarias limitan la movilización y comercialización del fruto, y se distribuyen en zonas específicas que favorecen su desarrollo. Mientras que las plagas de importancia económica, se localizan en todas las zonas aguacateras y disminuyen la calidad del fruto causando pérdidas económicas (CESAVEM, 2010). Las plagas secundarias son ocasionales o se presentan a niveles poblacionales bajos y no son sujetas de medidas de control, aunque pueden reducir el vigor y afectar la producción (González *et al.*, 2000).

Dentro de las plagas cuarentenarias se incluye a los barrenadores pequeños de la semilla de aguacate (*Conotrachelus perseae* y *Conotrachelus aguacatae*), barrenador de ramas (*Copturus aguacatae*), barrenador grande del hueso (*Helipus lauri*) y la palomilla barrenadora del hueso (*Stenomoma catenifer*), estas plagas mantienen al cultivo regulado y su comercialización nacional e internacional está condicionada al cumplimiento de las normas oficiales fitosanitarias como la NOM-066-FITO-2002 y NOM-069-FITO-1995 (González *et al.*, 2000; Vallejo, 2011). Las plagas de importancia económica incluyen a los trips (Thripidae), ácaros (*Oligonychus punicae* y *O. perseae*), y la agalla de la hoja (*Trioza anceps*) (González *et al.*, 2000).

Las plagas secundarias incluyen a lepidópteros defoliadores como el gusano verde o quemador (*Copaxa multifenestrata*), gusano perro (*Papilio garamas*), gusano confeti o perforador de la hoja de aguacate (*Pyrrhopyge chalybea*), escamas armadas (Diaspididae), escamas blandas (Coccidae), piojos harinosos (Pseudococcidae), periquito del aguacate (*Metcalfiella monogramma*) y mosquitas blancas (Aleyrodidae). La mayoría de estas plagas, regularmente no requieren de alguna actividad de manejo debido a que sus niveles poblacionales son bajos y se presentan a niveles subeconómicos (Equihua Martínez *et al.*, 2007). Sin embargo, en los últimos años el interés en la presencia de escamas armadas en frutos de aguacate 'Hass' mexicano, se ha incrementado debido al riesgo potencial, pero no justificado, que representa el

establecimiento de ciertas especies de escamas armadas en los aguacates de California debido a la entrada del aguacate mexicano al mercado de Estados Unidos, principal socio comercial.

3.7 Generalidades de las escamas armadas

Las escamas armadas pertenecen a la familia Diaspididae y constituyen el grupo más numeroso de la superfamilia Coccoidea con alrededor de 400 géneros y 2,650 especies, de las cuales cerca de 200 son consideradas plagas de importancia económica (Miller y Davidson, 1990; Moran y Goolsby, 2010). La mayoría de las especies de este insecto son polífagas y cosmopolitas. Su presencia y severidad varía entre cada país productor y algunas especies son endémicas de una determinada región geográfica (Kondo y Muñoz, 2009).

3.7.1 Morfología

Las escamas armadas son insectos muy pequeños (menos de 5 mm de longitud), de forma redondeada, ovalada o alargada que, se caracterizan por presentar un caparazón ceroso de color variable que recubre su cuerpo. Esta estructura actúa como cubierta protectora contra las condiciones físicas y químicas del ambiente (Kondo y Muñoz, 2009). Dicha cubierta no es parte integral de su cuerpo y durante el transcurso de su vida se alimentan debajo de ésta (Watson, 2005). Sobre la cubierta permanecen adheridas las exuvias de los instares anteriores (Ferris, 1942), y puede ser removida para mostrar el cuerpo de la escama (Watson, 2005).

Está cubierta normalmente se caracteriza por poseer una ligera protuberancia y anillos concéntricos. La cubierta de la hembra puede ser de forma redondeada u ovalada, siendo más grande que la de los machos, los cuales desarrollan una cubierta alargada y pequeña (Figura 1), de la cual emerge un individuo alado (a veces con alas reducidas) con las piezas bucales no funcionales (Watson, 2005; Kondo *et al.*, 2008).

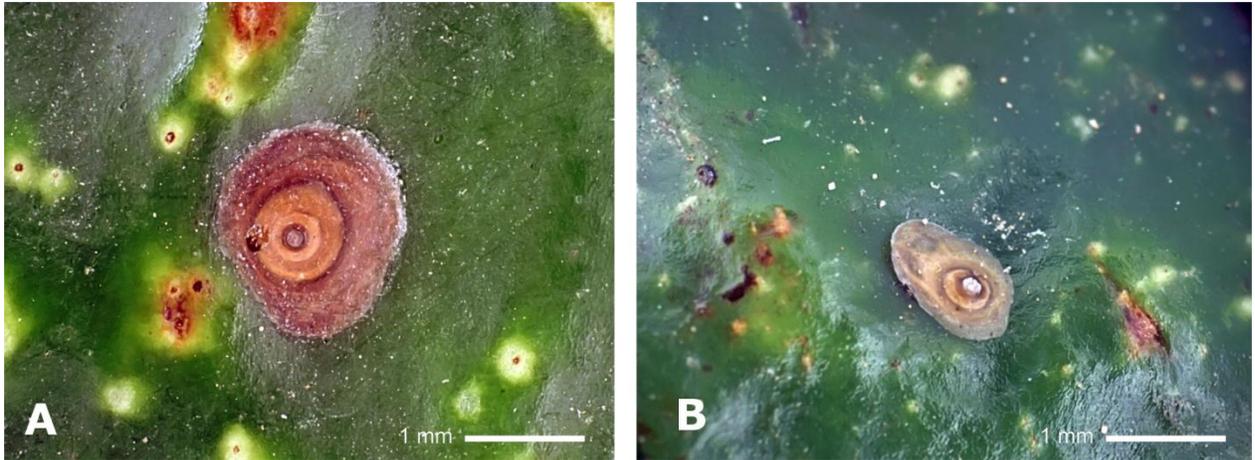


Figura 1. Cubierta de *Abgrallaspis aguacatae*. Hembra adulta (A). Pupa macho (B). (Fotografías: MC. Jorge Valdez Carrasco).

La taxonomía de estos insectos se basa principalmente en las características cuticulares de la hembra adulta (Kondo *et al.*, 2008). La cabeza y los siguientes dos segmentos del tórax se fusionan formando el prosoma, el cual comprende una gran parte del cuerpo y está separado del metatórax por una constricción. El metatórax es muy similar al primer segmento abdominal y ambos forman el llamado postsoma. Generalmente se observan hasta ocho segmentos abdominales. Las antenas están reducidas a tubérculos no segmentados y poseen una o más setas y los ojos presentan pequeños puntos esclerosados (Ferris, 1942; Kosztarab, 1963).

El proceso de alimentación de los hemípteros se lleva a cabo por la presencia de dos pares de estiletes que resultan de la transformación de las mandíbulas y maxilas. Las mandíbulas forman el anterior (o externo) par de estiletes (Kosztarab, 1987; Davies, 1988) y se mueven de forma alternativa en vaivén junto con las maxilas para ir penetrando en el tejido vegetal (Snodgrass, 1935; Miles, 1972). Las maxilas se encuentran alojadas dentro de las mandíbulas (Kosztarab, 1987; Davies, 1988), acoplándose entre sí para formar dos canales por el interior de ellas: el canal alimenticio y el canal salival (Davies, 1988). El primero de ellos está conectado con la faringe, y por lo tanto con el tubo digestivo del insecto, en la cabeza se encuentra la bomba cibarial, musculo encargado de la absorción de los líquidos. El segundo canal se conecta con las glándulas salivales que se localizan en la cabeza, y por este canal el

insecto impulsa con la bomba salival la saliva que va inyectando conforme hace avanzar los estiletes y se alimenta. Estos dos pares de estiletes son de longitud variable y totalmente flexibles, por lo que pueden tomar diferentes formas y recorridos en el interior de la planta hasta llegar a su fuente de alimento (Snodgrass, 1935; Miles, 1972).

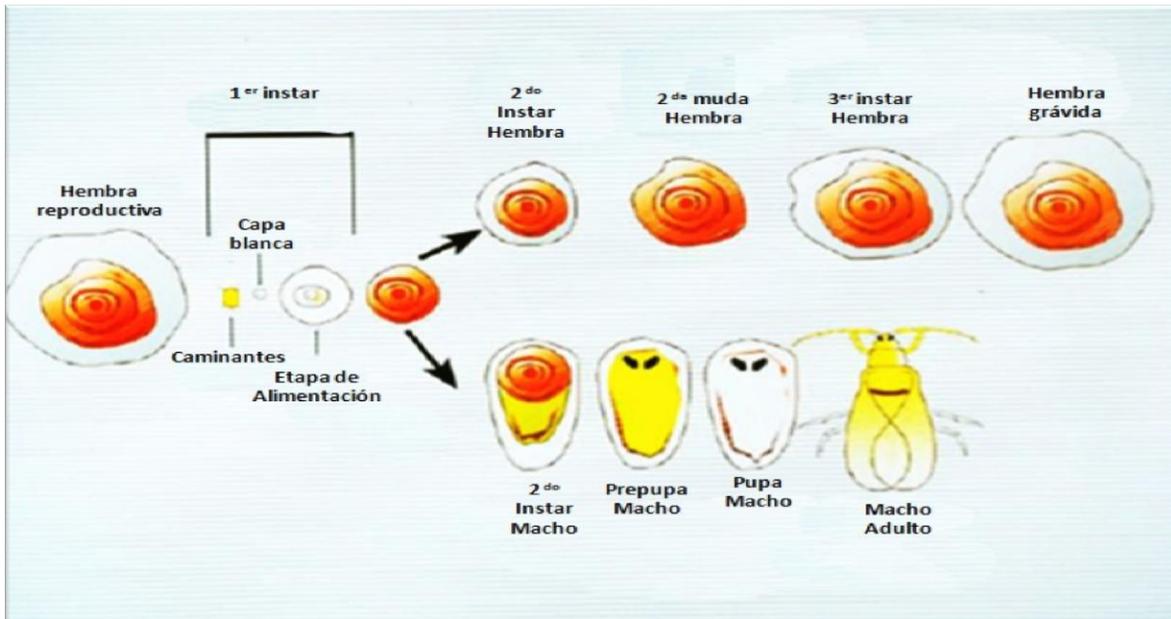
En estos insectos, las patas están ausentes y cuando se presentan se reducen a tubérculos pequeños (Ferris, 1942; Kosztarab, 1963). Otra característica es la reducción de los últimos segmentos abdominales en una estructura conocida como pigidio, del cual los lóbulos y conductos cerosos se usan para la identificación de la especie (Ferris, 1942).

3.7.2 Ciclo de vida y hábitos

Las hembras de la familia Diaspididae pasan por tres instares ninfales (Kondo, 2010). Las ninfas del primer instar, también llamadas “caminantes”, son móviles y activas, y cuentan con patas, antenas y ojos (Baranyovits, 1953). Éstas emergen de los huevecillos para desplazarse a un sitio de alimentación apropiado, y una vez que lo encuentran insertan sus partes bucales y permanecen en este punto hasta que mueren (Stouthamer y Morse, 2009; Magsig *et al.*, 2010). En el segundo instar, se pierden los órganos de locomoción, y comienza a desarrollarse la capa protectora (Stouthamer y Morse, 2009; University of California, 2010). Hacia el final del primer instar, el desarrollo de la escama macho y hembra es el mismo y el sexo morfológicamente es distinguible solo en algunas especies por ejemplo *Pseudaulacaspis pentagona* (Gullan y Koztarab, 1997).

Los machos pasan por dos instares ninfales, prepupa, pupa y adulto. En el tercer estadio el macho empieza a desarrollar los ojos y anexos, y en el cuarto los apéndices masculinos están completamente desarrollados. Después del cuarto estadio las alas del macho emergen. Para este momento, la hembra adulta está lista para ser fecundada por el macho emergente (Figura 2) (University of California, 2010).

Los diaspididos presentan de tres a cuatro generaciones superpuestas al año y se reproducen sexual y partenogénicamente (Baranyovits, 1953; Gentile y Summers, 1958; Beardsley y González, 1975).



Fuente: (University of California, 2010).

Figura 2. Ciclo biológico de la escama roja de California (*Aonidiella aurantii*).

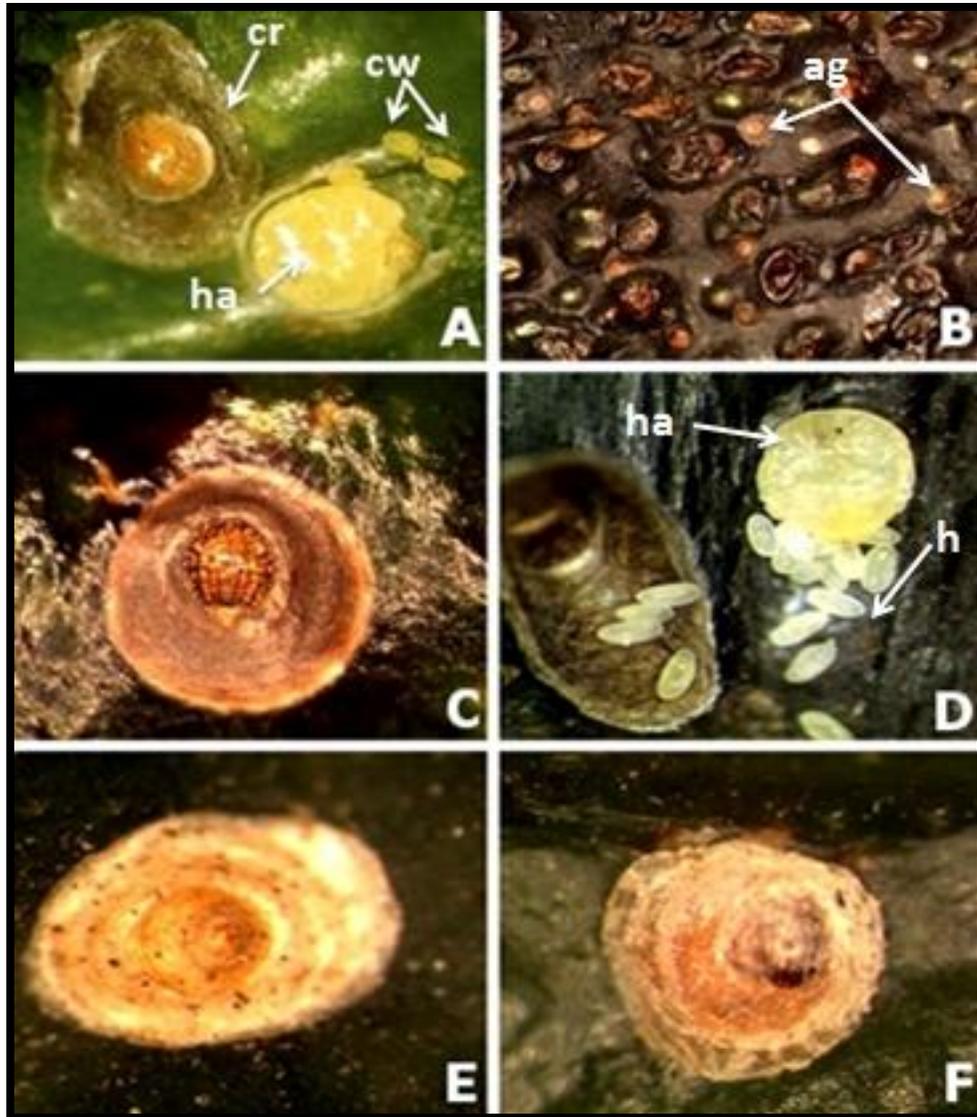
3.8 Importancia de la infestación de escamas armadas en frutos de aguacate 'Hass' mexicano

La exportación de aguacate 'Hass' mexicano estuvo restringida por los Estados Unidos de América, durante más de ocho décadas debido a la presencia de plagas de importancia cuarentenaria como *Conotrachelus perseae*, *Helipus lauri* y *Stenoma catenifer*. La aplicación de la Norma Oficial Mexicana (NOM-066-FITO-1995), la cual regula los requisitos y especificaciones para la movilización de frutos de aguacate para exportación o para mercado nacional, dio como resultado que a partir de 1997 el Gobierno de los Estados Unidos aprobara la importación de aguacate 'Hass', producido en 13 municipios de Michoacán, a 19 estados del noreste de ese país y al Distrito de Columbia durante los meses de noviembre a febrero (Arévalo, 2000; Echánove, 2008).

Finalmente, en febrero de 2007 Estados Unidos levantó las restricciones impuestas al fruto, permitiendo su importación en los 50 estados del territorio norteamericano. Sin embargo, a partir de esta fecha el tema de escamas armadas (Hemiptera: Diaspididae), ha cobrado importancia debido a que se han detectado especímenes vivos de ocho especies de este insecto en los envíos de aguacate 'Hass' mexicano que llegaron a la frontera de California en Estados Unidos, de estas especies, siete no se encuentran reportadas en dicho estado, por lo que son consideradas como especies exóticas, y se han detectado únicamente en los frutos de aguacate 'Hass' provenientes de México (Figura 3) (Morse *et al.*, 2009).

Sin embargo, en 2007 el USDA estableció que todo fruto importado a los EUA con fines de consumo, es de bajo riesgo fitosanitario, por lo que a este tipo de productos con escamas armadas, no se les debe impedir su importación, comercialización o aplicación de algún tratamiento cuarentenario (González-Hernández Comunicación personal, 2010).

Altas infestaciones de este insecto pueden debilitar o matar las plantas por la succión de savia o por la excreción de melaza, la cual sirve como medio para el desarrollo de fumagina, además del daño estético que causan al estar presentes en el fruto (Kondo y Muñoz, 2009). Las escamas armadas, se establecen en zonas de difícil acceso como es la zona pedúncular del fruto, lo que dificulta su remoción en la línea de empaque, causando un incremento en el costo del proceso porque obliga a su remoción manual.



Fuente: (Morse *et al.*, 2009).

Figura 3. Escamas armadas encontradas en muestras de aguacate 'Hass'. (A) Cubierta removida de *Abgrallaspis aguacatae* (cr), mostrando a la hembra adulta (ha) y tres "caminantes" (cw). (B) Escama *A. aguacatae* (ag) sobre la superficie del fruto de aguacate. (C) Cubierta cerosa de *Acutaspis aldopicta*. (D) Hembra adulta de *Diaspidis* spp. (ha) y huevecillos sin eclosionar (h). (E) Escama *Hemiberlesia lataniae*. (F) Escama *Hemiberlesia* spp.

3.9 Alteraciones histológicas provocadas por la herbivoría de escamas armadas en tejidos vegetales.

Con sus cuatro largos y finos estiletes adaptados para perforar los tejidos celulares y succionar sus fluidos nutritivos (Foldi, 1997), las escamas armadas dañan por punción las células del mesófilo y algunas veces los tejidos vasculares de hojas, tallos y frutos afectando el crecimiento y en ocasiones (altas infestaciones) provocando la muerte de los tejidos de la planta hospedera (McClure, 1990). En el proceso de alimentación y daño que ocasionan los hemípteros en sus hospedantes la saliva posee una acción enzimática que se realiza a nivel de glúcidos y proteínas, además puede provocar reacciones de tipo tóxico o cecidógena (formación de agallas) en el tejido vegetal (Snodgrass, 1935).

Washington y Walker (1990), señalan que ramas de limón (*Citrus limón* L.) con una alta infestación de la escama roja de California (*Aonidiella aurantii* Maskell) mostraron desintegración de células corticales. Mientras que Hill *et al.*, (2011) reportan que el establecimiento de *Hemiberlesia rapax* y *H. lataniae* en ramas y frutos de kiwi (*Actinidia chinensis*) provocó depresiones en el tejido epidérmico y cortical, cuyas células mostraron deposición de material fenólico, hipertrofia, necrosis y colapso celular.

3.10 Importancia de los compuestos fenólicos en la defensa de las plantas.

Las heridas que se producen en una planta por insectos depredadores o por el daño mecánico inducido por factores físicos desencadena una serie de eventos que se traducen en una respuesta de defensa de la planta, la cual involucra la activación de diversos genes que codifican proteínas las cuales participan en la fortificación de la pared celular, en la producción de inhibidores de proteasas y enzimas líticas (quitinasas y glucanasas), y en la síntesis de metabolitos secundarios (MS) (Peña y Willmitzer, 1994).

Dicha respuesta puede ser local o en sitios lejanos al daño (respuesta sistémica) y es regulada por moléculas como el ácido salicílico, el etileno, el ácido jasmónico y las especies reactivas de oxígeno (EROS) (Sepúlveda *et al.*, 2004). En particular el ácido jasmónico y el ácido salicílico modulan la expresión de genes de enzimas involucradas en la síntesis de metabolitos secundarios (MS) tales como la acetil CoA carboxilasa, la chalcona sintasa, la fenilalanina amonialiasa (PAL), y las polifenol oxidasas, entre otras (Garcia y Rocha, 2000; Wasternach y Parthier, 1997; Kaloshian y Walling, 2005). Las EROS participan en la reacción de hipersensibilidad (HR), la cual consiste en la muerte inmediata de las células protegiendo a la planta del avance y desarrollo del insecto o patógeno (Hückelhoven, 2005).

Los MS son compuestos de bajo peso molecular y forman parte del mecanismo de defensa de la mayoría de las plantas (Harbore, 1993; Grayer y Kokubun, 2001), su efecto es variable en los insectos, y los precursores de su biosíntesis se derivan de las rutas de la glucólisis, del ciclo de Krebs o de la vía del shikimato. Se conocen aproximadamente 20,000 compuestos diferentes, los cuales de acuerdo con su composición química, se clasifican en nitrogenados (alcaloides, aminoácidos no protéicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos) y no nitrogenados (terpenoides, poliacetilenos, policétidos, y fenilpropanoides). Los principales MS de defensa son los fenólicos, los alcaloides y los terpenos (Sepúlveda *et al.*, 2004; Granados *et al.*, 2008).

Los compuestos fenólicos se han asociado con la respuesta de defensa de las plantas ante al ataque de plagas y patógenos (Nicholson y Hammerschmidt, 1992). Se caracterizan por tener en su estructura un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos, y se sintetizan a partir del ácido cinámico, derivado de la fenilalanina por la actividad de la fenilalanina amonialiasa (Edwards y Gatehouse, 1999). Por lo general estos compuestos se almacenan en las vacuolas de las células polifenólicas del parénquima (Nagy *et al.*, 2005). En la RH los compuestos fenólicos limitan el desarrollo de la infección (Sepúlveda *et al.*, 2004), mientras que algunas formas insolubles de estos compuestos unidos a cutina, suberina, lignina o polisacáridos aumentan la rigidez

de la pared celular y reducen su digestibilidad por el insecto (Petersen y Matern, 2010). Dimerizaciones del ácido caféico, ferúlico y clorogénico dan origen a la formación de lignanos como el magnolol con actividad antifúngica. Así mismo, los fenoles simples y flavonoides actúan como poderosos antioxidantes capaces de consumir el H_2O_2 generado por el tejido vegetal ante condiciones de estrés (Rice *et al.*, 1997).

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que se sintetizan a partir de aminoácidos, purinas y del acetato de los policétidos. Su efecto tóxico radica en su capacidad para bloquear los neuroreceptores de vertebrados e insectos, y sus efectos inhibitorios están dados por su capacidad para detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos (Sepúlveda *et al.*, 2004; Camarena, 2009).

Los terpenoides o isoprenoides, se derivan de la fusión de unidades isopreno, moléculas de cinco carbonos (C5), y se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno que los forman. Su efecto tóxico radica en su capacidad antimicrobiana (mentol) como repelentes (citronelal) y venenos que actúan sobre el sistema nervioso de los insectos. Los terpenos, en combinación con otros compuestos como las oxilipinas y los índoles, forman mezclas de volátiles que funcionan como señales químicas para atraer a los enemigos naturales de insectos herbívoros (Sepúlveda *et al.*, 2004).

Estos mecanismos de defensa bioquímica se combinan a su vez con el desarrollo de estructuras de defensa existentes e inducidas, las primeras incluyen la cantidad y calidad de la cera de la cutícula que cubre a las células epidérmicas, la estructura de las paredes celulares de estas últimas, el tamaño, localización y forma de los estomas y lenticelas, y la presencia en la planta de tejidos con paredes celulares gruesas (Agrios, 2004). Las segundas incluyen a los tejidos que impiden el avance de patógenos e insectos hacia el interior de la planta y se les denomina estructuras histológicas de defensa, como: la formación de capas de corcho, formación de capas de abscisión, formación de túnicas y deposición de sustancias gomosas (Agrios, 2004).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Durante enero y junio de 2011, se colectaron frutos en madurez fisiológica y ramas jóvenes (1.0 a 1.5 cm de diámetro) con y sin presencia de escamas armadas (*A. aguacatae* y *Hemiberlesia* spp.) de huertas comerciales de aguacate ‘Hass’, ubicadas en el estado de Michoacán, México (Cuadro 2). De cada huerta se seleccionaron 5 árboles (tres con presencia de escama y dos sin escama) aparentemente homogéneos en fenología y tamaño. Los muestreos se realizaron en los cuatro puntos cardinales y en dos estratos del árbol: medio (3 - 4 m) y bajo (1 a 2.5 m). Se recolectaron cuatro frutos y cuatro ramas por árbol, cubriendo un total de 40 frutos y 40 ramas por huerto. Cabe señalar que la huerta “Estación Cupanda” tiene un sistema de manejo agronómico orgánico, mientras que el resto se mantienen bajo manejo convencional.

Cuadro 2. Huertas muestreadas durante los meses de enero y julio de 2011 en Michoacán, México.

Municipio	Huerta	Coordenadas	Altitud (msnm)
Uruapan	Cherangueran ⁺ **	19° 28' 27" N, 102° 05' 00" W	1913
Nuevo San Juan Parangaricutiro	La Hierbabuena ⁺ **	19° 23' 29" N, 102° 07' 05" W	1861
Tacámbaro	Quinta la Luz ^{**}	19° 13' 17" N, 101° 28' 00" W	1558
	Estación Cupanda ^{**}	19° 14' 53" N, 101° 27' 59" W	1811
Salvador Escalante	La Goleta ^{**}	19° 20' 17" N, 101° 46' 18" W	1781

⁺ Huertos muestreados para recolección de frutos y ramas, ^{**} Huertos muestreados para recolección de ramas. Los frutos y ramas se colectaron en enero y junio del 2011, respectivamente.

Fuente: (Lázaro - Castellanos, 2011).

4.2 Identificación de las especies de escamas armadas

Del material colectado en campo se tomaron diez hembras adultas de cada especie (*Abgrallaspis aguacatae*, y *Hemiberlesia* spp.) conservadas en alcohol al 70% y se montaron siguiendo la técnica de Kosztarab (1963). La identificación a nivel de especie se hizo con las claves de Evans *et al.* (2009).

4.3 Análisis histológico

4.3.1 Fijación, deshidratación e inclusión en paraplast

Los frutos y ramas colectados se dividieron en tres lotes de 10 ramas (ramas con escama, sin escama y con dos especies de escama por sección de rama) y 13 frutos (frutos con presencia de escama, sin escama y en donde se removió el insecto), y se disectaron en fragmentos de aproximadamente 1 cm². El insecto se removió del fruto con un pincel de cerdas de pelo de camello (Marca REX, S-700, Núm. 4). Para seleccionar especímenes vivos, la cubierta del insecto se levantó con una aguja de disección curva y se verificó con un microscopio óptico Carl Zeiss® (modelo Axiostar) que el cuerpo de la escama presentara un color amarillo brillante, sin colapsó, ni evidencia de parasitismo (agujeros en el cuerpo del insecto) (Washington y Walker, 1990). El material disectado (exocarpio y mesocarpio de fruto, peridermis y corteza de rama) se fijó por 48 horas en una mezcla de formaldehído, ácido acético glacial, etanol al 96% y agua destilada en proporción 100:50:50:350 mL. Transcurrido este tiempo el material se retiró de la solución fijadora, se lavó con agua de llave durante 15 min y se deshidrató e infiltró en un procesador automático de tejidos Tissue – Tek® II, modelo 4640-B® (Sakura Finetechnical Co., LTD Tokio, Japan), durante 5 horas en cada una de las siguientes soluciones: etanol al 50, 70, 85, 96 y 100%; etanol absoluto: xilol absoluto (1:1), xilol absoluto, y en dos cambios de Paraplast (SIGMA Chemical®) por 48 horas.

4.3.2 Corte y montaje

El tejido se embebió en paraplast y se cortó transversalmente a 11 µm de grosor en un micrótopo rotatorio (Jung Histocut®, marca Leica, modelo 820). Los cortes se montaron en portaobjetos con adhesivo de Haupt más cinco gotas de formaldehído al 10 % y se extendieron en una plancha térmica (C.O. Slide - Warner, Modelo 26020) a 20 - 25°C durante 24 horas.

4.3.3 Desparafinación y tinción

Los cortes se desparafinaron en una estufa a 60 - 55 °C durante una hora y en tres cambios de xilol absoluto por 3 min en cada uno. Posteriormente, se hidrataron progresivamente por inmersión en alcohol etílico a concentraciones de 100 y 96 % durante tres minutos en cada cambio, se colocaron en safranina (metilcelosolve) (SIGMA Chemical®) por 24 h y se enjuagaron con agua de llave durante una hora. Inmediatamente, las secciones se lavaron con alcohol etílico 96 % más ácido pícrico y con etanol 96 % más amonio durante 10 segundos, se deshidrataron con etanol absoluto y se tiñeron con verde rápido (metilcelosolve) (SIGMA Chemical®) durante 10 segundos. Las muestras se lavaron con aceite de clavo para retirar el exceso de colorante, se aclararon con una mezcla de aceite de clavo: xilol: etanol absoluto (50:25:25 mL), y se colocaron en xilol al 100 % por al menos tres minutos para posteriormente montarse en resina sintética (López *et al.*, 2005). Se observaron 320 laminillas de secciones de rama y 400 de fruto. Las observaciones se realizaron en un microscopio óptico marca Carl Zeiss®, modelo Axiostar.

4.4 Estimación de polifenoles totales

Para la estimación de polifenoles totales, se seleccionaron preparaciones (laminillas) representativas de cada una de las muestras evaluadas (con presencia de la escama, sin escama, escama removida, y con dos especies de escama por sección de rama). De cada laminilla se seleccionaron aleatoriamente tres cortes y de cada corte se tomaron fotografías de seis campos visuales diferentes (dos campos visuales antes de observarse la escama, dos campos visuales del sitio en donde se localizó la escama, y dos campos visuales después de observar la escama). De cada uno de los campos visuales capturados se seleccionaron al azar diez puntos y en ellos se midió el color en valores R (Red) G (Green) B (Blue) con el programa GIMP 2.6.11. Las imágenes se tomaron con una cámara digital para microscopia Pax cam® 3 integrada a un fotomicroscopio III de Carl Zeiss® con el objetivo de 40X a una resolución de 300 dpi.

4.5 Análisis estadístico

Los valores de color R G B se analizaron de manera conjunta mediante la construcción de una variable canónica a través de un análisis multivariado de varianza (MANOVA) El modelo estadístico utilizado para frutos y ramas fue el mismo:

$$R_{ijk} \ G_{ijk} \ B_{ijk} = \mu_{ijk} + \zeta_i + \delta_j(\zeta_i) + \epsilon_{ijk} \quad (1)$$

Donde:

R_{ijk} = Valor de color *R* de la *k*-ésima observación del sitio *j*-ésimo dentro del tratamiento *i*-ésimo. G_{ijk} = Valor de color *G* de la *k*-ésima observación del sitio *j*-ésimo dentro del tratamiento *i*-ésimo. B_{ijk} = Valor de color *B* de la *k*-ésima observación del sitio *j*-ésimo dentro del tratamiento *i*-ésimo. μ_{ijk} = Respuesta esperada para la *k*-ésima observación del sitio *j*-ésimo dentro del tratamiento *i*-ésimo. ζ_i = Tratamiento *i*-ésimo, donde *i* = 1,...,4 para rama, *i* = 1,...,5 para fruto. $\delta_j(\zeta_i)$ = Sitio *j*-ésimo dentro del tratamiento *i*-ésimo, donde *j* = 1,..., 6, si *j* = 1 y 2 se refiere al sitio antes de localizarse el insecto, si *j* = 3 y 4 se refiere al sitio de localización del insecto y si *j* = 5 y 6 se refiere al sitio después de la localización del insecto. ϵ_{ijk} = Error experimental.

Posteriormente con las variables canónicas $W_1 = \overbrace{-0.0391}^{a_1} * R - \overbrace{0.0071}^{a_2} * G + \overbrace{0.0291}^{a_3} * B$ (en rama) y $W_1 = -0.0274 * R - 0.0468 * G + 0.0701 * B$ (en fruto) generadas a partir del modelo (1), donde a_1 , a_2 y a_3 son coeficientes canónicos sin estandarizar (Apéndice 3), se procedió a probar los siguientes juegos de hipótesis, a través de un análisis univariado de varianza (Apéndice 4):

$H_0 : \zeta_1 = \zeta_2 = \zeta_3 \dots = \zeta_5$	vs.	$H_a : \text{Al menos uno de los tratamientos es diferente a los demás}$
$H_0 : \delta_1 = \delta_2 = \delta_3 \dots = \delta_5$	vs.	$H_a : \text{Al menos uno de los sitios es diferente a los demás dentro de tratamientos}$

A partir del modelo:

$$W_{ijk} = \mu + \zeta_i + \delta_j(\zeta_i) + \epsilon_{ijk} \quad (2)$$

Dónde:

W_{ijk} = Combinación lineal k -ésima de R, G y B asignado al sitio j -ésimo dentro del tratamiento i -ésimo.

μ = Vector de medias.

Sobre estas variables canónicas recién creadas se realizaron comparaciones múltiples con la prueba de Tukey $\alpha = 0.05$, para cada uno de los tratamientos y sitios dentro de tratamientos, finalmente, se calcularon las ubicaciones de las medias de tratamientos y de sitios dentro de tratamientos en el espacio canónico (Apéndice 5).

De esta manera, W_1 es un contraste entre B (tejido sin daño) vs R (tejido dañado) vs G (tejido poco dañado). Por lo tanto, valores en las medias de Tukey para la primera variable canónica (W_1) mayores y positivos, indican una menor acumulación de fenoles y en consecuencia menor daño al tejido vegetal (rama y fruto). En contraste, valores en las medias de Tukey para W_1 menores e incluso negativos, indican una mayor acumulación de fenoles y por lo tanto mayor daño. Por lo anterior, esta variable canónica, es un indicador de un posible daño en los tejidos vegetales analizados.

El análisis univariado y multivariado, se realizó con la prueba de Tukey $\alpha = 0.05$, usando el paquete estadístico SAS[®] para Windows versión 9.1.3.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Características de escamas armadas presentes en frutos y ramas de aguacate 'Hass'

Se identificaron tres especies de escamas armadas: *Hemiberlesia lataniae* (Signoret), *H. diffinis* (Newstead) (escamas blancas) y *Abgrallaspis aguacatae* (Evans, Watson y Miller) (escama café), las cuales se detectaron infestando frutos y ramas de aguacate 'Hass'.

- 1) La escama *H. lataniae* presenta una cubierta cerosa semicircular convexa de color blanca, de 1.5 a 2.0 mm de diámetro, y exuvia subcentral. La hembra adulta mide de 0.7 a 0.8 mm, tiene forma oval, color amarillo brillante, y cuerpo aplanado dorsoventralmente. Esta especie presenta poros perivulares en cuatro pequeños grupos; abertura anal grande (más ancha y larga que el lóbulo medio); lóbulo medio pigidial un poco convergente; y margen lateral con muesca un poco más grande que el margen mesal. Cada lóbulo pigidial medio carece de esclerito basal (Lázaro-Castellanos, 2011) [Figura 4].

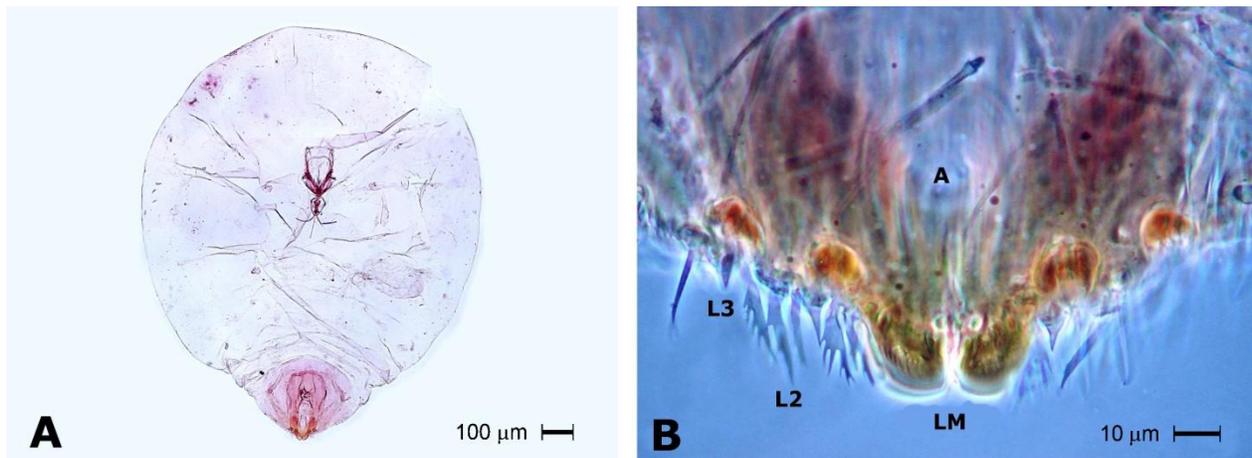


Figura 4. Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de *H. lataniae*. Tercer lóbulo (L3), Segundo Lóbulo (L2), Lóbulo medio pigidial (LM), Abertura o poro anal (A). (Fotografías: MC. Nancy Villegas Jiménez).

H. lataniae es una especie cosmopolita y altamente polífaga presente en diversos hospederos tanto frutales, como ornamentales y forestales (Miller y Davidson, 2005; Vargas y Rodríguez, 2008; Whitherell, 2011). De acuerdo con estudios realizados por Lázaro-Castellanos (2011), *H. lataniae* estuvo presente en diez huertos de aguacate 'Hass' muestreados en nueve municipios del estado de Michoacán, y fue la de mayor distribución en este estado. Esta escama, se ha reportado infestando aguacate en California EUA (Rugman-Jones *et al.*, 2009), Israel (Gerson y Zor, 1973), Australia (Waite, 1988), Chile (Vargas y Rodríguez, 2008) y Sudáfrica (De Villiers y Van Den Berg, 1987).

- 2) *H. diffinis* presenta cubierta cerosa semicircular convexa de color blanca, el cuerpo de la hembra adulta mide aproximadamente 1 mm y presenta dermis membranosa al madurar. De acuerdo con Ferris (1959), carece de poros perivulares y cuenta con tres pares de lóbulos esclerosados, el lóbulo medio pigidial amplio y junto; margen lateral con muesca. El tercer lóbulo muestra un diente esclerotizado pequeño. Los intersegmentos esclerosados están fuertemente desarrollados. Con pocos ductos dorsales, pequeños y delgados, no presentes en los segmentos cuarto y anterior. La apertura anal es conspicuamente amplia, siendo algo mayor en diámetro que la longitud del lóbulo medio y separado por aproximadamente dos veces este diámetro de la base de los lóbulos (Figura 5).

La escama *H. diffinis*, se ha reportado en una amplia variedad de hospederos (Fauna Entomológica de Nicaragua, 2012). Esta es una especie de menor distribución en la zona productora de aguacate en Michoacán, México (Lázaro-Castellanos *et al.*, 2011).

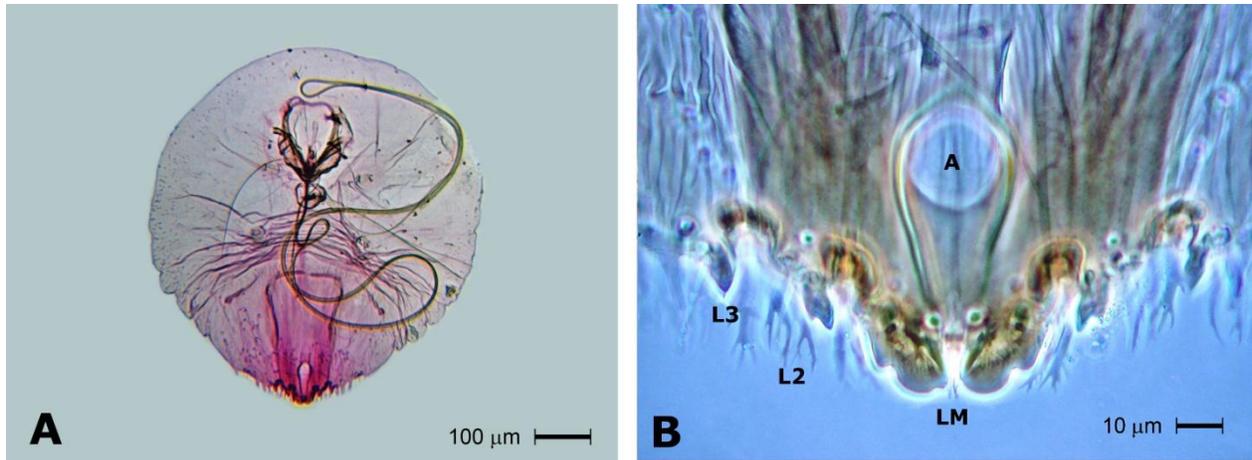


Figura 5. Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de *H. diffinis*. Tercer lóbulo (L3), Segundo Lóbulo (L2), Lóbulo medio pigidial (LM), Abertura o poro anal (A). (Fotografías: MC. Nancy Villegas Jiménez y MC. Jorge Valdez Carrasco).

3) *Abgrallaspis aguacatae* presenta cubierta cerosa semicircular plana de color café, exuvia subcentral de 1.2 mm de diámetro, el cuerpo de la hembra adulta es aplanado dorso-ventralmente; mide aproximadamente 1mm; es piriforme de color amarillo pálido con ápice del abdomen agudo. Carece de poros perivulares; abertura anal pequeña (más corto que el lóbulo medio); tercer lóbulo pigidial esclerosado y agudo; segundo y tercer lóbulos pigidiales con varios dientes laterales; pigidio largo con márgenes rectos formando un ángulo apical menor a 100°; placas largas entre los lóbulos con flecos en el ápice; vulva más ancha que larga y esclerosada en sus márgenes (Lázaro-Castellanos, 2011) [Figura 6].

Abgrallaspis aguacatae es una especie de reciente descripción asociada al aguacate 'Hass' (Evans *et al.*, 2009), encontrándose en nueve huertos ubicados en seis municipios de Michoacán, es una especie de amplia distribución y probablemente endémica de este estado (Lázaro-Castellanos *et al.*, 2011).

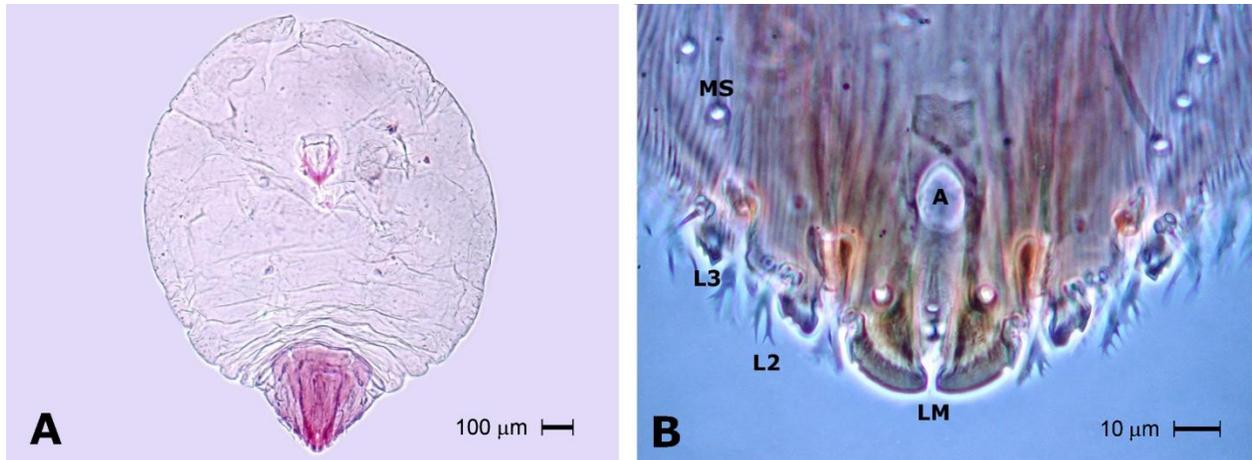


Figura 6. Características generales (A) y pigidio (B) de hembra adulta de *A. aguacatae*. Tercer lóbulo (L3), Segundo Lóbulo (L2), Lóbulo medio pigidial (LM), Macroducto submarginal (MS), Abertura o poro anal (A). (Fotografías: MC. Nancy Villegas Jiménez).

5.2 Respuesta externa de ramas y frutos de aguacate al establecimiento de escamas armadas

5.2.1 Rama

Los insectos escama o escamas armadas son insectos chupadores de savia que pertenecen al orden de los Hemípteros (Kondo y Muñoz, 2009). Diversos estudios han mostrado que el daño provocado por la alimentación de estos insectos provoca halos necróticos en el sitio de alimentación (Snodgrass, 1935; Melgarejo, 2000), y su saliva puede provocar reacciones de tipo tóxico o incluso cecidógena (formación de agallas) en sus hospedantes (Snodgrass, 1935). Sin embargo, en este estudio ninguna de las respuestas anteriores fue observada ante el establecimiento de *A. aguacatae*, *H. lataniae*, y *H. diffinis*, en ramas de aguacate (Figuras 7A y 7B).

La falta de cambios a nivel macroscópico probablemente de debió a que no se sabía con exactitud el tiempo transcurrido después del establecimiento de la escama y posiblemente la rama ya presentaba crecimiento secundario. Hill *et al.*, (2011), al evaluar la resistencia de ramas de diferentes genotipos de kiwi (*Activia chinensis* Planch) a la presencia de escamas armadas (*H. lataniae* y *H. rapax*), observaron que el

establecimiento de *H. rapax* no provocó ninguna respuesta externa visible. Sin embargo, dos semanas después del establecimiento de *H. lataniae* comenzó el desarrollo de una protuberancia (hinchazón) en la corteza del tejido alrededor de la escama, dicha respuesta incrementó consistentemente durante seis semanas, periodo en el cual se observó el obscurecimiento de la corteza en el sitio de establecimiento del insecto (muerte celular), siendo más lenta en aparecer y menos pronunciada en ramas maduras.

5.2.2 Fruto

El establecimiento de *A. aguacatae*, *H. lataniae*, y *H. diffinis* en frutos de aguacate 'Hass' tampoco provocó cambios a nivel macroscópico (Figuras 7B y 7C), probablemente como resultado de la velocidad en la respuesta ante el ataque de patógenos, la cual al parecer está relacionada con el grado de resistencia de la planta hospedante (Hill *et al.*, 2011). Dicha respuesta es regulada por la presencia e interacción de genes específicos de resistencia (Agrios, 2004; Greenberg y Yao, 2004; Stuiblé y Kombrink, 2004) y genes de avirulencia presentes en el patógeno, y son específicos para uno o varios tipos relacionados de plantas hospedantes. Así mismo, los genes que hacen que una planta hospedante no sea susceptible a un determinado patógeno solo existen en esa planta y quizá también en algunos tipos relacionados de plantas hospedantes (Agrios, 2004). De esta manera la especificidad de los genes que determinan las características del nivel de daño y susceptibilidad quizá explique el por qué una planta hospedante que es susceptible a una especie de escama en particular no lo sea para otras. Además, el exocarpio del fruto de aguacate posee una cutícula gruesa (Zamora *et al.*, 2001), cuyo grosor podría haber evitado o retardado la muerte de las células epidérmicas (Agrios, 2004). Hill *et al.*, (2011) observaron que el establecimiento de *H. rapax* en frutos de kiwi no suscitó ninguna respuesta externa visible. Sin embargo, la escama *H. lataniae* provocó muerte celular (como reacción de hipersensibilidad) en los frutos de un genotipo de kiwi (2C). Pero esta respuesta apareció después de seis semanas de establecido el insecto.

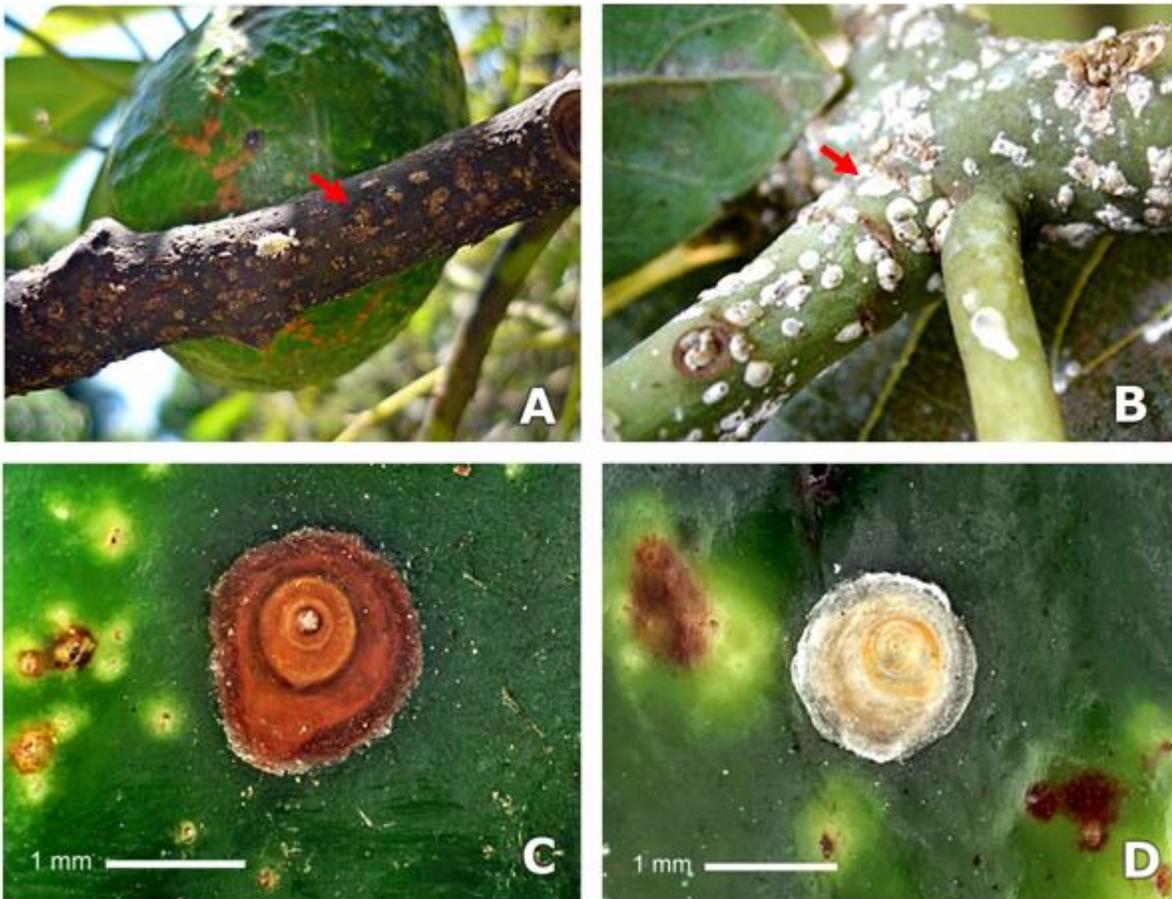


Figura 7. Presencia de escamas armadas (señaladas por flechas en color rojo) sobre ramas (A y B) y frutos de aguacate ‘Hass’ (C y D) en el estado de Michoacán, México. Escama café (*A. aguacatae*) (A y C). Escama blanca (*H. lataniae*) (B y D). Figuras C y D son acercamientos o detalles de la escama en frutos. (Fotografías A y B cortesía de MC. Carlos Lázaro-Castellanos).

5.3 Anatomía de ramas y frutos de aguacate sin presencia de insectos escama armada

5.3.1 Rama

En estas muestras, el tejido epidérmico de las ramas estuvo formado por un solo estrato celular con una cutícula más o menos gruesa proyectada hacia las paredes anticlinales. Las células presentaron cuerpos densos rojizos de naturaleza fenólica (Figura 8A). La corteza y la médula estuvieron constituidas por varios estratos de

células parenquimatosas isodiamétricas, las cuales mostraron citoplasma denso en la corteza y paredes celulares delgadas en la médula (Figuras 8A y 8B). El xilema se observó como un anillo grueso de tejido fibroso con numerosos vasos individuales o agrupados radialmente (Figura 8C).

5.3.2 Fruto

El exocarpio, que puede ser rugoso e irregular (Barrientos-Priego *et al.*, 1996), presentó una cutícula gruesa, continua y homogénea que cubrió el tejido epidérmico (Cummings y Schroeder, 1942; Schroeder, 1950), proyectándose entre las paredes anticlinales de las células (Figura 8D). La epidermis estuvo formada por un solo estrato celular y se extendió completamente sobre la superficie del fruto. Al igual que en las ramas, las células presentaron fenoles a manera de inclusiones más o menos densas de color castaño a rojizo (Figura 8D). Adyacentemente, se localizan varias capas de células parenquimatosas, isodiamétricas de pared delgada y con abundantes cloroplastos, los cuales le dan el color verde al exocarpio (Cummings y Schroeder, 1942) (Figura 8D).

El mesocarpio estuvo constituido por células grandes de pared delgada y con pequeñas inclusiones posiblemente de lípidos (Figura 8E). El xilema y floema formaron haces de tejido vascular distribuidos en las células del mesocarpio (Figura 8F).

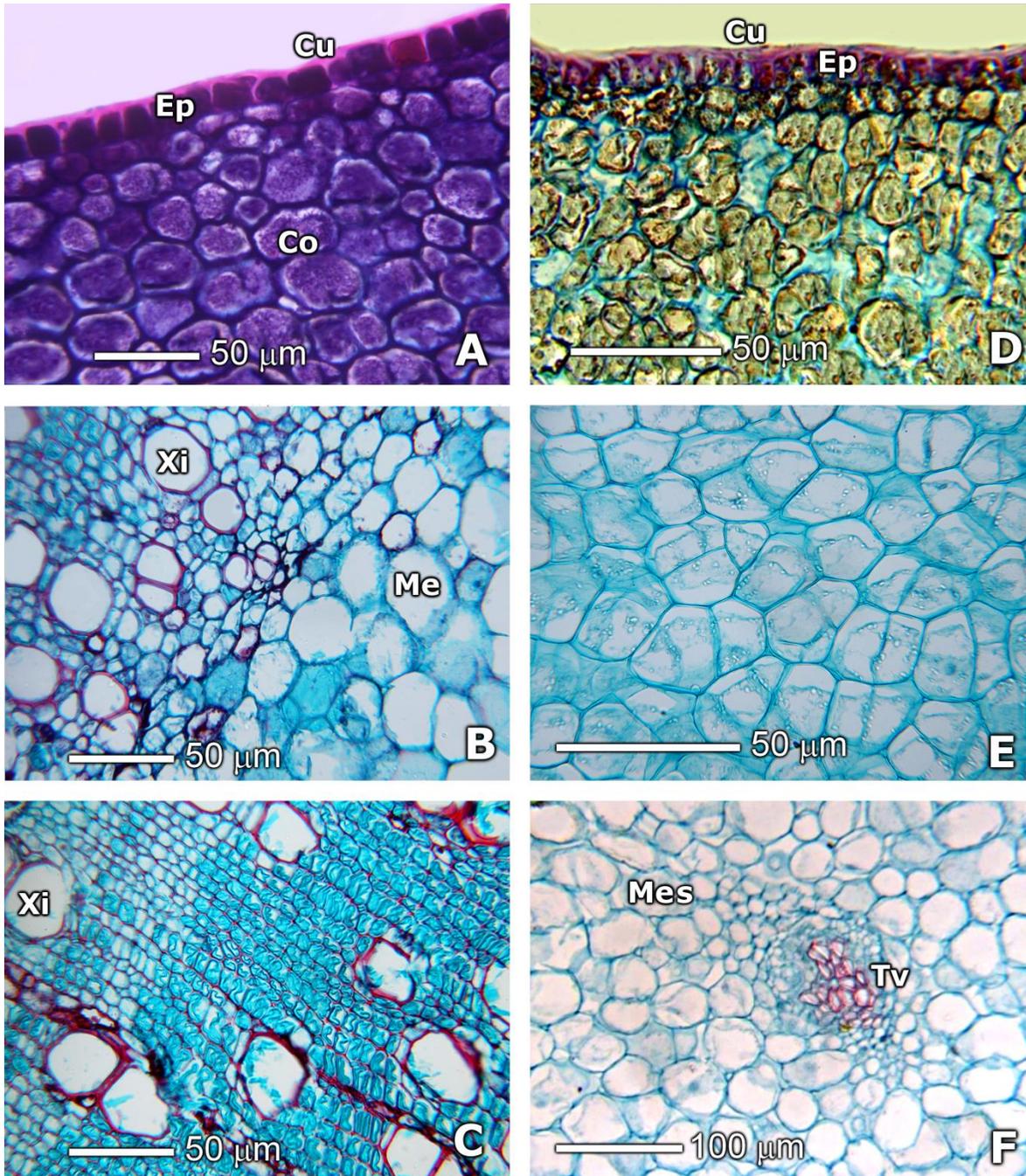


Figura 8. Fotomicrografías de cortes transversales de ramas jóvenes (A, B, C) y frutos (D, E, F) de aguacate 'Hass' sin presencia de escama. Tejido epidérmico y cortical (A), xilema y médula (B), xilema (C), exocarpio (D), mesocarpio (E), células de mesocarpio y tejido vascular (F). Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); médula (Me); mesocarpio (Mes) tejido vascular (Tv); xilema (Xi).

5.4 Respuesta histológica al establecimiento de escamas armadas en ramas y frutos de aguacate.

5.4.1 Rama

No se observaron alteraciones estructurales en los tejidos de rama de aguacate en respuesta al establecimiento de las escamas armadas (Figuras 9A y 9B). Hill *et al.*, (2011) observaron que solo algunos genotipos de kiwi infestados con la escama *H. lataniae* indujeron la formación de una herida en el punto de contacto entre la peridermis de la rama y el insecto; además la presencia de esta escama provocó acumulación de material fenólico, hipertrofia y colapso celular.

En este trabajo se observó acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en la epidermis y corteza de las ramas de aguacate en respuesta al establecimiento de las escamas armadas. El depósito de estos compuestos fue significativamente mayor en ramas infestadas con especies de escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*) en comparación con las infestadas por la escama café (*A. aguacatae*) y con dos especies de escama por sección de rama (Cuadro 3), y podrían ser el resultado de la respuesta de la planta ante el ataque de insectos herbívoros, la cual involucra la activación de diversos genes que codifican la síntesis y acumulación de metabolitos secundarios (entre ellos los compuestos fenólicos). Algunos de estos compuestos fenólicos participan activamente restringiendo la invasión al resto de la planta (Sepúlveda *et al.*, 2004) y podrían estar relacionados con la inhibición de la actividad de enzimas pectolíticas producidas por el insecto (Agrios, 2004).

La menor deposición de compuestos de naturaleza fenólica observada en secciones de rama con escama café y con dos especies de escama por sección de rama, posiblemente se deba a que la rama ya presentaba crecimiento secundario. Hill *et al.*, (2011), observaron que ramas maduras de kiwi infestadas con *H. lataniae* mostraron una respuesta más lenta y menos pronunciada al establecimiento de esta escama comparada con la observada en ramas jóvenes.

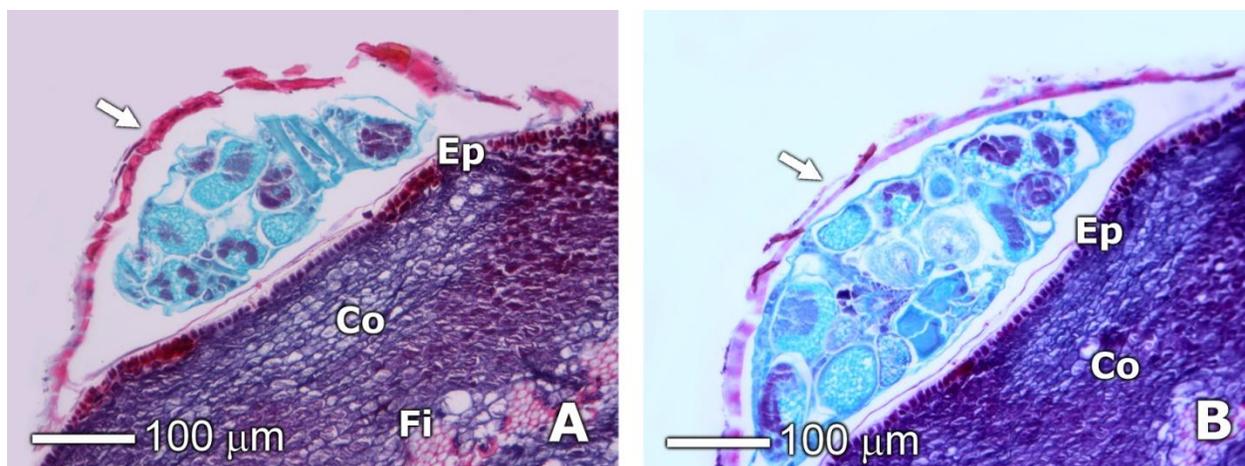


Figura 9. Fotomicrográficas de secciones transversales de rama de aguacate ‘Hass’ infestadas con escamas armadas. (A) Escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*), (B) Escama café (*A. aguacatae*). Corteza (Co); epidermis (Ep); fibras (Fi). Flechas señalan la localización de la escama.

Cuadro 3. Acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en ramas de aguacate ‘Hass’ infestadas con escamas armadas.

Rama	Medias de Tukey
Sin escama	0.48a*
Con dos especies de escama (<i>H. lataniae</i> ó <i>H. diffinis</i> y <i>A. aguacatae</i>)	-0.64b
Con escama café (<i>A. aguacatae</i>)	-1.13c
Con escama blanca (<i>H. lataniae</i> ó <i>H. diffinis</i>)	-1.60d

*Estos valores representan el promedio de 6,660 observaciones de distintos campos visuales. Letras diferentes en la columna indican diferencia estadística significativa (Tukey, 0.05).

5.4.2 Fruto

Se observaron depresiones del tejido epidérmico posiblemente asociadas con el establecimiento de las escamas armadas (Figura 10A). Es probable que tales cambios se hayan originado por la presión mecánica generada sobre el exocarpio; sin embargo, no siempre se encontró tal asociación, además el exocarpio de la variedad ‘Hass’ es rugoso e irregular (Barrientos-Priego *et al.*, 1996), y las escamas tienden a localizarse en este tipo de superficies (Washington y Walker, 1990; Morse *et al.*, 2009) para

protegerse de depredadores y de las condiciones ambientales, ya que al emerger la ninfa migratoria de los huevecillos, no presenta una cubierta protectora.

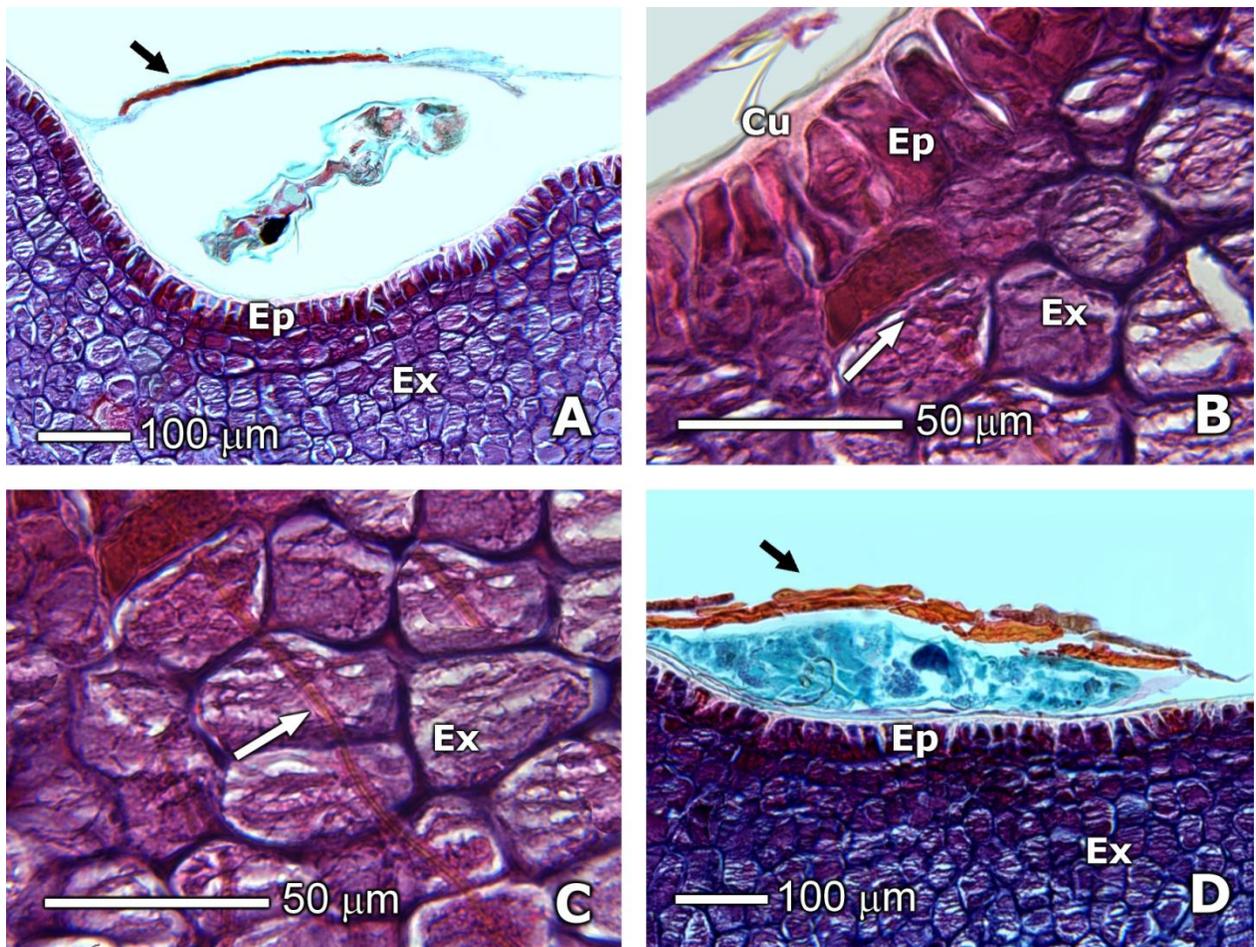


Figura 10. Fotomicrografías de secciones transversales de fruto de aguacate ‘Hass’ con presencia de especies de escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*) (A), tejidos epidérmico y parenquimatoso con depósitos de compuestos de naturaleza fenólica (B y C), secciones transversales de fruto de aguacate ‘Hass’ con presencia de escama café (*A. aguacatae*) (D). Cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex). Flechas en color blanco señalan la ruta de penetración del estilete a través de los tejidos parenquimatosos del exocarpio. Flechas en color negro señalan la localización de la escama.

Los tejidos epidérmico y parenquimatoso del exocarpio del fruto presentaron acumulación de compuestos de naturaleza fenólica, esta respuesta fue mayor en

aquellos tejidos en donde se removieron las escamas (Figuras 10B y 10C). En contraste, los tejidos con escama café (*A. aguacatae*), y con escama blanca (*H. lataniae* ó *H. diffinis*), presentaron escasa acumulación de estos compuestos (Cuadro 4).

La acumulación de compuestos de naturaleza fenólica observada en ramas y frutos de aguacate ‘Hass’ sugiere que el establecimiento de las escamas indujo la biosíntesis de la fenilalanina amonialiasa (PAL), enzima involucrada en la biosíntesis de compuestos fenólicos (ácido caféico y cúmarico) en respuesta a condiciones de estrés (Ramírez y Bor, 1973; Van Ledyveld *et al.*, 1984, Agrios, 2004). En frutos al igual que en ramas no se observaron alteraciones estructurales, en respuesta al establecimiento de las escamas (Figura 10D).

Cuadro 4. Acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en frutos de aguacate ‘Hass’ infestados con escamas armadas.

Fruto	Medias de Tukey
Sin escama	2.66a*
Con escama blanca (<i>H. lataniae</i> ó <i>H. diffinis</i>)	1.93b
Con escama café (<i>A. aguacatae</i>)	1.75c
Con escama café removida	-0.05d
Con escama blanca removida	-0.13d

*Estos valores representan el promedio de 2,880 observaciones de distintos campos visuales. Letras diferentes en la columna indican diferencia estadística significativa (Tukey, 0.05)

5.5.- Respuesta histológica de los tejidos de ramas y frutos a la penetración del estilete

Los estiletes de las escamas armadas están adaptados para perforar los tejidos de sus hospederos y succionar sus fluidos nutritivos (Foldi, 1997). En este trabajo no se observaron daños asociados con la penetración de los estiletes en la cutícula ni en las células epidérmicas de los frutos y ramas de aguacate (Figuras 11A y 11B). De acuerdo con el nivel de resolución microscópico, el estilete penetró intracelularmente las células parenquimatosas del exocarpio, la epidermis y corteza del tallo (11C y 11D), lo cual coincide con lo reportado en ramas de mora (Yasuda, 1979), en hojas y ramas de

cítricos (Washington y Walker, 1990), y en ramas y frutos de kiwi (Hill *et al.*, 2011) infestados con escamas.

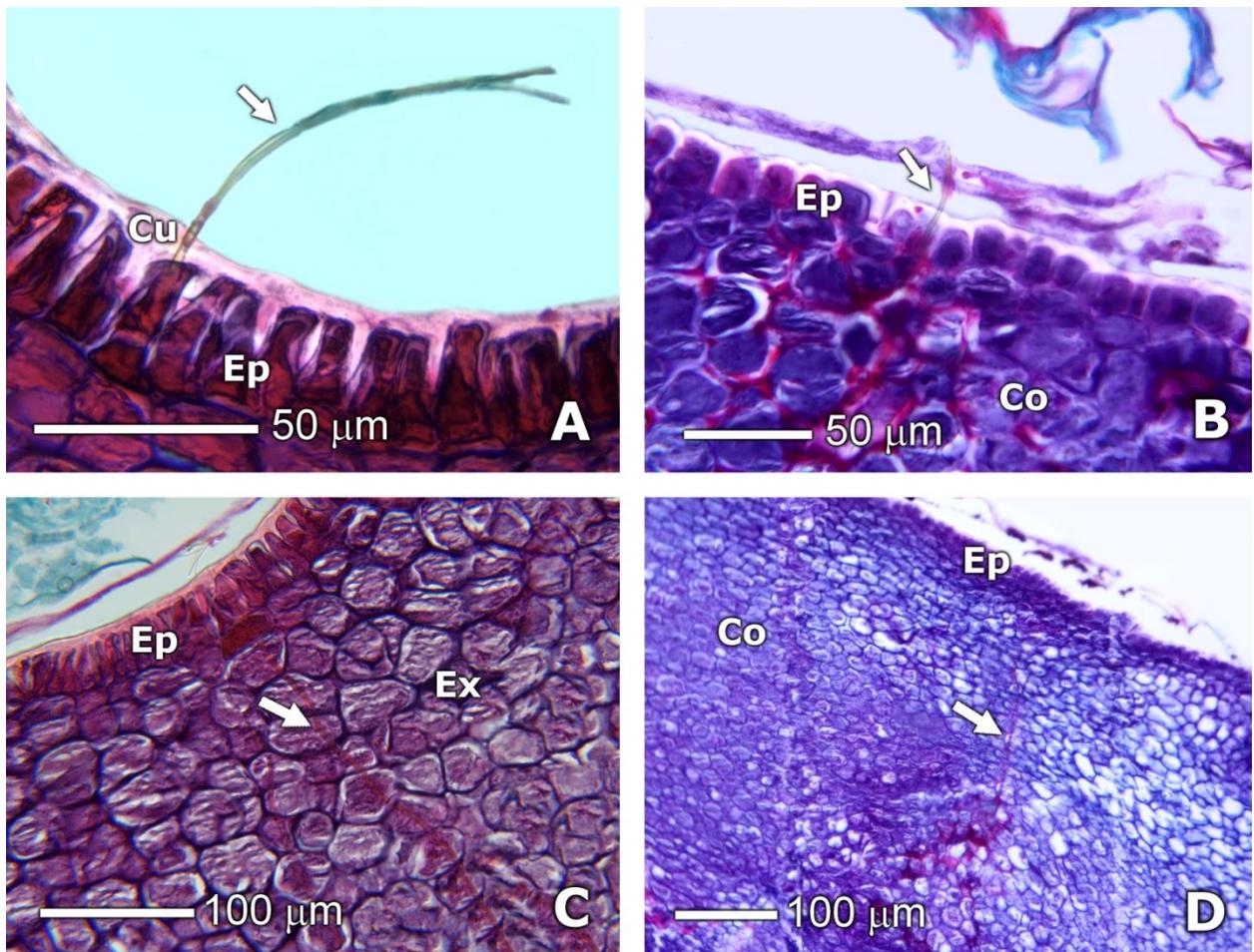


Figura 11. Fotomicrografías de secciones transversales de aguacate ‘Hass’ mostrando la penetración de los estiletes de la escama a través de los tejidos epidérmico y fundamental de frutos (A y C) y ramas (B y D) de aguacate ‘Hass’. Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex). Flechas señalan los estiletes de la escama y la ruta de penetración de los mismos a través de los tejidos parenquimatosos de ramas y frutos.

5.5.1. Rama

No se observó asociación de los estiletes con el tejido vascular de las ramas. Es posible que las fibras de este tejido actúen como una barrera física y limiten el avance y penetración de estas estructuras de alimentación (Hill *et al.*, 2011), obteniendo estos

insectos los nutrientes requeridos de las células del exocarpio y corteza. Sin embargo, se sugiere evaluar diferentes planos de corte para corroborar si existe o no asociación del estilete con el tejido vascular.

5.5.2. Fruto

Las paredes celulares del tejido parenquimatoso del exocarpio presentaron acumulación de compuestos de naturaleza fenólica través de la ruta de penetración del estilete (Figura 12A). Es posible que la acumulación de estos compuestos contribuya con un aumento en la rigidez de las paredes celulares (Sepúlveda *et al.*, 2004), actuando como una barrera física al daño causado durante la penetración del estilete. La saliva del insecto permite la penetración de los estiletes en los tejidos vegetales (Snodgrass, 1935) y su acción enzimática probablemente también indujo la acumulación de fenoles. Aunque no existen reportes de la composición de la saliva de las escamas armadas, Baranyovits (1953) y Ebeling (1959) reportan que la escama roja de California (*Aonidiella aurantii*) posee una toxina salival que posiblemente sea el agente causal del daño provocado en los tejidos de ramas de cítricos, pero estos autores no dan más detalles acerca de la composición de la toxina. En contraste, las células que fueron atravesadas por los estiletes de las escamas aparentemente no presentaron daño, sin embargo se detectó engrosamiento de pared celular y deposición de fenoles (Figura 12B). Albrigo y Brooks (1977), observaron resultados similares en células de corteza de ramas de cítricos, atravesadas por los estiletes de la escama nieve (*Unaspis citri* Comst) y sugieren que las células pueden mantener su función aún después de la penetración de los estiletes.

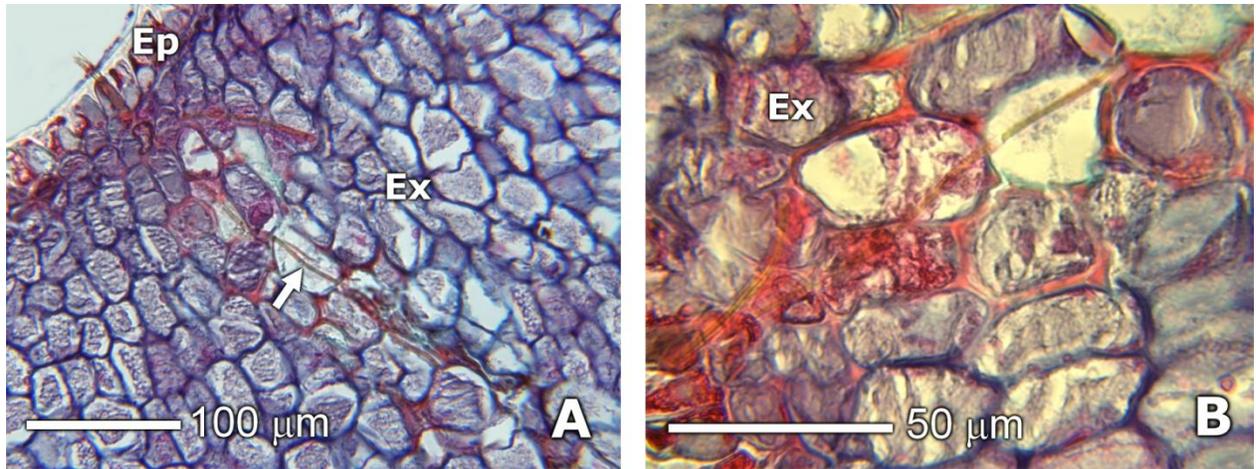


Figura 12. Fotomicrografías de secciones transversales de frutos de aguacate 'Hass', mostrando acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en las paredes celulares del exocarpio a través de la ruta de penetración (señalada por flecha en color blanco) de los estiletes de la escama (A), células de exocarpio sin daño aparente, pero con engrosamiento de pared celular y deposición de compuestos de naturaleza fenólica (B). Epidermis (Ep); exocarpio (Ex).

Como se ha mencionado, una de las principales respuestas de las ramas y frutos de aguacate al establecimiento y penetración de los estiletes de las escamas fue la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en el apoplasto y simplasto de los tejidos de estos órganos. De acuerdo con el Cuadro 5 hubo diferencias significativas respecto a la acumulación de estos compuestos entre los sitios antes y después de observarse la escama. Siendo los sitios de tejido de ramas y frutos en donde se localizó el insecto los que mostraron mayor acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en el exocarpio, en la epidermis y corteza (Figuras 13A y 13C) respecto a los sitios de tejido en donde no se observó la escama (Figuras 13B y 13D).

Cuadro 5. Análisis de varianza (ANOVA), de sitios (tratamientos) para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en ramas y frutos de aguacate 'Hass'.

FV	Rama					Fruto				
	GL	SC	CM	F- Valor	Pr > F	GL	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Sitio (trat)	20	105.26	5.26	5.2	<.0001	25	113.26	4.53	4.5	<.0001
Error	6636	6636	1			2850	2850	1		
Total	6659	10699.6				2879	6746.94			

FV= Fuente de variación, GL= Grados de libertad, SC = Suma de cuadrados, CM= Cuadrado medio.

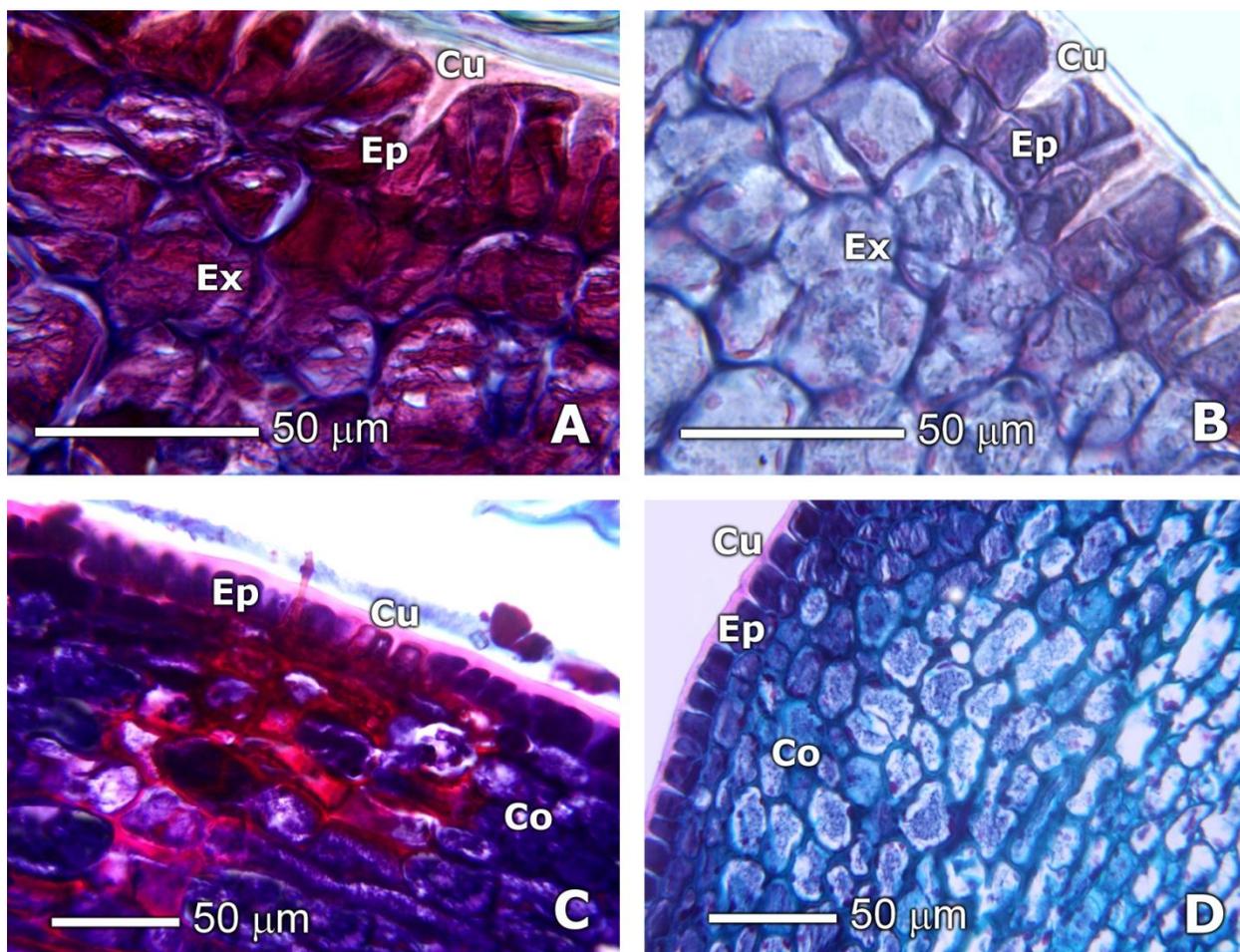


Figura 13. Fotomicrografías de cortes transversales de frutos (A y B) y ramas (C y D) de aguacate 'Hass'. Sin presencia de escamas armadas (B y D). Con presencia de escamas armadas (A y C). Mostrando deposición de compuestos de naturaleza fenólica en las células parenquimatosas del exocarpio de fruto (A) y de peridermis y corteza de rama (C). Corteza (Co); cutícula (Cu); epidermis (Ep); exocarpio (Ex).

VI. CONCLUSIONES

Hemiberlesia lataniae, *Hemiberlesia diffinis* y *Abgrallaspis aguacatae*, estuvieron asociadas a ramas y frutos de aguacate 'Hass'. El establecimiento de estas escamas y la penetración de su aparato bucal en los tejidos de ramas y frutos no provocaron cambios macroscópicos ni anatómicos, pero indujeron acumulación significativa ($P < 0.0001$) de compuestos de naturaleza fenólica en las paredes celulares, en el interior de las células de epidermis y corteza, en las paredes y en el citoplasma de los tejidos epidérmico y parenquimatoso del exocarpo y en los sitios correspondientes al área en donde se localizó el insecto.

La presencia de compuestos de naturaleza fenólica en los tejidos de ramas y frutos se confirmó por el mayor contraste en R vs G vs B, indicado por los valores menores y negativos registrados para las medias de tukey de W_1 y por la coloración rojiza al teñirse con safranina.

En ramas, los estiletes de las escamas se detectaron en la corteza, mientras que en frutos la mayoría de estos fueron localizados en las células del exocarpo. No se observó asociación de los estiletes con el tejido vascular y las células que fueron atravesadas por los estiletes de las escamas presentaron engrosamiento de pared celular y deposición de compuestos de naturaleza fenólica.

La calidad de la pulpa no se ve comprometida por la infestación de estas escamas. Por lo tanto, las especies de este insecto halladas en ramas y frutos de aguacate 'Hass' no representan una amenaza para los países a los cuales se exportarían los frutos. Sin embargo, es necesario un manejo integral en campo que reduzca las poblaciones de esta plaga en el cultivo y por ende en los frutos de aguacate 'Hass' con el objetivo de mejorar su apariencia externa.

VII. RECOMENDACIONES

No se observaron cambios macroscópicos ni anatómicos en los tejidos del fruto de aguacate en respuesta al establecimiento y alimentación de las escamas armadas, sin embargo, se detectó engrosamiento de las paredes celulares de la epidermis y del parénquima del exocarpo, por lo tanto es necesario evaluar diferentes planos de corte para corroborar lo anterior.

Adicionalmente, deben realizarse investigaciones que permitan identificar los fundamentos bioquímicos, fisiológicos y genéticos de la respuesta en la resistencia del árbol de aguacate a los insectos escama armada, lo que facilitara entender el papel de los genes específicos de resistencia en la determinación de la susceptibilidad que presentan las plantas hospedantes a una especie de escama en particular.

VIII. LITERATURA CONSULTADA

- Agrios, G. N. 2004. Fitopatología. Ed. Limusa. México D.F. 821 p.
- Albrigo, L. G., and Brooks, R. F. 1977. Penetration of citrus cuticles and cells by citrus snow scale, *Unapsis citri* (Comst.). Proc. International. Society. of Citriculture. 2:463-467.
- ANACAFE. 2004. Asociación Nacional Cafetalera (ANACAFE). Cultivo de aguacate. Programa de diversificación de ingresos de la empresa cafetalera. Asociación Nacional Cafetalera. Guatemala. Folleto Técnico 23 p.
- APROAM. 2007. Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan, Michoacán (APROAM). Disponible en: <http://www.aproam.com> (Consultado el 23-04-2011).
- Arévalo, G. L. 2000. Uso de radiaciones ionizantes en frutos de aguacate 'Hass' como tratamiento cuarentenario. Tesis de Doctorado. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad- Programa de Fruticultura. Montecillo, Texcoco, México. 70 p
- Baranyovits, F. 1953. Some aspects of the biology of armoured scale insects. Endeavour 12: 202-209.
- Barrientos-Priego, A. F., García, V. E. y Avitia, G. E. 1996. Anatomía del fruto de aguacate, ¿Drupa o Baya?. Revista Chapingo Serie Horticultura 2:189-198.
- Barrientos-Priego, A. F., Muñoz P, R. B., Reyes A, J. C., Borys, W. M. y Martínez-Damián, M. T. 2007. Taxonomía, Cultivares y portainjertos. 31-62 pp. *In: El aguacate y su manejo integrado*. Teliz, D y Mora, A. (Coordinadores). Segunda Edición. Editorial Mundi – Prensa. México D.F. 321 p.
- Beardsley, W. J., and González, H. R. 1975. The biology and ecology of armored scales. Annu. Rev. Entomol. 20: 47-73.
- Bidwell, R. G. 1979. Fisiología Vegetal. Editorial AGT, S.A. México, D.F. 784 p.
- Camarena, G. G. 2009. Señales en la interacción planta insecto. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 15 (1): 81-85.
- CESAVEM. 2010. Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de México (CESAVEM). Campaña manejo fitosanitario del aguacate: Manejo integrado de los barrenadores del hueso y de ramas. Folleto Técnico 8 p.
- Crane, J. H., Balerdi, C. F. y Maguire, I. 2005. Cultivo del aguacate en los jardines de Florida. Department of Horticultural Science, Florida Cooperative Extensión Service, Institute of Food and Agriculture Science, University of Florida. CIR Publication 1034. 24 p.

- Cummings, K., and Schroeder, C. A. 1942. Anatomy of the avocado fruit. California Avocado Society Yearbook 26: 56-64.
- Davies, R. G. 1988. Introducción a la Entomología. Editorial Mundi-Prensa. London New York. 156-162 pp.
- De Villiers, E., and Van Den Berg, M. 1987. Avocado insects of South Africa. South African Avocado Growers Association. Yearbook 10: 75-79.
- Devlin, P. C. 1982. Fisiología Vegetal. Barcelona, España. Editorial Omega. 517p.
- Equihua Martínez, A., Estrada Venegas, E. G., González Hernández, H., Gasca Corona, L., Salinas Castro, A., González Aguilar, J., Mora Aguilera, G. y Téliz Ortiz, D. 2007. Plagas. 135-169 pp. *In: El aguacate y su manejo integrado*. Téliz, D. y Mora A. (coordinadores). Ediciones Mundi Prensa. México D. F. 321 p.
- Ebeling, W. 1959. Subtropical fruit pests. University of California. Division of Agricultural Science, Berkeley.
- Echánove, H. F. 2008. Abriendo fronteras: El auge exportador del aguacate mexicano a Estados Unidos. *Anales de Geografía* 28(1): 9-28.
- Edwards, R., and Gatehouse, J. A. 1999. Secondary metabolism. *In: Plant biochemistry and molecular biology*. Lea, P. J. y Leegood, R.C. (eds.). 193-218 pp. John Wiley y Sons Ltd. Maryland, USA. 384 p.
- Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plant. 2 nd. Edition. Canada. 550 p.
- Evans, G. A., Watson, G. W., and Miller, D. R. 2009. A new species of armored scale (Hemiptera: Coccoidea: Diaspididae) found on avocado fruit from Mexico and a key to the species of armored scales found on avocado worldwide. *Zootaxa* 1991:57-68.
- FAO. 2012. Producción mundial de aguacate. Disponible en: <http://faostat.fao.org> (Consultado el 24-02-2012).
- Fauna Entomológica de Nicaragua. 2012. Familia Diaspididae. Disponible en: <http://www.avocadosource.com> (Consultado el 8-09-2012).
- Ferris, G. F. 1942. Atlas of the scale insects of North America. Series IV. The Diaspididae (Part. IV) Stanford University Press. 385-448 pp.
- Ferris, G. F. 1959. Atlas of the scale insects of North America. Stanford University Press. 277 p.
- Financiera Rural. 2009. Monografía del aguacate. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial, Financiera Rural. 4 p.
- Foldi, I. 1997. Internal anatomy of the adult female 73- 95 pp. *In: Soft scale insects- Their biology and control*. Ben- Dov, Y., and Hodgson, C. J. (eds.). Elsevier

Science B.V. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1572-4379\(97\)80045-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1572-4379(97)80045-0). (Consultado el 8-09-2012).

- García, P. B., and Rocha, S. M. 2000. The octadecanoid pathway is required for pathogen- induced multi-functional acetyl- CoA carboxylase accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science* 157: 181-190.
- Gentile, A. G., and Summers F. M. 1958. The biology of San José scale on peaches with special reference to the behaviours of males and juvenils. *Hilgardia* 27 (10): 269-285.
- Gerson, U., and Zor, Y. 1973. The armored scale insect (Homoptera: Diaspididae) of avocado trees in Israel. *J. Nat. His.* 7: 513- 533.
- González, Hernández, H., Johansen, Naime, R., Gasca Corona, L., Equihua Martínez, A., Salinas Castro, A., Estrada Venegas, E., Duran de Anda, F. y Valle de la Paz, A. 2000. Plagas del aguacate. 117-136 *In: El aguacate y su manejo integrado*. Téliz, D. (eds.). Ediciones Mundi Prensa. México D. F. 219 p.
- Granados, S. D., Ruiz P. P. y Barrera E. H. 2008. Ecología de la herbivoría. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente.* 14 (1): 51- 64.
- Grayer, R., and Kokubun, T. 2001. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plant. *Phytochem. Anal.* 56: 253-263.
- Greenberg, J. T., and Yao, N. 2004. The role and regulation of programmed cell death in plant – pathogen interactions. *Cell Microbiol* 6: 201-211.
- Gullan, P. J., and Kosztarab, M. 1997. Adaptation in scale insects. *Annu Rev. Entomol* 42: 23-50.
- Gutiérrez, C. M., Lara, C. B., Guillén, A. H. y Chávez, B. A. 2010. Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Revista Interciencia.* 35 (9): 647- 653.
- Harbore, J. 1993. Advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 10: 327-348.
- Hill, M. G., Mauchline, N. A., Jones M. K., and Sutherland P. W. 2011. The response of resistant kiwifruit (*Actinia chinensis*) to armoured scale insect (Diaspididae) feeding. *Arthropod – Plant Interactions*. Disponible en: DOI: 10.1007/s11829-011-9124-9 (Consultado el 16-06-2011).
- Hückelhoven, R. 2005. Powdery mildew susceptibility and biotrophic infection strategies. *FEMS Microbiol. Lett.* 245: 9-17.
- INEGI.2010. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos 2009: exportaciones en dólares. México. 1406 p.

- INIFAP. 2009. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Impactos ambientales y socioeconómicos del cambio de uso de suelo forestal a huertos de aguacate en Michoacán. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro, Campo Experimental Uruapan. Publicación Especial Número 2, Texcoco, México. 76 p.
- Kaloshian, I., and Walling, L. L. 2005. Hemipterans as plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 491-521.
- Kondo, T., Gullan, P.J., and Williams, D. J. 2008. Coccidology. The study of scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 9 (2): 55-61.
- Kondo, T. y Muñoz, V. J. 2009. Biodiversidad de los insectos escama en el aguacate/palta en el mundo y su importancia cuarentenaria. 2-23 pp. *In: Memoria del Tercer Congreso Latinoamericano del Aguacate.* Colombia.
- Kondo, T. D. 2010. Insectos del Mango. 105–139 pp. *In: Tecnología para el cultivo del mango.*
- Kosztarab, M. 1963. The armoured scale insect of Ohio (Homoptera: Coccoidea: Diaspididae). *Bull. Ohio, Biol. Survey, Ohio St. Univ.* 2(2):120.
- Kosztarab, M. 1987. Everything Unique or Unusual about Scale Insects (Homoptera: Coccoidea). *Bulletin of the Entomological Society of America* 33(4): 215- 221.
- Lázaro-Castellanos, C. 2011. Enemigos naturales asociados a escamas armadas (Hemiptera: Diaspididae) del aguacate Hass en Michoacán, México. Tesis de Maestría. Posgrado en Entomología y Acarología. Montecillo, Texcoco, México. 47 p.
- Lázaro-Castellanos, C., González-Hernández, H., Lomeli-Flores, J. R., Svetlana N, M., Ortega-Arenas, L. D. y Ochoa-Ascencio, S. 2012. Enemigos naturales de escamas armadas (Hemiptera: Diaspididae) en aguacate Hass en Michoacán, México. *Revista Colombiana de Entomología* 38(1):6-13
- León, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano de Cooperación Agrícola (IICA). San José Costa Rica. No. 84. 441p.
- López C. L., Márquez, G. J. y Munguía, S. G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Editorial Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias UNAM. 178 p.
- Magsig, C. J., Morse, J. G., Walker, G. P., Bi, J. L., Rugman-Jones, P. F., and Stouthamer, R. 2010. Phoretic Dispersal Scale Crawlers (Hemiptera: Diaspididae). *Journal of Economic Entomology.* 103 (4): 1172-1179.

- McClure, M. S. 1990. Host relationships. 289-303 pp. *In*: Armored scale insects, their biology, natural enemies, and control. Rosen, D. (eds.). Elsevier New York.
- Melgarejo, M. P. 2000. Tratado de Fruticultura; para zonas áridas y semiáridas. Vol. I. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid, España, 382 p.
- Miller D. R., and Davidson, J. A. 1990. A list of the armored scale insect pests. 299-306 pp. *In* Armored scale insects, their biology, natural enemies, and control. Rosen, D. [ed.]. World crop pests, vol. 4B. Elsevier, New York.
- Miller, D. R., and Davidson J. A. 2005. Armored scale insects pest of trees and Shrubs. Cornell University Press, Itahaca, 442 p.
- Miles, P. W. 1972. The saliva of Hemiptera. *Advances in Insect Physiology* 9: 183-225.
- Moran J. P., and Goolsby A. J. 2010. Biology of the Armored Scale *Rhizaspidiotus donacis* (Hemiptera: Diaspididae), a Candidate Agent for Biological Control of Giant Reed. *Annals of the Entomological Society of America*. 103 (2): 252-263.
- Morse, J. G., Rugman-Jones, P. F., Watson, G. W., Robinson, L. J., Bi, J. L., and Stouthamer, R. 2009. High levels of exotic armored scales on imported avocados raise concerns regarding USDA – APHIS’ phytosanitary risk assessment. *J. Econ. Entomol.* 102: 855-867.
- Nagy, E. N., Krokene, P., and Solheim, H. 2005. Anatomical – based defense responses of Scots pine (*Pinus sylvestris*) stems to two fungal pathogens. 2005. *Tree Physiology* 26: 159 - 167.
- Nicholson, R. L., and Hammerschmidt, R. 1999. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol* 30:369-389.
- Peña, C. H., and Willmitzer, L. 1994. The role of hormones in gene activación in response to wounding. 395-414 pp *In*: Plant hormones. P. J. Davis (ed). Kluwer Academic Publisher.
- Petersen, M. S., and Matern, U. 2010. Biosynthesis of phenylpropanoid and related compounds. 151-221 pp. *In*: Biochemistry of plant secondary metabolism. Wink, M. (ed.). Annual Plant Rewiews Vol.40. Sheffield Academic Press Ltd. London UK.
 Disponible en:
http://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=K8P5gScLkIYC&oi=fnd&pg=PP6&dq=Biochemistry+of+plant+secondary+metabolism&ots=stc53m4_Rd&sig=fAO6JAYGi5ikjFkb5-wbxC61IYU (Consultado el 16-06-2011).
- Ramírez, M. J. R., and Bor, S. L. 1973. Phenolic Compounds in Frozen Avocados. *J. Sci. Fd. Agric.* 24: 219 -225.
- Raice, E. C., Miller, N. J., and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trens in Plant Science* 2: 152-159.

- Roth, I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Germany.
- Rugman-Jones, P. F., Morse, J. G., and Stouthamer, R. 2009. Rapid molecular identification of armored scale insects (Hemiptera: Diaspididae) on Mexican 'Hass' avocado. *J. Econ. Entomol.* 102 (5): 1948-1953.
- Sánchez, C. S., Mijares O. P., López L. L., y Barrientos P. A. 2001. Historia del aguacate en México. CICTAMEX.171-187 pp.
- Schroeder, C. A. 1950. The structure of the skin or rind of the avocado. *California Avocado Society Yearbook* 34: 169 - 176.
- SE. 2012. Secretaría de Economía (SE). Dirección General de Industrias Básicas. Monografía del Sector Aguacate en México: Situación Actual y Oportunidades de Mercado. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx> (Consultado el 16-05-2012).
- Sepúlveda, J. G., Porta D. H. y Rocha S. M. 2004. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 21 (3): 355 - 363.
- SIAP.2009. Sistema de Información Agrícola y Pecuaria (SIAP). Desempeño positivo de la producción y exportaciones de aguacate durante el periodo 2000 - 2009. México D.F.
- SIACON. 2011. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México. Disponible en: www.siap.gob.mx (Consultado el 24 - 05 - 2011).
- Snodgrass, R. E. 1935. Principles of Insect Morphology. Mc Graw – Hill Book Company. 667 p.
- Stouthamer, R., and Morse, J. 2009. Determination of the likelihood that scale insects, originating from imported fruit, establish on avocado trees in California. 2008-09 Mid – Year Report. Department of Entomology, University of California Riverside. Disponible en: <http://www.docstoc.com/docs/23125754/2008-09-Mid-Year-Report-Determination-of-the-Likelihood-that-Scale> (Consultado el 27-02-2011).
- Stuible, H. P., and Kombrink, E. 2004. The hypersensitive response and its role in disease resistance. In: *Fungal disease resistance in plants: biochemistry, molecular biology, and genetic engineering.* Punja Z. K. (ed.). CRC Press, New York. 57 – 92 pp.
- Teliz Ortiz, D. y Marroquín, Pimentel, F. 2007. Importancia Histórica y Socioeconómica del aguacate. 3-28. *In: El aguacate y su manejo integrado.* Teliz D. y Mora A. (coordinadores). Segunda Edición. Editorial Mundi – Prensa. México D. F. 321 p.

- University of California. 2010. Avocado: Armored Scales *In*: Pest Management Guidelines. Disponible en: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r8300211.html> (Consultado el 27-02-2011).
- Van Lelyveld, L. J., Gerrish, C., and Dixon, R. A. 1984. Enzyme activities and Polyphenols related to mesocarp discolouration of avocado fruit. Department of Biochemistry, Royal Holloway College. 23 (8): 1531-1534.
- Vallejo, P. M. 2011. Histopatología, fisiología y calidad postcosecha de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. Hass infectados con el *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) y diagnóstico de la enfermedad. Tesis de Doctorado. Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología. Montecillo, Texcoco, México. 96 p.
- Vargas, R. y Rodríguez S. 2008. Escama latania. 163-171 pp. *In*: Manejo de plagas en Paltos y Cítricos. R. Ripa; P. Larral (eds.). Gobierno de Chile, Ministerio de Agricultura, Colección libros INIA. No. 23.
- Washington, J. R., and Walker G. P. 1990. Histological studies of California red scale (Homoptera: Diaspididae) feeding on citrus. Ann. Entomological Society of America 83 (5): 939 - 948.
- Waite, G. K. 1988. Biological control of lataniae scale on avocados in south – east Queensland J. Agric. Anim. Sci. 45 (2): 165-167.
- Wasternack, C., and Parthier, B. 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression. Trends in Plant Science 2: 302-307.
- Watson, G. W. 2005. Arthropods of economic importance: Diaspididae of the world an illustrated identification guide and information source. University of Amsterdam, The Netherlands. Disponible en: <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php> (Consultado el 01 - 06 - 2011).
- Witherell, C. P. 2011. Methyl bromide fumigation as a quarantine treatment for lataniae scale, *Hemiberlesia lataniae* (Homoptera: Diaspididae). Florida Entomologist Society 67 (2): 254 – 262.
- Yasuda, S. 1979. Microscopic observations on the external morphology of *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni and on the portion of mulberry tissues inserted with the stylet. Jpn J Appl Entomol Z 23(2): 61 – 68.
- Zamora M. T., Cárdenas, S. E., Cajuste B. J. y Colinas L. T. 2001. Anatomía del daño por rozamiento y por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en frutos de aguacate 'Hass'. Revista Agrociencia 35: 237-24

IX. APÉNDICE

Apéndice 1. Comandos SAS® para Windows versión 9.1.3 usado para el análisis estadístico de los datos de valores de color R G B obtenidos en ramas y frutos de aguacate 'Hass'.

```
proc glm data= work.escama;  
class trat sitio;  
model R G B = trat sitio (trat)/nouni;  
manova h= _all_/canonical;  
run;
```

```
Data RGB; SET work.escama;  
can1= -0.02741360*R -0.04675853*G + 0.07009305*B;
```

```
proc glm data= RGB;  
class trat sitio;  
model can1= trat sitio(trat);  
means trat/tukey lines;  
means sitio (trat)/ tukey lines;  
run;
```

```
PROC CORR;  
VAR R G B; WITH CAN1;  
RUN;
```

Apéndice 2.

Cuadro 1A. Análisis multivariado de varianza para las variables canónicas de tratamientos en rama de aguacate 'Hass'.

Variables Canónicas	Eigenvalor	Diferencia	Proporción	Acumulada
W_1	0.5965	0.5793	0.9711	0.9711
W_2	0.0172	0.0166	0.0280	0.9991
W_3	0.0006		0.0009	1.0000

Cuadro 1B. Análisis multivariado de varianza para las variables canónicas de tratamientos en frutos de aguacate 'Hass'.

Variables Canónicas	Eigenvalor	Diferencia	Proporción	Acumulada
W_1	1.3276	0.9965	0.7336	0.7336
W_2	0.3311	0.1803	0.1830	0.9166
W_3	0.1509		0.0834	1.0000

En todos los casos la primera variable canónica (W_1), explicó la mayor variabilidad total de las medias de tratamientos y su combinación lineal se calculó a partir del primer vector de coeficientes canónicos sin estandarizar.

Apéndice 3.

Cuadro 2A. Coeficientes canónicos sin estandarizar para el cálculo de la primera variable canónica (can1) en rama de aguacate 'Hass' (señalados por flechas en color rojo).

	 Can1	Can2	Can3
R	-0.0391	0.0036	0.0075
G	-0.0071	0.0373	-0.0376
B	0.0291	-0.0132	-0.0444

Cuadro 2B. Coeficientes canónicos sin estandarizar para el cálculo de la primera variable canónica (can1) en frutos de aguacate ‘Hass’ (señalados por flechas en color rojo)

	↓	Can1	Can2	Can3
R		-0.0274	-0.0568	0.0471
G		-0.0468	0.0961	-0.0005
B		0.0701	-0.0404	-0.0005

Con las variables canónicas generadas $W_1 = -0.0391 \cdot R - 0.0071 \cdot G + 0.0291 \cdot B$ (en rama) y $W_1 = -0.0274 \cdot R - 0.0468 \cdot G + 0.0701 \cdot B$ (en fruto), generadas a partir del análisis multivariado de varianza (MANOVA), se realizó un análisis univariado de varianza (ANOVA) usando esta combinación lineal de R, G, B, como variable respuesta.

Apéndice 4

Cuadro 3A. Análisis de varianza (ANOVA), de tratamientos para la primera variable canónica (W_1) en ramas de aguacate ‘Hass’.

FV	GL	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Tratamientos	3	3958.3676	1319.4559	1319.46	<.0001
Sitio (trat)	20	105.2653	5.2633	5.26	<.0001
Error	6636	6635.9991	1.00000		
Total	6659	10699.6320			

FV: Fuente de variación, GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, CM: Cuadrado medio.

Cuadro 3B. Análisis de varianza (ANOVA), de tratamientos para la primera variable canónica (W_1) en frutos de aguacate 'Hass'.

FV	GL	SC	CM	F- Valor	Pr > F
Tratamientos	4	3783.6824	945.9206	945.92	<.0001
Sitio (trat)	25	113.2666	4.53	4.53	<.0001
Error	2850	2849.9995	1.00000		
Total	2879	6746.9485			

FV: Fuente de variación, GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, CM: Cuadrado medio.

Apéndice 5.

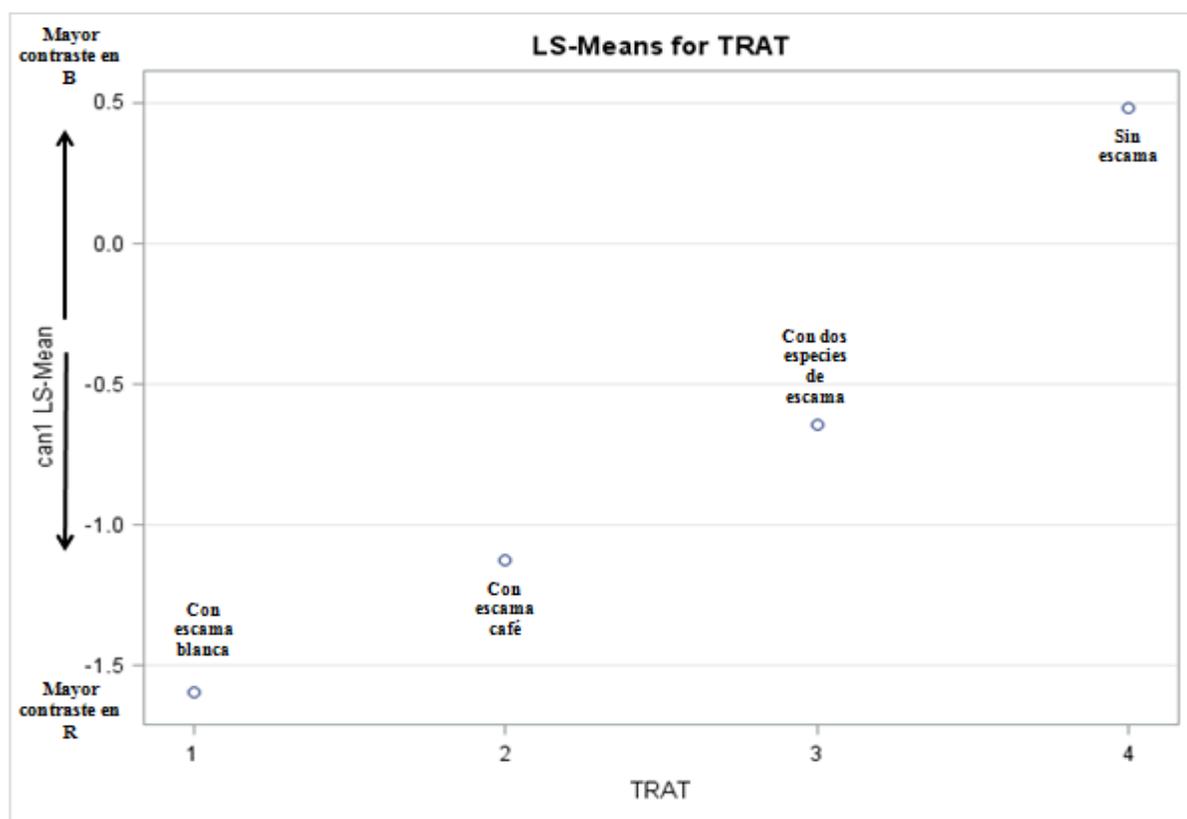


Figura 1A. Representación gráfica de la ubicación en el espacio canónico de las medias de tratamientos para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en rama de aguacate 'Hass'.

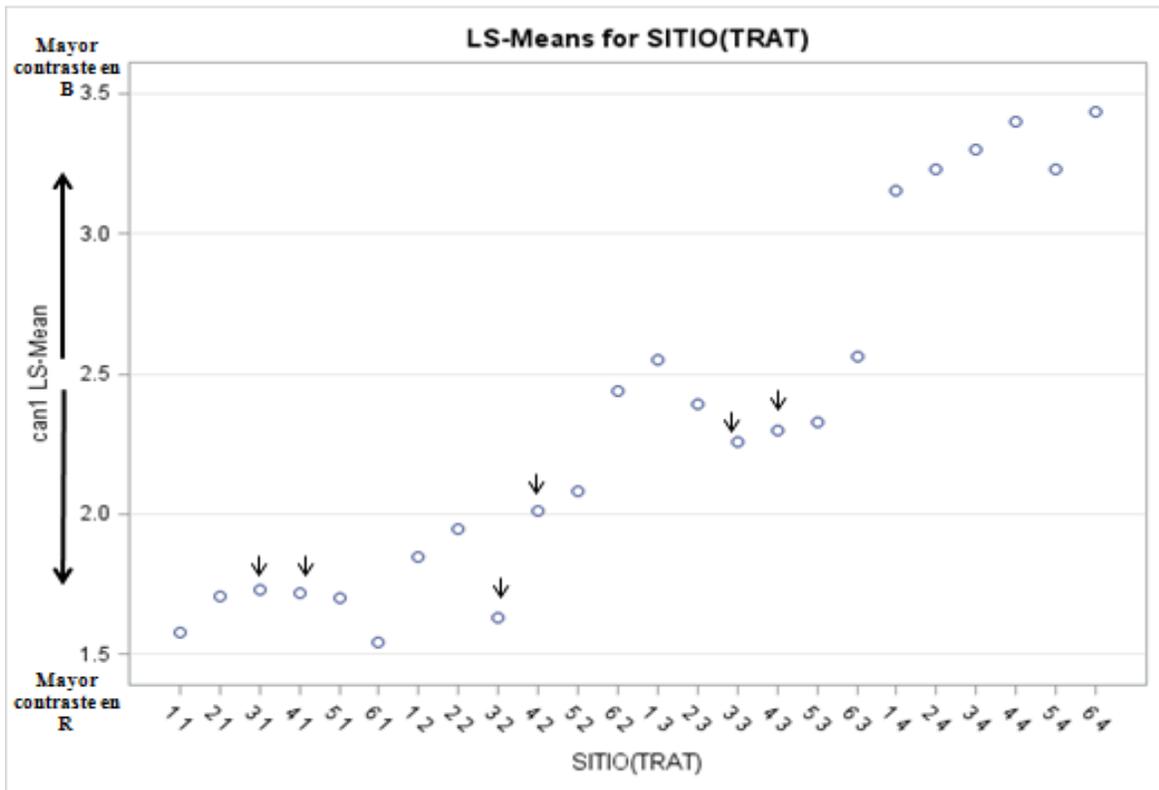


Figura 1B. Representación gráfica de la ubicación en el espacio canónico de las medias de sitios dentro de tratamientos para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en rama de aguacate ‘Hass’ (Observe que los sitios 3 y 4 presentaron un mayor contraste en R, en la mayoría de los tratamientos excepto el testigo).

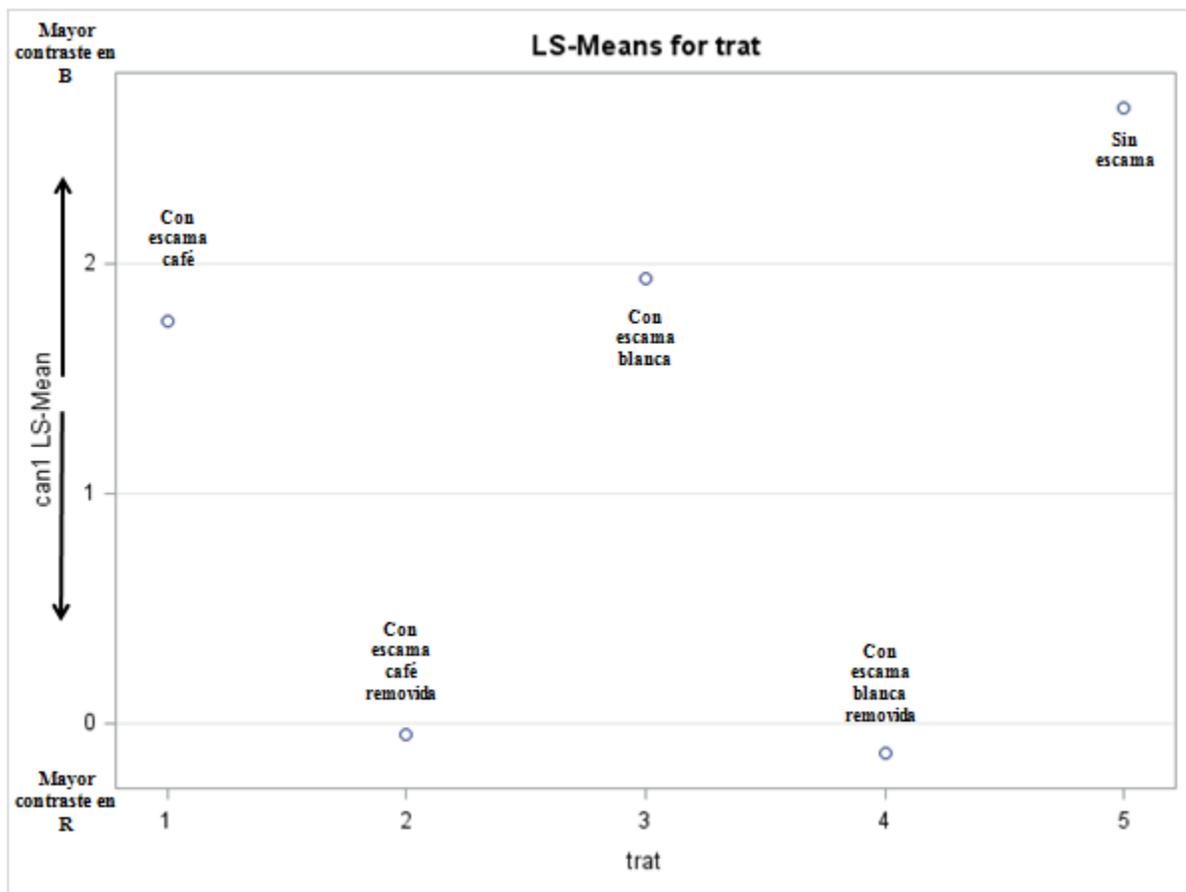


Figura 1C. Representación gráfica de la ubicación en el espacio canónico de las medias de tratamientos para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en fruto de aguacate 'Hass'.

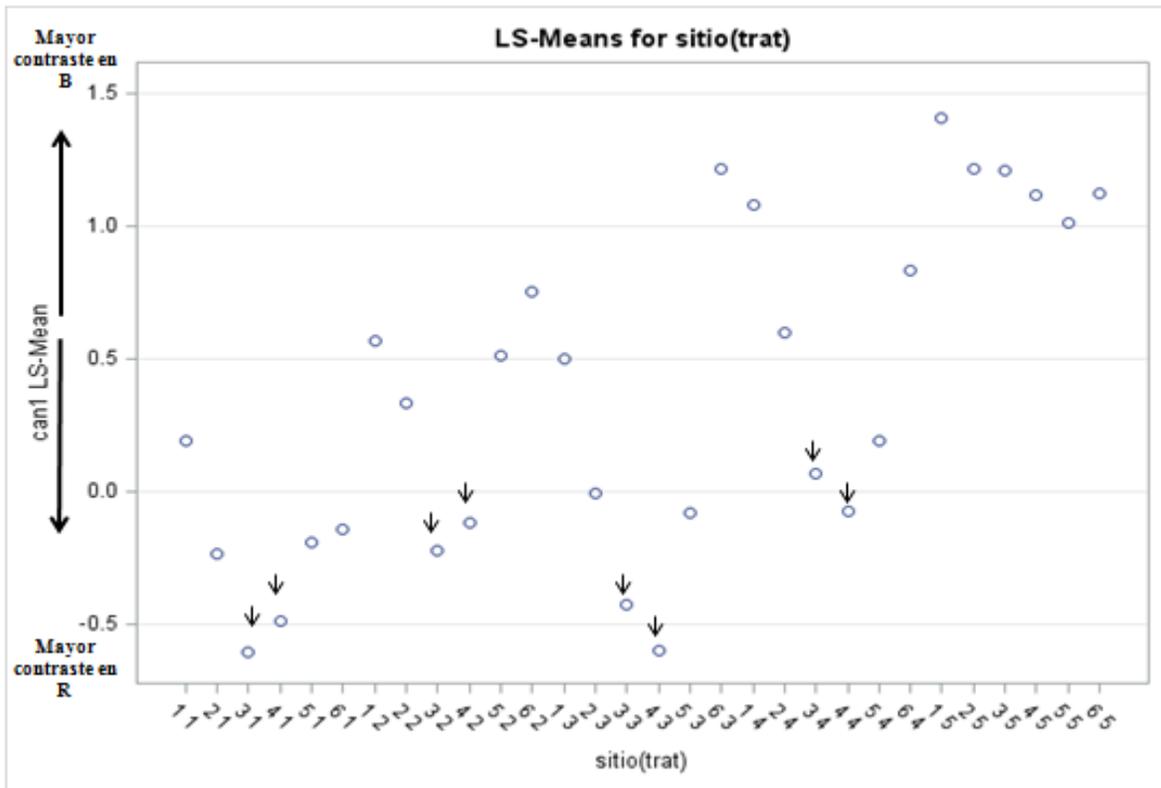


Figura 1D. Representación gráfica de la ubicación en el espacio canónico de las medias de sitios dentro de tratamientos para la acumulación de compuestos de naturaleza fenólica en fruto de aguacate ‘Hass’ (Observe que los sitios 3 y 4 presentaron un mayor contraste en R, en todos los tratamientos excepto el testigo).