



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

**AZÚCARES RELACIONADOS CON
RESISTENCIA A BAJAS
TEMPERATURAS EN
PORTAINJERTOS DE AGUACATE
(*Persea americana* Mill.) Y SU
EFECTO EN 'HASS'**

BERNARDO BERNAL VALENZO

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

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Azúcares relacionados con resistencia a bajas temperaturas en portainjertos de aguacate (*Persea americana* Mill.) y su efecto en 'Hass'**, realizada por el estudiante: **Bernardo Bernal Valenzo**, 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

CONSEJERO

DR. GUILLERMO CALDERON ZAVALA

ASESOR

DR. ALFREDO LOPEZ JIMINEZ

ASESOR

DR. DANIEL PADILLA CHACON

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, agosto de 2022

AZÚCARES RELACIONADOS CON RESISTENCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN PORTAINJERTOS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.) Y SU EFECTO EN 'HASS'.

**Bernardo Bernal Valenzo, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022.**

RESUMEN

Debido a la demanda de fruta, en México, las huertas de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad 'Hass' se establecen erróneamente en zonas frías; donde, la producción se ve afectada; una alternativa es el uso de portainjertos como soporte radical, sin la variabilidad de la variedad propagada por semilla; los más utilizados son los de la raza mexicana por su tolerancia al frío, relacionada con el contenido de azúcares solubles, en áreas de demanda, siendo moderada para la variedad 'Hass', al proceder de climas subtropicales; por lo que, en el Colegio de Postgraduados se evaluaron los segregantes de los portainjertos Duke 7, Tepetl, Aceitoso y Colecta 1; con el objetivo de identificar acumulación de azúcares solubles, durante el estrés por frío y si afecta la variedad 'Hass'; se analizó el contenido de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón en hojas de los brotes vegetativos de las plantas; muestreando a las 11:00hrs los días 1, 7 y 14 con un fotoperiodo de 12h; en la cámara 1 (tratamiento) con luminosidad de $380 \mu\text{mol m}^2 \text{S}^{-1}$ y temperaturas con luz de 15.61°C , y oscuridad de 4.40°C ; y la cámara 2 (testigo) con luminosidad de $367 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ y temperaturas con luz de 23.20°C , y oscuridad de 19.29°C ; considerando el factor frío; se observó que, la clorofila en las hojas, corrobora un crecimiento sin deficiencia fotosintética en las plantas de ambas cámaras; el contenido de glucosa de la variedad 'Hass' depende del portainjerto. El contenido de fructosa, aumenta en los materiales injertados y no injertados, actuando como un osmoprotector; el contenido de sacarosa aumenta en el material Aceitoso injertado; y el contenido de almidón, no es afectado. Al final Duke 7 y Tepetl son los materiales con mayor concentración de glucosa y fructosa, en condiciones de frío.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, segregante, tolerantes al frío.

SUGARS RELATED TO RESISTANCE TO LOW TEMPERATURES IN AVOCADO ROOTSTOCKS (*Persea americana* Mill.) AND ITS EFFECT ON 'HASS'.

**Bernardo Bernal Valenzo, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022**

ABSTRACT

Due to the demand for fruit, in Mexico, avocado orchards (*Persea americana* Mill.) variety 'Hass' are wrongly established in cold areas; where, production is affected; an alternative is the use of rootstocks as root support, to maintain their genetic characteristics, without the variability of the variety propagated by seed; the most used are the materials of the Mexican breed (criollo) due to their tolerance to cold, which is related to the content of soluble sugars, in areas of demand, being moderate for the 'Hass' variety, coming from subtropical climates; Therefore, in 2019 at the Colegio de Postgraduados the segregants of the rootstocks Duke 7, Tepetl, Aceitoso and Collecta 1 were evaluated; with the objective of identifying accumulation of soluble sugars, during cold stress and if it affects the 'Hass' variety; the content of glucose, fructose, sucrose and starch in leaves of the vegetative shoots of the plants was analyzed; sampling at 11:00 a.m. on days 1, 7 and 14; in chamber 1 (treatment) with luminosity of 380 $\mu\text{mol m}^2 \text{S}^{-1}$ and temperatures with light of 15.61°C, and darkness of 4.40°C, with a photoperiod of 12hrs; and chamber 2 (control) with luminosity of 367 $\mu\text{mol m}^2 \text{S}^{-1}$ and temperatures with light of 23.20°C, and darkness of 19.29°C, with a photoperiod of 12h; considering the cold factor, it was observed that the chlorophyll in the leaves corroborates a growth without photosynthetic deficiency in the plants of both chambers; the glucose content of the 'Hass' variety depends on the rootstock; the fructose content increases in grafted and non-grafted materials, acting as an osmoprotector. Sucrose content increases in the grafted Aceitoso material; and the starch content is not affected. At the end, Duke 7 and Tepetl are the materials with the highest concentration of glucose and fructose, in cold conditions.

Key words: *Persea americana* Mill, segregant, cold tolerant.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo de financiamiento brindado durante el periodo de estudios.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo por las facilidades prestadas durante el proceso de aprendizaje y mi estancia en esta institución.

Al Posgrado de Fruticultura por los conocimientos compartidos durante el proceso de preparación para la obtención del grado de maestría.

A los integrantes de mi Consejo por el apoyo brindado y por compartir sus conocimientos para la elaboración de este trabajo de investigación.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos estratégicos	3
2.3. Hipótesis	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1. Importancia del cultivo.....	4
3.2. Portainjertos de la raza mexicana	4
3.2.1. Portainjertos evaluados.....	5
3.2.1.1. Duke 7	5
3.2.1.2. Tepetl	5
3.2.1.3. Aceitoso.....	5
3.2.1.4. Colecta 1	6
3.3. Variedad comercial 'Hass'	6
3.4. Interacción portainjerto-injerto.....	7
3.5. Temperatura de desarrollo de la planta de aguacate	7
3.6. Azúcares solubles y almidón en las plantas	8
3.7. Estrés por frío.....	11
3.7.1. Fase de percepción.....	12
3.7.2. Fase de aclimatación	13
3.7.3. Fase de adaptación.....	14
3.8. Respuestas estructurales y bioquímicas de las plantas	14
3.9. Intensidad lumínica y baja temperatura en las plantas.....	15
3.10. Contenido de clorofila a.....	16
3.11. Almidón	17
3.12. Sacarosa	18

3.13.	Fructosa y fructanos.....	19
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1.	Establecimiento de plantas de aguacate.....	20
4.2.	Materiales de campo	20
4.3.	Etapa 1 campo	20
4.3.1.	Cosecha.....	20
4.3.2.	Despulpe de fruta.....	21
4.3.3.	Registro e identificación de semillas	21
4.3.4.	Siembra en almacigo	21
4.3.5.	Germinación.....	22
4.3.6.	Trasplante	22
4.3.7.	Mantenimiento y desarrollo de planta de aguacate.....	23
4.3.8.	Injertación	23
4.3.9.	Desarrollo de injertos y selección de planta.....	23
4.4.	Etapa 2 laboratorio	24
4.4.1.	Traslado	24
4.4.2.	Establecimiento de la planta en cámaras frigoríficas	24
4.4.3.	Diseño experimental	25
4.4.4.	Variable respuesta	26
4.4.4.1.	Medición de altura de plantas.....	26
4.4.4.2.	Toma de datos SPAD.....	26
4.4.4.3.	Preparación de muestras	26
4.4.4.4.	Determinación de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa y almidón).....	27
4.4.4.4.1.	Lectura de contenido de azúcares	27
4.4.4.5.	Determinación de almidón.....	27
4.4.5.	Análisis estadístico.....	27
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1.	Cámaras de ambiente controlado	29
5.1.1.	Registro de temperaturas.....	29
5.1.2.	Registro de luminosidad.....	30

5.2.	Crecimiento de planta	32
5.3.	Contenido de clorofila a.....	33
5.4.	Contenido de azúcares con dos ambientes de temperatura	34
5.4.1.	Glucosa.....	34
5.4.2.	Fructosa	35
5.4.3.	Sacarosa.....	36
5.4.4.	Almidón	37
5.5.	Contenido de azucares en materiales no injertados e injertados	38
5.5.1.	Glucosa.....	38
5.5.1.1.	Materiales no injertados	38
5.5.1.2.	Materiales injertados con 'Hass'	39
5.5.2.	Fructosa	40
5.5.2.1.	Materiales no injertados	40
5.5.2.2.	Materiales injertados con 'Hass'	41
5.5.3.	Sacarosa.....	42
5.5.3.1.	Materiales no injertados	42
5.5.3.2.	Materiales injertados con 'Hass'	43
5.5.4.	Almidón	44
5.5.4.1.	Materiales no injertados	45
5.5.4.2.	Materiales injertados con 'Hass'	45
5.6.	Contenido de azúcares por material de aguacate	46
5.6.1.	Aceitoso	47
5.6.2.	Colecta 1	50
5.6.3.	Tepetl.....	53
5.6.4.	Duke 7.....	56
VI.	CONCLUSIONES.....	59
VII.	LITERATURA CITADA	61

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Fecha y numero de frutos cosechados.....	22
Cuadro 2. Fechas de siembra de semillas en almacigo	23
Cuadro 3. Selección de planta para trasplante.....	24
Cuadro 4. Proceso para lectura de azúcares	27
Cuadro 5. Proceso para lectura de azúcares	28
Cuadro 6. Contenido de azúcares solubles y Almidón en Aceitoso	47
Cuadro 7. Contenido de azúcares solubles y Almidón en Colecta 1	50
Cuadro 8. Contenido de azúcares solubles y Almidón en Tepetl	53
Cuadro 9. Contenido de azúcares solubles y Almidón en Duke 7	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de Calvin por Serrato <i>et al.</i> (2009)	9
Figura 2. Fijación fotosintética del CO ₂ por Heldt (2005).....	11
Figura 3. Transición de fase de la membrana celular por Theocharis <i>et al.</i> (2012)..	13
Figura 4. Síntesis de almidón en cloroplasto por Taiz y Zeiger (2004).....	18
Figura 5. Síntesis de sacarosa en el citosol por Taiz y Zeiger (2004)	19
Figura 6. Diseño experimental de parcelas divididas	21
Figura 7. Germinación de plantas de aguacate	23
Figura 8. Trasplante a bolsa de los portainjertos.....	23
Figura 9. Prendimiento del injerto.....	25
Figura 10. Desarrollo de brotes vegetativos	25
Figura 11. Registro de temperatura del dataloggers cámara 2	29
Figura 12. Registro de temperatura del dataloggers cámara 1	30
Figura 13. Intensidad lumínica de la cámara 2	31
Figura 14. Intensidad lumínica de la cámara 1	31
Figura 15. Efecto del frío en el crecimiento de plantas de aguacate	32
Figura 16. Lectura de unidades SPAD en materiales no injertados	33
Figura 17. Lectura de unidades SPAD en materiales injertados	34
Figura 18. Contenido de Glucosa por ambiente	35
Figura 19. Contenido de Fructosa por ambiente	36
Figura 20. Contenido de Sacarosa por ambiente	37
Figura 21. Contenido de Almidón por ambiente	38
Figura 22. Contenido de Glucosa en materiales no injertados	39
Figura 23. Contenido de Glucosa en materiales injertados	40
Figura 24. Contenido de Fructosa en materiales no injertados	41
Figura 25. Contenido de Fructosa en materiales injertados	42
Figura 26. Contenido de Sacarosa en materiales no injertados	43
Figura 27. Contenido de Sacarosa en materiales injertados	44
Figura 28. Contenido de Almidón en materiales no injertados	45
Figura 29. Contenido de Almidón en materiales injertados	46
Figura 30. Contenido de Glucosa en Aceitoso	48

Figura 31. Contenido de Fructosa en Aceitoso	48
Figura 32. Contenido de Sacarosa en Aceitoso	49
Figura 33. Contenido de Almidón en Aceitoso	49
Figura 34. Contenido de Glucosa en Colecta 1	51
Figura 35. Contenido de Fructosa en Colecta 1	51
Figura 36. Contenido de Sacarosa en Colecta 1	52
Figura 37. Contenido de Almidón en Colecta 1	52
Figura 38. Contenido de Glucosa en Tepetl	54
Figura 39. Contenido de Fructosa en Tepetl	54
Figura 40. Contenido de Sacarosa en Tepetl	55
Figura 41. Contenido de Almidón en Tepetl	55
Figura 42. Contenido de Glucosa en Duke 7	57
Figura 43. Contenido de Fructosa en Duke 7	57
Figura 44. Contenido de Sacarosa en Duke 7	58
Figura 45. Contenido de Almidón en Duke 7	58

I. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una especie arbórea polimórfica que se extiende desde las tierras altas del centro y oriente de México, pasando a través de Guatemala, hasta la costa del Océano Pacífico en Centroamérica (Smith, 1966, 1969; Storey et al., 1986). Debido a su amplia distribución, se conformaron cuatro taxones distintos o subespecies, ecológicamente separadas, conocidas actualmente como razas: mexicana, guatemalteca, antillana y costarricense (Ben-Ya'acov et al., 2003). Como resultado del traslado de germoplasma, ocurrió un cruzamiento interracial, a tal grado, que en la actualidad los cultivares económicamente importantes; son resultado de la hibridación entre razas (Knight, 2002); tal es el caso de la variedad 'Hass' que es un híbrido predominantemente guatemalteco con genes de la raza mexicana, con una floración tipo A y frutos con una gran capacidad de almacenamiento y transporte que favorecen sus características de manejo postcosecha (Crane, et al., 2013); variedad, de la que, en 2020, la producción de aguacate en México se ajustó al alza; con datos preliminares del SIAP; se obtuvo un incremento anual de 0.5%, al ubicarse en 206 mil 466 toneladas; esta producción de fruta de aguacate, implica un proceso complejo que inicia desde la elección del portainjerto; el cual, es el encargado de proporcionar a la variedad comercial un soporte radical y mantener sus características genéticas, sin la variabilidad que se obtiene de la variedad propagada por semilla; por tal motivo, reviste vital importancia la elección de un buen portainjerto, ya que de él depende el éxito o fracaso de una plantación menciona Barrientos-Priego et al. (2000). Afirmando la influencia del portainjerto sobre la variedad Willingham et al. (2006) y Coates et al. (2011) señalan que los portainjertos pueden influenciar significativamente la incidencia de antracnosis en la fruta de la variedad injertada; también Mickelbart et al (2007) constataron diferencias significativas en la absorción de nutrientes por efecto de distintos portainjertos clonales. Bergh y lahav, (1996), mencionan que la raza mexicana ha contribuido con genes que favorecen la tolerancia al frío; tema sobre el cual se trata en este trabajo de investigación; por ejemplo, Pearce, (2001) citado por Gallino et al. (2007) mencionan que en las plantas de *Eucalyptus globulus* Labill durante el proceso de endurecimiento al frío, existe una transformación de almidón en azúcares solubles, una interconversión (Poirier et al. 2010); de igual forma, el contenido de glucosa en las hojas de los brotes vegetativos

como tejidos de demanda, son afectados por factores ambientales, bioquímicos y fisiológicos (Rolland et al, 2002, citado por Padilla y Martínez, 2007), y para el caso del contenido de fructosa en las hojas, está relacionado con la reserva de carbono de las plantas de aguacate bajo condiciones estresantes por frío; estos carbohidratos están asociados con la tolerancia a diferentes tipos de estrés, actuando como osmoprotectores ante condiciones ambientales adversas por calor, frío, o estrés hídrico (Marschall, M., et al., 2019); mientras que, la sacarosa es utilizada por la planta como principal fuente de energía bioquímica, al realizar su síntesis en el citosol a partir de glucosa y fructosa fosforiladas (Hopkins y Huner, 2004); además de los azúcares es importante mencionar que para que las plantas puedan fijar el carbono, el hidrogeno y el oxígeno inorgánico, y formar un compuesto bioquímico como la glucosa se necesita energía en forma de calorías, con el mecanismo de la fotosíntesis mediante el cual con 48 fotones es capaz de obtener la energía suficiente para producir una molécula de glucosa y liberar oxígeno (O₂) a la atmosfera (Almeraya y Sánchez, 2015); resultando más susceptibles a las bajas temperaturas los materiales de aguacate de zonas subtropicales como la variedad 'Hass' (Crane, et al., 2013); y siendo una alternativa el uso de portainjertos de la raza mexicana, como posible solución a los efectos del frío (Lockard y Schneider, 1981); Lacono et al., (1998); mencionan, que entre el injerto y el portainjerto, forman características en la planta en conjunto, que son el resultado de las características de cada uno. Por todo lo anterior, se seleccionaron los segregantes de 4 materiales de la raza mexicana (Aceitoso, Colecta 1, Tepetl y Duke-7), injertados con 'Hass' y sin injertar, para evaluar la concentración de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón bajo un tratamiento de frío de 14 días como posibles azúcares involucrados en la tolerancia a las bajas temperaturas.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo General

- Identificar la acumulación de azúcares solubles, (glucosa, fructosa y sacarosa) y almidón, en hojas jóvenes de brotes vegetativos en 4 portainjertos de aguacate de la raza mexicana y el efecto en la variedad 'Hass' injertada, bajo condiciones de estrés por frío.

2.2. Objetivos estratégicos

- Determinar la relación entre la tolerancia a bajas temperaturas y la acumulación de azúcares solubles en hojas jóvenes de los brotes vegetativos de los portainjertos de aguacate de la raza mexicana Aceitoso, Colecta 1, Tepetl y Duke-7.
- Comprobar la acumulación de azúcares solubles en las hojas jóvenes de los brotes vegetativos en la variedad 'Hass' injertada, considerando el contenido de azúcares solubles de los portainjertos.

2.3. Hipótesis

El incremento de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) y almidón en las hojas de brotes vegetativos de portainjertos de aguacate de la raza mexicana está relacionado a la tolerancia a bajas temperaturas como mecanismo de respuesta para disminuir los efectos del estrés por frío en la etapa de desarrollo vegetativo; incremento de azúcares solubles y almidón que a través del injerto comparte con la variedad 'Hass'.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Importancia del cultivo

El primer uso del aguacate fue como un alimento energético al ser consumido en fresco; Anderson (2003) escribió que el aguacate posiblemente fue uno de los principales alimentos básicos e importante fuente nutricional en los tiempos precolombinos. La fortaleza de México en el comercio de aguacates reside en su capacidad para producir esta fruta en todas las temporadas, su atención a la variedad de mayor calidad Hass y también su proximidad con los Estados Unidos de América, con un consumo per cápita de 3,6 kg en 2018; en la Unión Europea indican una disponibilidad media per cápita de aguacates de 1,4 kg en 2018, y sus principales mercados consumidores de aguacates, a saber, Francia y el Reino Unido, alcanzaron cifras estimadas de 1,7 kg y 1,5 kg per cápita, respectivamente. La demanda de aguacates se ha visto respaldada por los beneficios para la salud que se atribuyen a esta fruta y que están relacionados con su elevado valor nutricional. (FAO, 2020).

En México la producción nacional de aguacate en 2020 fue de 206 mil 466 toneladas (ton); 0.5% (1,026) mayor en relación con la obtenida en el mismo periodo del año previo (205,439). Siendo el estado de Michoacán, el que aporta 94.6% (195,366 ton) al total nacional. (SIAP, 2020).

3.2. Portainjertos de la raza mexicana

De acuerdo con Barrientos-Priego (2017), los portainjertos son una parte esencial de la unidad productiva y se les ha denominado “la mitad escondida”; esta aseveración es derivada de la poca importancia que se les da a las raíces; desde que se encontró que estos afectan al injerto han incrementado el objetivo de mejorar cada día más la producción y la resistencia a los problemas de raíz; estos han sido revisados por distintos investigadores a través del tiempo por sus atributos más importantes como son la resistencia a *Phytophthora cinnamomi*, la tolerancia a la salinidad, la adaptabilidad a suelos calcáreos, y que formen arboles pequeños con producciones altamente sustentables (Whiley, 1992). Con relación a lo anterior la producción de fruta de aguacate implica un proceso complejo que inicia desde la elección del portainjerto hasta la injertación de

cultivares comerciales; por tal motivo, reviste vital importancia la elección, ya que de él puede depender el éxito o fracaso de una plantación (Barrientos-Priego *et al.* 2000). Afirmando la influencia del portainjerto sobre la variedad Wllingham *et al.* (2006) y Coates *et al.* (2011) señalan que los portainjertos pueden influenciar significativamente la incidencia de antracnosis en la fruta; igualmente Mickelbart *et al.* (2007) constataron diferencias significativas en la absorción de nutrientes por efecto de distintos portainjertos clonales. Bergh y lahav, (1996), mencionan que la raza mexicana ha contribuido con genes que favorecen la maduración precoz y la tolerancia al frío, la cual, está estrechamente ligada a la zona de distribución natural de esta raza.

3.2.1. Portainjertos evaluados

3.2.1.1. Duke 7

Árboles de semilla del cultivar mexicano 'Duke' resistente al frío fue seleccionado por George Zentmeyer debido a su moderada resistencia a *P. cinnamomi*, en el campo; seleccionado en los años 50; es intolerante a la inundación del suelo y solo puede ser utilizado en suelos profundos (Zentmeyer, 1976); este portainjerto es productivo para 'Hass' por lo que su uso en la propagación de planta incrementó actualmente en México; además, de tolerar temperaturas promedio anual de 12.8°C (Wolstenholme, 2013).

3.2.1.2. Tepetl

Árbol de la raza mexicana ubicado en el banco de germoplasma de aguacate de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., en condiciones de clima subtropical a 2100m, con una temperatura anual que oscilan entre 10°C a 23°C, árbol de más de 50 años de establecido en la zona; aunque Andrade-Hoyos P. (2015) menciona que es susceptible a *Phytophthora cinnamomi*, es utilizado como portainjerto por su gran compatibilidad con 'Hass' y resistencia a bajas temperaturas causadas por heladas (menores a 0°C).

3.2.1.3. Aceitoso

Árbol de raza mexicana ubicado en el banco de germoplasma de aguacate de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., que desarrolla en condiciones de

clima subtropical a 2100m con una temperatura anual que oscilan entre 10°C a 23°C; árbol de porte mediano con una altura aproximada de 3.5m y menos de 30 años de vida, tiene frutos medianos de 150 a 180g de forma alargada que maduran en color negro y que su principal característica es su alto contenido de aceite, con buena compatibilidad con la variedad comercial 'Hass' y que soporta temperaturas menores a 0°C sin presentar ningún daño.

3.2.1.4. Colecta 1

Árbol de la raza mexicana; ubicado a más de 2500m en la comunidad de El ejido de Laguna Seca municipio de Villa Victoria en el Estado de México con un clima templado con temperaturas que oscilan entre 1°C a 23°C; capaz de resistir heladas típicas de la zona en la época invernal; árbol muy grande mayor a 20m de altura de más de 80 años de edad con frutos pequeños que maduran en color negro de forma alargada.

3.3. Variedad comercial 'Hass'

Cultivados principalmente en climas subtropicales son derivados de las razas guatemalteca y mexicana y poseen atributos fisiológicos especiales para tales regiones, especialmente en lo referente a su adaptación a la temperatura; actualmente el cultivar 'Hass' es el más importante del mundo, es cultivado principalmente en regiones con climas subtropicales; fue seleccionado por Rudolf Hass debido a la gran calidad de su pulpa; el árbol es de tamaño mediano a grande, con habito de crecimiento semi-erecto, casi tan alto como ancho. La floración de esta variedad es tipo A (apertura de la flor tipo femenino por la mañana del primer día y masculino por la tarde del segundo día), con frutos ovados de tamaño pequeño a mediano de 140 a 400g de peso respectivamente, con cascara coriácea y granulosa, de color verde oscuro cuando está en el árbol, pasando a un color negro púrpureo cuando madura; sin embargo, una de sus principales características es la capacidad de permanencia de la fruta en el árbol y mayor capacidad de almacenamiento y transporte en postcosecha que es mucho mayor a otras variedades (Crane *et al.*, 2013); teniendo como temperatura óptima, para una máxima asimilación neta de CO₂ de 20-30°C (Schaffer *et al.*, 2013).

3.4. Interacción portainjerto-injerto

El uso de portainjertos como medio de propagación de plantas de aguacate inicio por la gran variabilidad genética de las variedades comerciales propagadas por semilla y que causaba una gran demora para producir sin garantizar que los frutos fueran igual a los progenitores, mientras que la propagación vegetativa garantizaba la preservación de las características deseadas de la variedad comercial (Ernst *et al.*, 2013); por lo que, Lockard y Schneider, (1981) y Lacono *et al.*, (1998) mencionan la interacción que existe entre el injerto y el portainjerto y que las características adquiridas en la planta en conjunto son el resultado de diferente información genética de cada uno; la investigación y selección de posibles portainjertos comerciales se ha enfocado en la resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands, así como a la tolerancia a la salinidad, sequía, pH alcalino, mayor productividad y precocidad en la producción, calidad, tamaño de fruto y un efecto enanizante, y no a la resistencia al frío como posible interacción a la variedad. Ayala (2010) concluyó que la presencia de un injerto intermedio (interinjerto) modifica de manera significativa algunas características anatómicas de elementos del vaso de la vena central y del pecíolo de la hoja, así como algunos aspectos del intercambio de gases en la hoja. La presencia del interinjerto en ‘Hass’, ‘Fuerte’ y ‘Colín V-33’ tendió a incrementar la densidad de estomas y de células epidérmicas. El genotipo ‘Duke 7’ usado como interinjerto influyó en la mayoría de las características anatómicas de elementos de vaso de la vena central y el pecíolo de la hoja, así como en la tasa de asimilación de CO₂ y resistencia estomática (Andrade-Hoyos, 2015).

3.5. Temperatura de desarrollo de la planta de aguacate

Las plantas de aguacate desarrollan y presentan un crecimiento favorable en un intervalo óptimo de temperatura foliar de 20-30°C, en el cual, presentan una máxima asimilación neta de CO₂ (Lahav y Trochoulis, 1982); mientras que las temperaturas fuera de este rango reducen la capacidad de asimilación de CO₂ y una disminución de la fotosíntesis por encima de 30°C aproximadamente (Liut *et al.*, 2002); la reducción de la asimilación de CO₂ puede ser parcialmente causada por el aumento de la resistencia estomática y de la resistencia del mesófilo (Kimelmann, 1979; Schaffer *et al.*, 2013) reduciendo de esta forma el crecimiento normal de la planta; de igual forma, con temperaturas menores

a 10°C reduce significativamente el máximo rendimiento cuántico aparente de las hojas de 0.055 a 0.034 $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$ cuantos inhibiendo la fotosíntesis (Whiley *et al.*, 1990); las temperaturas mínimas a 8°C producen daños fisiológicos en las hojas después de una exposición prolongada, resultando signos visibles de fotooxidación de la clorofila (amarillamiento) (Whiley, 1994) Las razas ecológicas del aguacate difieren en su respuesta a la temperatura; la raza mexicana es considerada como la más tolerante al frío, mientras que la raza guatemalteca es descrita con tolerancia intermedia al frío y la raza antillana es la más susceptible al daño por frío (Webber, 1918; Schaffer *et al.*, 2013).

3.6. Azúcares solubles y almidón en las plantas

El ciclo de Calvin-Benson (Figura 1) comprende tres fases: la carboxilación de la molécula aceptora del CO_2 , la ribulosa 1,5 bisfosfato (RuBP), la ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) para dar lugar a dos moléculas de 3-fosfoglicerato (3PGA); la fase reductiva, en donde, el ATP generados en las reacciones luminosas de la fotosíntesis se utilizan en la reducción del 3PGA a triosas fosfato (TP); y la fase final, conocida como regenerativa, por isomerizaciones, condensaciones y reordenaciones, las TP se emplean para producir la molécula aceptora del CO_2 , la RuBP, (Figura 2), proceso que requiere también consumo de energía en forma de ATP, (Farquhar *et al.*, 2001; Heldt, 2005).

Los principales productos de la fotosíntesis en las hojas de la mayoría de las plantas superiores son el almidón y la sacarosa; durante el día, el carbono fotosintético fijado es retenido en el cloroplasto de las células mesofílicas de las hojas para proporcionar la energía para la síntesis del carbono transitorio o bien exportado al citosol en forma de TP; el traslocador triosa-fosfatos que se encuentra en el cloroplasto y la FBPasa citosólica son componentes clave en la biosíntesis de sacarosa en la fotosíntesis, la sobreexpresión simultanea de TPT y cyFBPasa dio como resultado mejor asimilación de CO_2 fotosintético y mayor concentración de azúcar soluble (sacarosa, glucosa y fructosa) en las hojas de *Arabidopsis thaliana* L. (Bahaji *et al.*, 2015).

La ruta metabólica general de la sacarosa es la que siguen las triosas fosfato que se producen en el cloroplasto a través del ciclo de Calvin y son transportadas al citosol a

partir de las cuales la fructosa-6fosfato es sintetizada, finalmente la sacarosa se sintetiza en el citosol para posteriormente cargarse en el floema de los tejidos de origen (hojas maduras) para el transporte a los tejidos de demanda (raíces, hojas en desarrollo y órganos de almacenamiento), donde se utiliza para la respiración y el crecimiento (Zeeman, *et al.*, 2007); la sacarosa proporciona la mayoría de la energía y el carbono necesario para el crecimiento de órganos no fotosintéticos y para el mantenimiento de la biosíntesis de almidón, fructanos y reservas de lípidos en semillas, tubérculos, tallos y frutos (MacRae y Lunn, 2012).

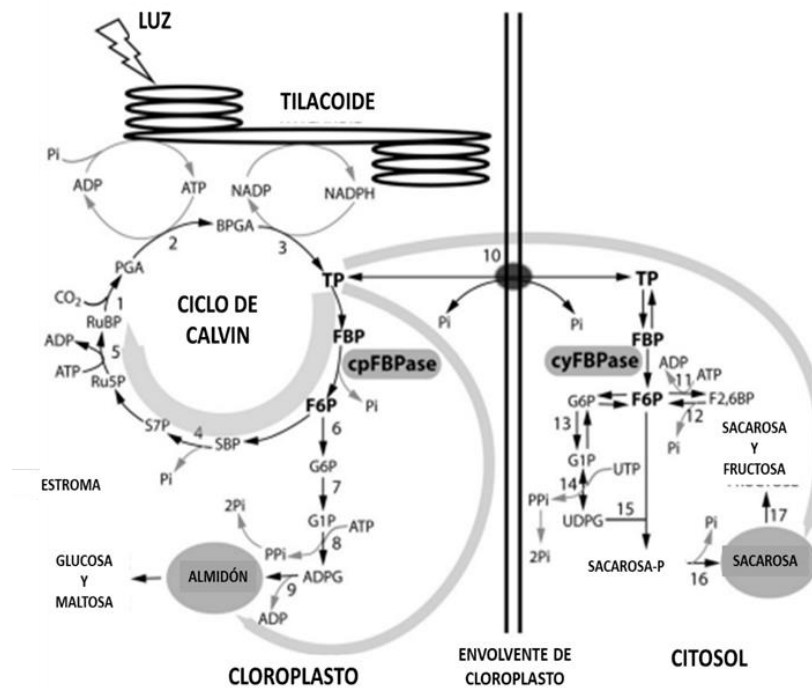


Figura 1. Modelo simplificado del ciclo reductor de las pentosas fosfato o ciclo de Calvin. Las triosas fosfatos (TP) pueden exportarse a él citosol para la síntesis de sacarosa o permanecer en el cloroplasto para la síntesis de almidón; sin embargo, la mayor parte de TP se usa para ribulosa-1,5- regeneración de bisfosfato (RuBP). La síntesis de sacarosa en el citosol depende de la importación de Pi por parte del cloroplasto. las reacciones son catalizada por enzimas numeradas como sigue: 1, Rubisco (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa); 2, PGA quinasa (3-fosfoglicerato quinasa); 3, NADP-G3P deshidrogenasa (NADP-gliceraldehído-3 fosfato deshidrogenasa); 4, SBPasa (sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa); 5, Ru5P quinasa (ribulosa-5-fosfato quinasa); 6, PGI (fosfoglucosa isomerasa); 7, cpPGMb (fosfoglucomutasa de cloroplasto); 8, AGPasa (ADP-glucosa pirofosforilasa); 9, SS (sacarosa sintasa); 10, TPT (triosa fosfatos transportador); 11, F6P-2-quinasa (fructosa-6-fosfato, 2-quinasa); 12, F2,6BPasa (fructosa-2,6-bisfosfatasa); 13, cyPGM (citosólica fosfoglucomutasa); 14, UGPasa (UDP-glucosa pirofosforilasa); 15, SPS (sacarosa fosfato sintasa); 16, SPPasa (sacarosa fosfato fosfatasa); 17, invertasa. (Serrato *et al.*, 2009).

Por su parte el almidón está formado por amilosa, un glucano predominantemente lineal con enlaces $\alpha(1-4)$, y por amilopectina, generalmente el más abundante de los dos polímeros, en el que entre los enlaces $\alpha(1-4)$ se intercalan enlaces $\alpha(1-6)$ que generan ramificaciones en la cadena de glucano (Comparot-Moss y Denyer, 2009), este poliglucano se acumula en tejidos fotosintéticos, más del 50% se retiene en los cloroplastos durante el día y durante la noche es movilizado para el apoyo del metabolismo y crecimiento no fotosintéticos (Baslam *et al.*, 2017); la síntesis de almidón tiene lugar en los plastidios de plantas superiores, en los cloroplastos en hojas y frutos verdes, el paso inicial en esta ruta biosintética es catalizado por la ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa), que utiliza la glucosa-1-fosfato (G1P) y el ATP generado fotoquímicamente para sintetizar la ADP-glucosa y pirofosfato inorgánico (PPi) La ADPglucosa generada actúa como el donador inmediato de glucósidos para las diferentes clases de almidón sintasas (SS) (Heldt, 2005).

Un tercer carbohidrato de reserva son los fructanos, principalmente acumulados en los cereales tales como el trigo y la cebada (Pollock and Cairns, 1991), estos constan de una molécula de sacarosa con fructosas adicionales unidas en las posiciones $\beta(2-1)$ y/o $\beta(2-6)$ (Gadegaard *et al.*, 2008); los fructanos sirven como polisacáridos y se almacenan predominantemente en la vacuola, estos pueden encontrarse en granos, tallo, hojas y raíces; dependiendo del estado de desarrollo de la planta y las condiciones ambientales, tales como la intensidad luminosa, la temperatura y la disponibilidad hídrica y nutricional (Morcuende *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2004; Morcuende *et al.*, 2005; Verspreet *et al.*, 2013).

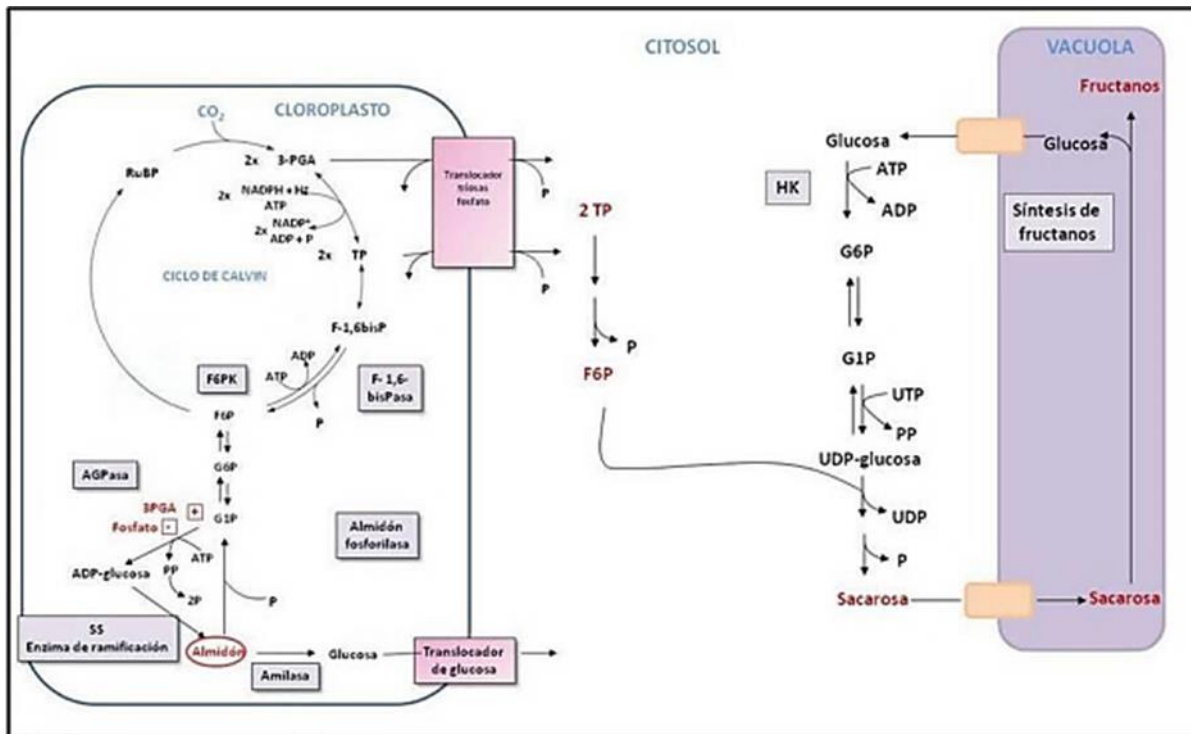


Figura 2. El producto de la fijación fotosintética del CO₂ son las triosas fosfato, de las cuales algunas pueden ser transportadas al citosol a través del traslocador de triosas fosfato para ser transformadas en sacarosa, o pueden ser convertidas en almidón en el cloroplasto; la sacarosa puede distribuirse al resto de la planta o servir de sustrato para la biosíntesis de fructanos en la vacuola (Heldt, 2005).

3.7. Estrés por frío

El estrés según Gaspar *et al.*, (2002) es cualquier factor ambiental desfavorable para el organismo vivo que se examina; y resistencia al estrés, es la capacidad del organismo para sobrevivir; revisando a Azcón-Bieto y Talón, (2008) mencionan que éstos pueden ser clasificados como bióticos y abióticos. Los bióticos son originados por la acción de otros seres vivos: animales, otras plantas (por competencia, alelopatía, etc.), microorganismos (bacterias y hongos), y otros agentes fitopatógenos (virus y viroides). Los abióticos pueden dividirse en físicos y químicos; y entre los factores físicos encontramos temperaturas extremas (calor, frío, congelación), déficit o exceso de agua, salinidad (en su componente osmótico) y radiación UV. La percepción de las señales en las plantas es el primer paso de la respuesta al estrés ambiental, pueden detectar cambios ambientales y transmitir, específicamente, la señal inicial del estrés por frío a puntos celulares (Gao *et al.*, 2008). La hipótesis más ampliamente aceptada es que la

reducción en la fluidez de la membrana causada por el estrés por frío, podría ser el evento primario de la percepción de frío que activaría los canales de calcio, (Shi *et al.*, 2015); siendo, las plantas capaces de medir la temperatura absoluta, la tasa de variación, y el tiempo de exposición a las temperaturas bajas (Knight y Knight, 2012); el estrés ocasionado por frío induce la acumulación momentánea de Ca^{+2} en el citoplasma, proveniente del espacio apoplástico o de la liberación de depósitos internos como los orgánulos celulares. Los canales responsables de la entrada de Ca^{+2} representan un tipo de sensor para la señalización del estrés. La liberación interna de Ca^{+2} es controlada por uniones de canales sensibles a Ca_2+ , los cuales funcionan como segundos mensajeros (Rodríguez *et al.*, 2005); por lo que, el calcio como molécula de señalización y los cambios de concentración en el citosol están implicados en las respuestas de las plantas a diversos estímulos (Rodríguez *et al.*, 2005); por ejemplo, la proteína cinasa 13 dependiente de calcio (CDPK13) y la proteína 1 que interactúa con calreticulina (CRTintP1) están involucradas en la respuesta al estrés por frío en el arroz (Komatsu *et al.*, 2007); basado en lo anterior Lambers, *et al.* (1998) citado por Montoliu (2010), definen tres fases de percepción del estrés por frío en las plantas; la fase de alarma, la de adaptación y la de aclimatación.

3.7.1. Fase de percepción

Es la fase de alarma que es el efecto inmediato cuando se presenta el estrés, ocurre en una escala de segundos a días; inicia con la reducción de la fluidez de la membrana (Figura 3), (Theocharis *et al.*, 2012), y un aumento de rigidez que desencadena señales para activar el canal de Ca^{+2} como molécula señalizadora (Shi *et al.*, 2015); la transducción de la señal produce cambios transitorios en los niveles de determinados iones (calcio) y moléculas (lípidos, especies reactivas de oxígeno, especies antioxidantes, óxido nítrico) que actúan como segundos mensajeros, amplificando la señal de estrés a través de la célula hasta inducir un cambio en una molécula efectora, como una quinasa o un factor de transcripción. Las hormonas también realizan una función importante en las rutas de transmisión intracelular de la señal de estrés; el ácido abscísico participa de forma activa en la señalización de muchas de las respuestas al estrés abiótico (Toumi *et al.*, 2010); cuando una planta, es inducida por frío,

(considerando como tal una temperatura inferior a la óptima, pero que no produce congelación) se desencadena, en la célula, una compleja cascada de eventos fisiológicos (Fedoroff *et al.*, 2010).

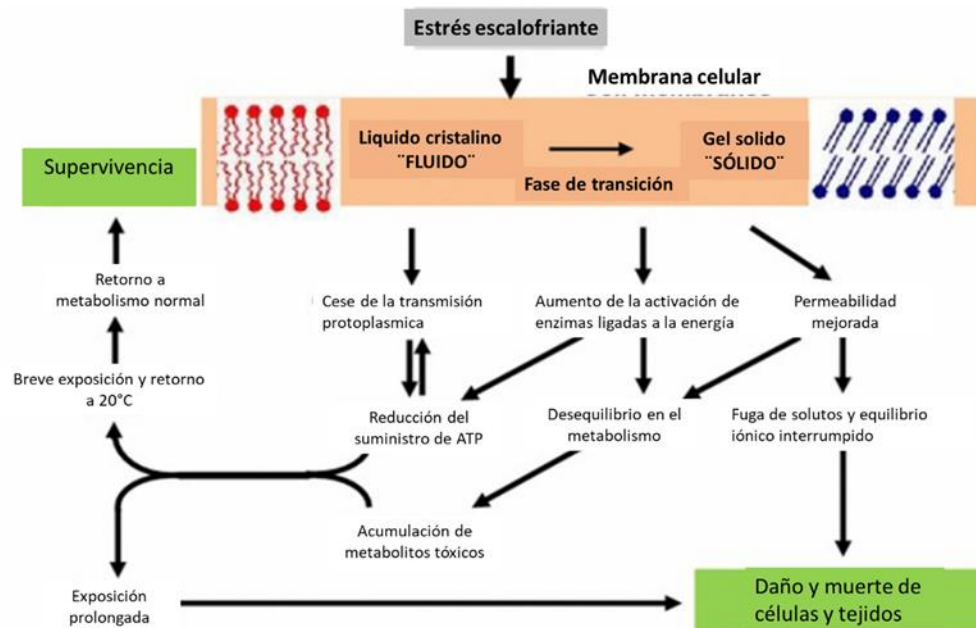


Figura 3. Transición de fase de la membrana celular (Theocharis, *et al.*, 2012).

3.7.2. Fase de aclimatación

La fase de aclimatación es un ajuste morfológico y fisiológico que realiza la planta como individuo para compensar su funcionamiento después de la exposición al estrés por frío, esta ocurre en una escala de días a semanas (Lambers, *et al.* 1998; Montoliu, 2010); a nivel genético, este proceso de aclimatación produce una extensa remodelación del transcriptoma; entre el 4% y el 12% del transcriptoma sufre alteraciones tras horas, días o semanas de exposición a temperaturas bajas (Hannah *et al.*, 2006). La activación de los mecanismos defensivos o de respuesta da lugar a reajustes del metabolismo celular para adaptarse a las nuevas condiciones, a la activación de los procesos de reparación de la maquinaria celular dañada y a la expresión de las adaptaciones morfológicas; por ejemplo, en *Arabidopsis thaliana*, en un inicio a 4°C; la ATP sintasa mitocondrial de la planta se inhibe diferencialmente en comparación con otros elementos de la vía respiratoria, lo que conduce a una disminución de las proporciones de ADP: oxígeno y

una limitación a la tasa de síntesis de ATP (Kerbler, *et al.* 2018); en muchas especies de plantas superiores una compensación de las reducciones en la actividad metabólica en el frío, es regular su tasa de respiración. Este ajuste compensatorio en la actividad fisiológica se conoce como aclimatación respiratoria (Billings *et al.*, 1971; Collier, 1996; Atkin *et al.*, 2000; Xiong *et al.*, 2000; Bolstad *et al.*, 2003; Talts *et al.*, 2004, Kerbler, *et al.* 2018).

3.7.3. Fase de adaptación

Como respuesta evolutiva que resulta de cambios genéticos en las poblaciones esta adaptación, conduciendo a una compensación morfológica y fisiológica que ocurre en una escala temporal mucho mayor que la aclimatación, y tras muchas generaciones. Por ejemplo, las plantas originarias de zonas templadas muestran un grado variable de tolerancia al frío, y pueden aumentar su tolerancia a la congelación mediante su exposición a temperaturas bajas por encima de 0°C (proceso de aclimatación); sin embargo, las plantas originarias de áreas tropicales y subtropicales, son sensibles al frío y carecen del mecanismo de aclimatación (Miura y Furumoto, 2013); por ejemplo, en trigo (*Triticum spp.*) que es una planta originaria de zonas templadas, muestra mayor cantidad de azúcares en invierno con niveles aumentados de las enzimas sacarosa-fosfato-sintasa y sacarosa-sintasa considerada como una proteína de la aclimatación al frío (Chanta, *et al.*, 2015). Para el caso del aguacate la ocurrencia de flujos vegetativos en distintas épocas podría interpretarse como una característica de adaptación principalmente del aguacate 'Hass'. Esto se debe a la fluctuación anual de carbohidratos en las áreas de desarrollo (vegetativo, floral, productivo) (Wolstenholme *et al.*, 1990; Whiley, 1990).

3.8. Respuestas estructurales y bioquímicas de las plantas

Durante el proceso de respuesta y aclimatación a bajas temperaturas se produce una extensa remodelación del transcriptoma. Estudios transcriptómicos en *Arabidopsis thaliana* L. han puesto de manifiesto que, en respuesta a frío, puede verse modificada la expresión de hasta 10,000 genes. Entre el 4% y el 12% del transcriptoma sufre alteraciones tras horas, días o semanas de exposición a temperaturas bajas (Hannah *et*

al., 2005); el efecto de las bajas temperaturas en las plantas superiores incluyen cambios en la bioquímica y biofísica de las membranas, en la síntesis proteica, modificaciones conformacionales en enzimas, en la ultraestructura de mitocondrias y cloroplastos (Kratsch y Wise, 2000); estos cambios ultraestructurales implican, entre otros, un hinchamiento de los cloroplastos y las mitocondrias, una deformación de los tilacoides, una reducción en el tamaño y número de granos de almidón, y la formación de pequeñas vesículas en la membrana de los cloroplastos (Kratsch y Wise, 2000); estos gránulos representa un almacenaje transitorio de carbono, que se moviliza durante la noche para mantener la respiración, la exportación de sacarosa y el crecimiento en la oscuridad (Scofield *et al.*, 2009); en *Arabidopsis thaliana* L., la sacarosa es una forma de almacenaje de carbono que a menudo se acumula en plantas expuestas al frío (Méndez *et al.*, 2011); los carbohidratos actúan como nutrientes y moléculas señalizadoras, están involucrados en la respuesta al estrés abiótico; por ejemplo, los fructanos están involucrados en la resistencia al frío y a la sequía (Vijn y Smeekens, 1999; Pérez *et al.*, 2001; Méndez *et al.*, 2011); los fructanos son polímeros de fructosa derivados de sacarosa, sintetizados por fructosiltransferasas (Pollock and Cairns, 1991; Méndez *et al.*, 2011); en el caso de arroz (*Oryza sativa*), la sobreexpresión de trehalosa, que es un disacárido no reductor formado por dos moléculas de glucosa (α -D-glucopiranosil-(1,1)- α -D-glucopiranósido), aumenta la tolerancia al frío (Jang *et al.*, 2003).

3.9. Intensidad lumínica y baja temperatura en las plantas

Las bajas temperaturas en presencia de luz (*'light chilling'*) pueden afectar severamente todos los componentes del aparato fotosintético, incluyendo el transporte electrónico tilacoidal, el ciclo reductor del carbono y el control de la conductancia estomática (Allen y Ort, 2001); la combinación de bajas temperaturas y altas radiaciones lumínicas produce la llamada *fotoinhibición* que es un daño en el PSII (Osmond, 1994); las bajas temperaturas reducen las tasas de las reacciones metabólicas y limitan los destinos (fijación de CO₂ y la fotorespiración) para la energía de excitación absorbida aumentando el potencial de daño al PSII, en particular la proteína D1 del centro de reacción (Nishida y Murata, 1996); para una adecuada adaptación a las bajas temperaturas; las plantas realizan diversas estrategias, una de ellas es el aumento en la regeneración de RuBP,

mejorando el flujo de electrones a través del ciclo de Calvin-Benson y la capacidad fotosintética (Dahal *et al.*, 2012), otra es la extinción no fotoquímica y la desactivación térmica del exceso de energía luminosa que se produce dentro del centro de reacción del PSII (extinción del centro de reacción) (Ivanov, *et al.*, 2008); por lo que, a baja temperatura se produce un desequilibrio entre la capacidad de captar energía luminosa y la capacidad de consumir esta energía en la actividad metabólica de las hojas, y la inhibición de la capacidad fotosintética (Oquist y Huner, 2003); proceso de fotoinhibición que causan la destrucción del aparato fotosintético y daño de células completas consideradas como segundo mensajero (Tyystjarvi, 2013); sin embargo, para que las plantas puedan fijar el carbono, el hidrogeno y el oxígeno inorgánico, y formar un compuesto bioquímico como la glucosa se necesita energía en forma de calorías, con el mecanismo de la fotosíntesis mediante el cual con 48 fotones es capaz de obtener la energía suficiente para producir una molécula de glucosa y liberar oxígeno (O₂) a la atmosfera (Almeraya y Sánchez, 2015). Para cuantificar las respuestas fotosintéticas a la intensidad de la luz, la irradiación se expresa como flujo fotónico fotosintético (PPF) y se mide en $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$. El aguacate en su habitat natural crece como especie de sotobosque en la selva lluviosa (Whiley y Schaffer, 1994); por lo que el punto de saturación reportado para las hojas de aguacateros cultivados en recipientes es generalmente bajo, aproximadamente $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (cerca del 25% del valor medido a pleno sol) menciona Mickelbart y Arpaia (2002), mientras que el punto de compensación lumínica con valores menores de $200 \text{ a } 120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ reflejan las condiciones ambientales en las cuales evoluciono el aguacate (Whiley y Schaffer, 1994).

3.10. Contenido de clorofila a

El estado nutricional de una planta de cultivo puede evaluarse a través del contenido de clorofila a de sus hojas (CCI), existiendo una relación entre la intensidad del verdor y la concentración de nitrógeno (N) en hoja; pues el nitrógeno es participe de la constitución de la molécula de clorofila a (Taiz y Zeiger, 2004); para el caso de las plantas de aguacate *Persea americana* Mill. Whiley y Schaffer (1994), mencionan que el punto de compensación lumínica en su desarrollo de árboles de aguacate registró valores de $10 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, considerando que su origen de las plantas es como una especie de

sotobosque; por lo que, las hojas de la planta de aguacate se vuelven productoras de carbono de 20 a 24 días después de la brotación y alcanza la máxima asimilación neta de CO₂ y contenido de clorofila a entre 40 y 70 días (Liu *et al.*, 2002); por ejemplo en una plantación de maíz, valores inferiores a 35.3 (1,83% de N en hoja) son considerados críticos para este elemento, mientras que superiores a 50 unidades, se les considera adecuados (Martínez-Álvarez *et al.*, 2020).

3.11. Almidón

El almidón es el principal carbohidrato de almacenaje en plantas superiores, se deposita en gránulos en los cloroplastos de los tejidos fotosintéticos y representa un almacenaje transitorio de carbono, que se moviliza durante la noche para mantener la respiración, la exportación de sacarosa y el crecimiento en la oscuridad (Scofield *et al.*, 2009); por lo que, el almidón se ha identificado como el principal integrador en la regulación del crecimiento de las plantas frente a cambios en la disponibilidad de carbono (Sulpice *et al.*, 2009); es un polímero insoluble de glucosa formado por amilosa, un glucano predominantemente lineal con enlaces $\alpha(1-4)$, y por amilopectina, generalmente el más abundante de los dos polímeros, en el que entre los enlaces $\alpha(1-4)$ se intercalan enlaces $\alpha(1-6)$ que generan ramificaciones en la cadena de glucano (Comparot-Moss y Denyer, 2009); la síntesis de almidón tiene lugar en los plastidios de plantas superiores, concretamente, en los cloroplastos en hojas y frutos verdes (Heldt, 2005); esta ruta biosintética inicia por la catalización de la ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa), que utiliza la glucosa 1 fosfato (G1P) y el ATP generado fotoquímicamente para sintetizar la ADP-glucosa y pirofosfato inorgánico (PPI) (Figura 4). Pearce (2001) y Gallino *et al.*, (2007) mencionan que durante el proceso de endurecimiento al frío existe una transformación de almidón en azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa), una interconversión (Poirier *et al.* 2010); el almidón no aumenta en sí mismo la resistencia al frío debido a que es osmóticamente inerte (Keller, 2010), pero sí participa de manera indirecta.

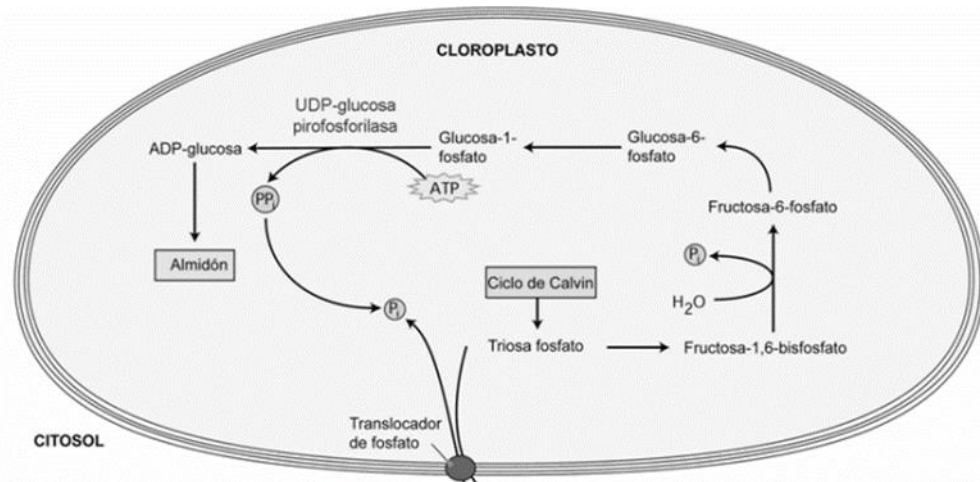


Figura 4. Síntesis de almidón en cloroplasto (Taiz y Zeiger, 2004).

3.12. Sacarosa

La sacarosa es un disacárido formado por glucosa y fructosa. Su síntesis tiene lugar fundamentalmente en el citosol de las células del mesófilo de las hojas (Koroleva et al., 1998) a partir de las triosas fosfato exportadas desde el cloroplasto, las cuales se emplean en la síntesis de fructosa-1,6-bisfosfato, que una vez hidrolizada por la fructosa-1,6-bisfosfatasa (F-1,6-bisPasa) produce fructosa-6-fosfato, la molécula aceptora para la reacción catalizada por la sacarosa fosfato sintasa (SPS). La coordinación de la síntesis de sacarosa en el citosol (Figura 5); con la fijación fotosintética del CO₂ y la síntesis de almidón en el cloroplasto involucra cambios en las concentraciones de varios metabolitos en el estroma y el citosol, como las triosas fosfato, hexosas fosfato y fosfato inorgánico, los cuales modulan las actividades de los enzimas claves en el control de esta ruta biosintética, la F-1,6-bisPasa y la SPS regulan el flujo de fotoasimilados en sacarosa (Stitt et al., 1987); ICE1 en la respuesta al frío, en la sobreexpresión de *Arabidopsis*, mejora la tolerancia y aumenta la acumulación de azúcares solubles (glucosa, sacarosa y fructosa) y prolina (Liu et al., 2010).

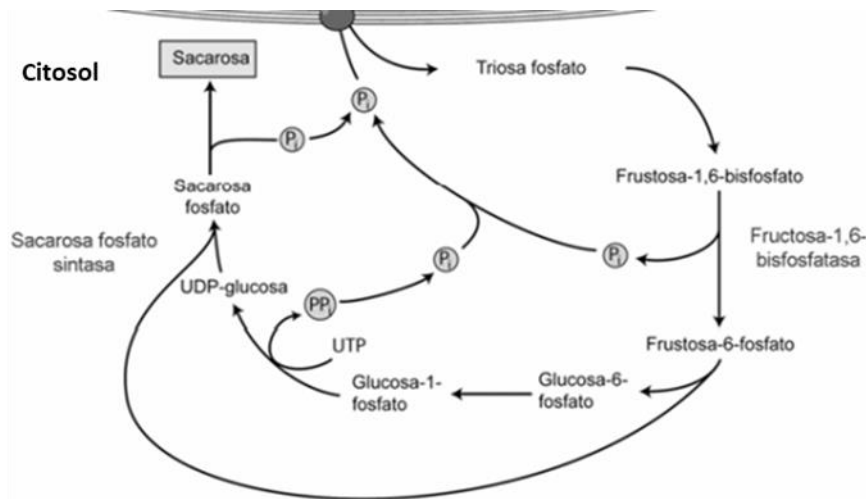


Figura 5. Síntesis de sacarosa en el citosol (Taiz y Zeiger, 2004).

3.13. Fructosa y fructanos

La fructosa es uno de los principales carbohidratos de importancia biológica; está constituida por seis átomos de carbono con fórmula química $C_6H_{12}O_6$; el contenido de fructosa en las hojas está relacionado con la reserva de carbono de las plantas superiores bajo condiciones estresantes por frío; estos carbohidratos están asociados con la tolerancia a diferentes tipos de estrés, actuando como osmoprotectores ante condiciones ambientales adversas por calor, frío, o estrés hídrico (Marschall *et al.*, 2019); mientras que, los fructanos son polímeros de fructosa derivados de la sacarosa sintetizados a partir de la sacarosa por las fructosiltransferasas; los fructanos de diferentes fuentes exhiben diferentes grados de polimerización y diferentes enlaces entre residuos de fructosa adyacentes. Pueden acumularse como carbohidratos de reserva a corto o largo plazo en órganos heterótrofos como las raíces, tallos y granos o en órganos autótrofos como hojas (Pollock y Cairns, 1991); estos actúan como moléculas nutritivas y de señalización, modulando la expresión de una gran cantidad de genes (Osuna *et al.*, 2007) y también están involucrados en la respuesta a los estreses abióticos. Se cree ampliamente que los fructanos están involucrados en la resistencia al frío y la sequía (Vijn y Smeekens, 1999 y Pérez *et al.*, 2001); y recientemente, se ha sugerido que podrían contrarrestar el estrés oxidativo (Peshev *et al.*, 2013).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Establecimiento de plantas de aguacate

Esta investigación inicio en el 2020 con el establecimiento de las semillas de los materiales de aguacate seleccionados, en las instalaciones de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., en el municipio de Coatepec Harinas, Estado de México a 2,100m de altura; posteriormente las plantas en desarrollo fueron trasladadas para acelerar su crecimiento al municipio de Malinalco Estado de México a 2,154m de altura, en donde se realizó la injertación con varetas de 'Hass' y finalmente en el año 2021 se concluyó el experimento en dos cámaras frigoríficas del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. De México, ubicado a 2,250 m de altura.

4.2. Materiales de campo

Para la elaboración en campo de este experimento se sembraron en almacigo 50 semillas de Aceitoso, 50 semillas de Colecta 1, 50 semillas de Tepetl y 50 semillas de Duke 7; posterior a su desarrollo, las plantas se establecieron en contenedores plásticos de 15 cm x 45 cm con capacidad de 5L y se seleccionaron 20 plantas de cada material, 10 de ellas para ser injertadas con la variedad 'Hass' y las otras 10 para su desarrollo normal sin injertar. Para las cámaras de refrigeración, la cámara 1 considerada el tratamiento con frío conservó una temperatura promedio de 15.61°C, con una intensidad lumínica de 380 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, y una temperatura promedio en la oscuridad de 4.40°C y la cámara 2 considerada el testigo conservó una temperatura promedio de 23.20°C, con una intensidad lumínica de 367 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, y una temperatura promedio en oscuridad de 19.29°C.

4.3. Etapa 1 Campo

4.3.1. Cosecha

La cosecha de frutos inicio con el material Colecta 1 en el ejido de Laguna Seca del municipio de Villa Victoria en el Estado de México, posteriormente se cosecharon los materiales que se encuentran en la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C.

en el municipio de Coatepec Harinas en el Estado de México, con los frutos de Tepetl, Aceitoso y Duke 7, Cuadro 1.

Cuadro 1. Fecha y numero de frutos cosechados por portainjerto seleccionado

Portainjerto	Fecha de cosecha	Frutos cosechados
Colecta 1	27/08/2020	50
Tepetl	07/09/2020	50
Aceitoso	09/10/2020	50
Duke 7	09/10/2020	50

4.3.2. Despulpe de fruta

Una de las actividades realizadas después de la cosecha de frutos, es el despulpe; este proceso ocupo que el fruto madurara y presentara la pulpa suave para poder liberar la semilla; posteriormente se dejó la semilla secar para su manipulación.

4.3.3. Registro e identificación de semillas

Una vez realizado el despulpe y lavado de la semilla se dejó a temperatura ambiente por un lapso de 8 a 15 días para su escarificación; se pesaron y registraron con un numero de acuerdo al material.

4.3.4. Siembra en almacigo

Cada uno de los materiales (portainjertos) plenamente identificados y desinfectados con, 1ml de propamocarb clorhidrato por 1lt de agua, fueron plantados en almacigo, sustrato (mezcla de peat moss 50% y agrolita 50%) se les realizo un corte denominado “corte de candado”. Debido a las distintas fechas de maduración de los frutos, se realizaron tres siembras en almacigo, de agosto a octubre del 2020, (Cuadro 2).

Cuadro 2. Fechas de siembra de semillas en almacigo

Portainjerto	Fecha de siembra	Cantidad semilla
Colecta 1	27/agosto/2020	60
Tepetl	7/septiembre/2020	50
Aceitoso	9/octubre/2020	51
Duke 7	10/octubre/2020	140

4.3.5. Germinación

La germinación de los materiales se dio a partir del mes de septiembre del 2020 iniciando con plantas de Colecta 1 y Tepetl; posteriormente Aceitoso y Duke 7 a finales de octubre del mismo año, (Figura 6).



Figura 6. Germinación de plantas de aguacate (Portainjertos).

4.3.6. Trasplante

La actividad de trasplante (Figura 7) se realizó en el mes de noviembre del 2020, y de las semillas establecidas en almacigo se seleccionaron las mejores plantas buscando homogenizar el número de repeticiones por portainjerto, (Cuadro 3).



Figura 7. Trasplante a bolsa de los portainjertos de aguacate

Cuadro 3. Selección de planta para trasplante

Portainjerto	Fecha de trasplante	Plantas seleccionadas	Plantas vivas
Tepetl	Nov/2020	49	49
Aceitoso	Nov/2020	48	48
Colecta 1	Nov/2020	47	47
Duke 7	Nov/2020	130	130

4.3.7. Mantenimiento y desarrollo de planta de aguacate

El desarrollo vegetativo de los portainjertos se basó principalmente en sus cuidados y mantenimiento; aplicación de 3 riegos por semana, fertilización con la mezcla de fosfato diamónico (18-46-00) y urea perlada (46-00-00) en una relación (1:1), aplicando 10g por árbol una vez al mes.

4.3.8. Injertación

Esta actividad se inició con la selección de portainjertos con un diámetro mayor a 2cm y se le colocó la vareta (brote vegetativo-vareta) de la variedad comercial 'Hass'; como el experimento está enfocado al efecto del portainjerto sobre la variedad se injertaron 30 plantas por material y se dejaron portainjertos sin injertar para su comparación en los tratamientos de temperatura.

4.3.9. Desarrollo de injertos y selección de planta

Durante este proceso se consideró que el prendimiento del injerto fuera exitoso para las plantas injertadas con 'Hass' para lo cual se ocuparon cubiertas plásticas (Figura 8); y evitar su deshidratación prematura; se consideró que por lo menos desarrollara aproximadamente 10cm de altura a partir de la unión con el portainjerto; de igual forma para la selección de las plantas injertadas y no injertadas se tomó en cuenta la presencia y desarrollo de 3 o 4 hojas sanas de los brotes vegetativas, menores a 20 días después de su brotación, para asegurar que fueran hojas no fotosintéticas.



Figura 8. Prendimiento del injerto de la variedad 'Hass'.

Posteriormente se enfocó en su desarrollo de brotes, y la selección de estos considerando la presencia de hojas jóvenes demandantes de nutrientes; se

seleccionaron 10 plantas injertadas y 10 plantas sin injertar (portainjertos) por cada material (Figura 9).

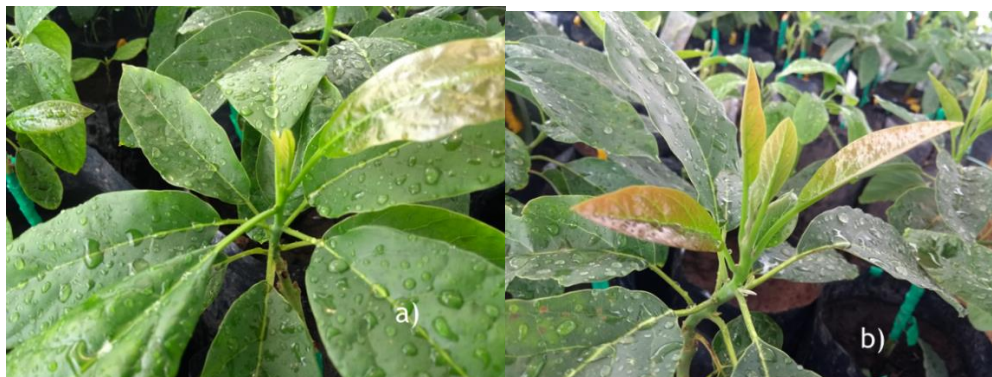


Figura 9. Brotes vegetativos en desarrollo, a) hojas de brote de portainjerto y b) hojas de brote del injerto 'Hass'.

4.4. Etapa 2 laboratorio

4.4.1. Traslado

Después de la selección de 10 plantas de los cuatro materiales, (injertadas y no injertadas), completando un total de 80 plantas, se trasladaron de Malinalco, Estado de México a las cámaras frigoríficas del Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, Estado de México, en un vehículo Nissan NV350 tipo van del Colegio de Postgraduados, completamente cerrado para evitar daños de traslado.

4.4.2. Establecimiento de la planta en cámaras frigoríficas

Las cámaras de frío se programaron un día antes del establecimiento de la planta y se enumeraron de la siguiente manera: cámara 1 con un rango de temperatura de acuerdo al tablero de control de 3°C como mínima y 5°C como máxima, esta temperatura se mantuvo durante 12hrs con la luz y las siguientes 12hrs; cámara 2 con el tablero de control apagado se dejó a temperatura ambiente y se colocó un calentador de aceite buscando aumentar la temperatura con un rango que oscilaba entre los 15°C y los 25°C durante 12hrs con luz y las siguiente 12hrs en oscuridad; se colocó en cada cámara un dataloggers marca Hobo pendant modelo UA-002-08 de temperatura/luz, para el registro continuo de datos; estos se programaron iniciar el 25 de mayo a partir de las 13:00hrs con una frecuencia de registro cada 10min. Se monitoreo el contenido de humedad del

suelo de las bolsas con ayuda de un tensiómetro IRROMETER reg. U.S. PAT. OFF Moisture Indicator de 6" de 15cm, donde se mantuvo un rango de humedad de 10 a 30 centibares (kPa).

4.4.3. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado de acuerdo a las características del experimento es el de Parcelas Divididas (Figura 10) en donde se seleccionaron dos parcelas grandes que incluyen el factor A que determina la temperatura con la utilización de las cámaras frigoríficas; en donde, la cámara 1 considerada fría, conservo una temperatura promedio con luz de 15.61°C, con una intensidad lumínica de 380 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, y una temperatura promedio en la oscuridad de 4.40°C; mientras que, la cámara 2 considerada el testigo conservo una temperatura promedio con luz de 23.20°C, con una intensidad lumínica de 367 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, y una temperatura promedio en oscuridad de 19.29°C; dos parcelas chicas, factor B, que incluye los materiales de aguacate injertados con la variedad 'Hass' y los no injertados; y el factor C, que incluye los 4 materiales de aguacate utilizados (Aceitoso, Colecta 1, Tepetl y Duke 7). Considerando el diseño experimental antes mencionado, se compararon las medias con la prueba de Tukey en el programa SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

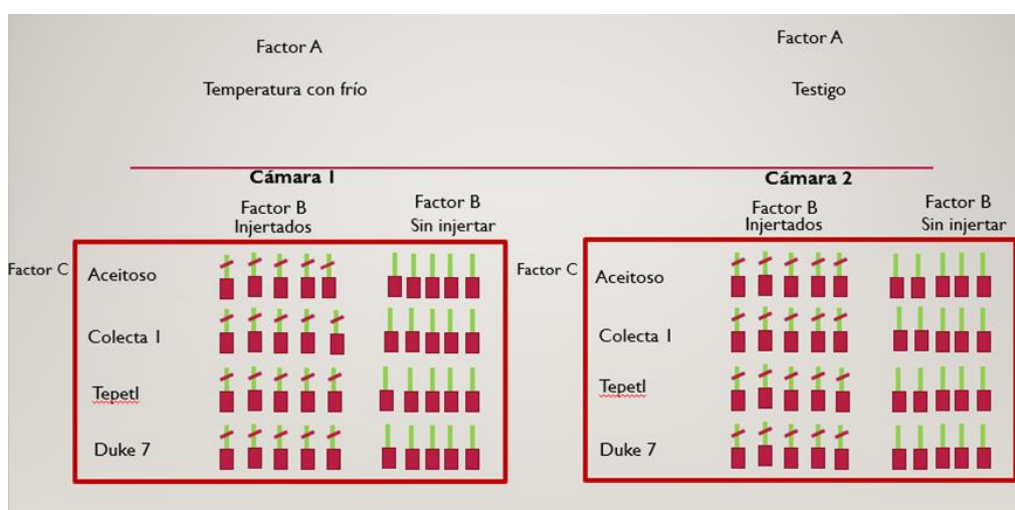


Figura 10. Diseño experimental de Parcelas divididas utilizado para la colocación de materiales de aguacate.

4.4.4. Variable respuesta

Se considero variable respuesta la altura de las plantas, contenido de clorofila (datos SPAD), contenido de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) y contenido de almidón, de los materiales Aceitoso, Colecta 1, Tepetl y Duke 7 sin injertar e injertados con la variedad 'Hass'.

4.4.4.1. Medición de altura de plantas

Posterior a colocar 40 plantas de aguacate en cada cámara, esta se midió para el registro del desarrollo vegetativo con ayuda de una regla se registró en centímetros la altura al inicio del experimento y al final 14 días después.

4.4.4.2. Toma de datos SPAD

Con ayuda de un medidor de clorofila SPAD-502Plus, se determinó el verdor de las hojas relacionado con el contenido de clorofila, el cual es un factor importante para la comprensión del contenido de nitrógeno (N) de la planta; las medidas se tomaron en cada una de las cámaras, sin necesidad de cortar muestras vegetativas, y se consigue simplemente proyectando la luz del medidor a través de las hojas seleccionadas.

4.4.4.3. Preparación de muestras

El muestreo se realizó con hojas jóvenes de los brotes vegetativos de las plantas de aguacate que aun demandan nutrientes, menores a 20 días después de la brotación (Liu *et al.*, 2002); de los cuales se cortaron las hojas en tres ocasiones; el primero a las 24h de tratamiento, el segundo a los 7 días y el tercero a los 14 días; guardando la muestra en un sobre de aluminio a una temperatura de -20°C. Posteriormente se registró el peso fresco de cada muestra con ayuda de una balanza analítica electrónica SCIENTECH SA 120 con una precisión de lectura de 0.1mg; las muestras se molieron directamente en tubos eppendorf de 1.5ml con 500µl de etanol al 80%, para después centrifugarse a 10,000rpm durante 10min en una centrifuga DLAB D3024 con capacidad de 24 tubos eppendorf, y se extrajo el sobrenadante que se colocó por separado y se calentó a baño maría durante 1hr a 80°C.

4.4.4.4. Determinación de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa)

El principio de medición consiste en acoplar enzimáticamente la reacción de hexoquinasa con la reacción de glucosa-6-P-deshidrogenasa (G6PDH) y medir la absorbancia a 340 nm frente a 405 nm (microplaca). Para lo cual se preparó una mezcla de reacción tampón, colocando 200µl en cada pozo de la microplaca y 2.5 µl de muestra, incluyendo los utilizados para la curva patrón.

4.4.4.4.1. Lectura de contenidos de azúcares

Posterior a la aplicación de la mezcla de reacción y 2.5 µl de muestra en cada pozo de la microplaca, se aplicaron 10 µl de cada enzima a cada pozo; previamente disueltas de forma independiente en 1.5 ml de mezcla de reacción (Cuadro 4), para finalmente dar lectura con ayuda de un multiskan FC Thermo scientific.

Cuadro 4. Proceso para lectura de azúcares

	Enzima	Cantidad	Tiempo de incubación	Temperatura
Lectura 1	Hexoquinasa	10 µl	Directo	ambiente
Lectura 2	G6PDH	10 µl	40min	35°C
Lectura 3	PGI	10 µl	40min	35°C
Lectura 4	Invertasa	10 µl	40min	35°C

4.4.4.5. Determinación de Almidón

Se sacaron las muestras de refrigeración y se les agrego 1ml de dimethyl sulfoxide (DMSO) y se homogenizo cada una con ayuda de un vortex (Analog vortex Mixer) durante 30s y se sellaron los tubos eppendorf con cinta para posteriormente colocarlos a baño maría durante 30min a punto de ebullición; nuevamente se homogenizaron las muestras y se extrajo el sobrenadante para colocarse en dos tubos eppendorf de 2ml colocando 100µl en cada uno, y se les agrego 450µl con y sin enzima. Las muestras de 100µl con enzima y sin enzima se prepararon a las 5:00pm y se dejaron durante la noche a 55°C, al día siguiente las muestras se sacaron de la estufa y se dejaron enfriar a temperatura ambiente para posteriormente centrifugar a 7,000rpm durante 5min; de los tubos eppendorf de 2ml plenamente identificados se extrajeron 10µl de muestra y se

colocaron en los pozos de las microplacas, para agregar 200 μ l de mezcla de reacción y continuar con el siguiente proceso (Cuadro 5).

Cuadro 5. Proceso para lectura de almidón

	Enzima	Cantidad	Tiempo de incubación	Temperatura
Lectura 1	Hexoquinasa	10 μ l	Directo	ambiente
Lectura 2	Deshidrogenasa	10 μ l	35min	35°C

4.4.5. Análisis estadístico

Se utilizó un análisis estadístico de parcelas divididas (PD) para cada una de las variables respuesta obtenidas de cada material, comparando los resultados obtenidos en la cámara 1 (tratamiento) con los de la cámara 2 (testigo), realizando la comprobación de supuestos de normalidad, homogeneidad e independencia, y la prueba de comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) con el programa SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Cámaras de ambiente controlado

5.1.1. Registro de temperaturas

El registro de temperatura se obtuvo con ayuda de los dataloggers; en la cámara 2, considerada como testigo se conservó una temperatura promedio con luz de 23.20°C y una temperatura promedio en oscuridad de 19.29°C, con una temperatura promedio general de 21.24°C (Figura 11), coincidiendo con Praloran (1970) que menciona que las necesidades de desarrollo de la planta de aguacate en altitudes mayores a los 1500m en un clima clasificado como subtropical considera un promedio de temperatura de 21.3°C; por lo que las condiciones de la cámara 2 (testigo) se consideraron adecuadas para el desarrollo de la planta de aguacate aunque los efectos de la temperatura sobre el crecimiento difieren ligeramente entre los cultivares, por ejemplo, el crecimiento y la acumulación de materia seca en 'Hass' alcanzaron su máximo cuando la temperatura se mantuvo entre 21°C y 33°C durante el día y 14°C y 26°C durante la noche (Lahav y Trochoulis, 1982).

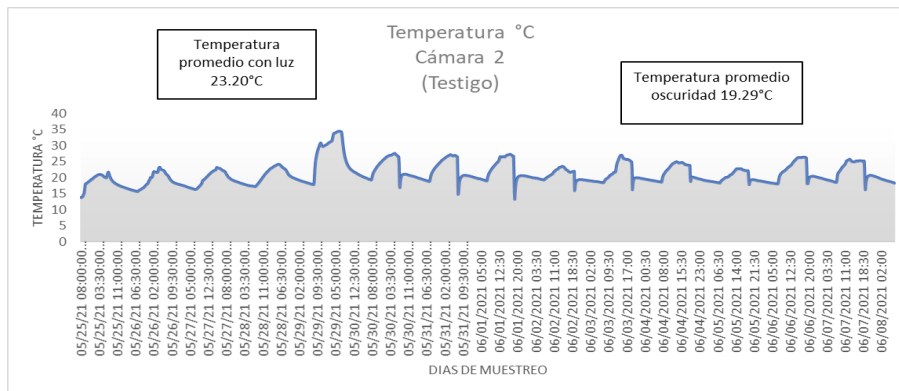


Figura 11. Registro de temperatura del dataloggers de la cámara 2 (testigo).

Para el caso del tratamiento con frío con el objetivo de provocar un estrés inmediato en las plantas, en la cámara 1 se mantuvo una temperatura promedio de 4.47°C de forma continua durante las primeras 24h; de acuerdo con, Montoliu (2010) quien menciona que existe una fase de percepción (alarma), que es el efecto inmediato cuando se presenta el estrés por frío, ocurriendo en una escala de segundos a días; por lo que, las 24h de

frio continuo se realizaron para activar esta fase de percepción de las plantas de aguacate; los siguientes días de tratamiento se conservó en el interior de la cámara 1 una temperatura promedio con luz de 15.61°C y una temperatura promedio en la oscuridad de 4.40°C, con una temperatura promedio general de 8.16°C (Figura 12); resultando, para el aguacate un ambiente frío al considerarse una planta originaria de áreas tropicales y subtropicales, ya que, estas son sensibles al frío y carecen del mecanismo de aclimatación (Miura y Furumoto, 2013); para el aguacate las temperaturas menores a 10°C reducen significativamente el máximo rendimiento cuántico aparente de las hojas de 0.055 a 0.034 $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$ cuantos (whiley, 1994); por lo que, las condiciones de temperatura de la cámara 1 se consideran un factor limitante en el desarrollo vegetativo de las plantas de aguacate.

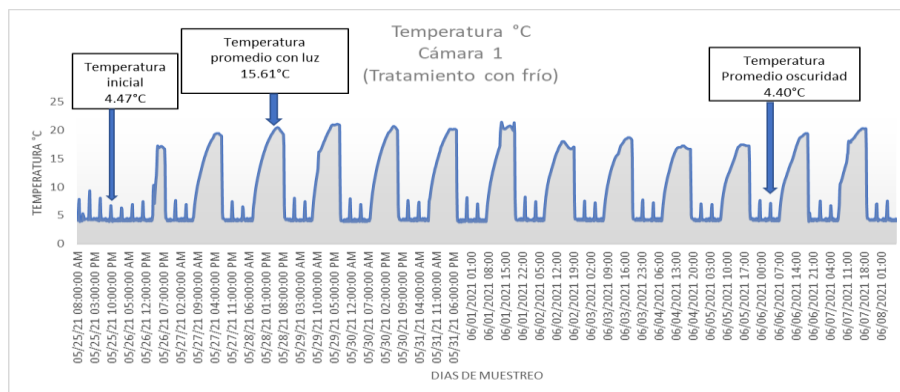


Figura 12. Registro de temperaturas del datalogger de la cámara 1 (tratamiento con frío).

5.1.2. Registro de luminosidad

La luz utilizada en el proceso del experimento fue tipo led, la cual se encendió y apago todos los días de forma manual durante los 14 días del tratamiento; para la cámara 2 considerada el testigo la intensidad promedio fue de 58.78 lum/ft^2 equivalente aproximadamente a 367 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ (Figura 13) y para la cámara 1 considerada el tratamiento con frio se registró una intensidad promedio de 61.11 lum/ft^2 equivalente aproximadamente a 380 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ (Figura 14); de acuerdo con el valor de los datos transformados Whiley y Schaffer, (1994) registraron en Australia el punto de compensación lumínica en arboles cultivados en campo de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ reflejando que estos valores tan bajos ayudan ciertamente a maximizar la fotosíntesis de los árboles

en su habiudad de origen (sotobosque); de acuerdo con Osmond, (1994), la combinación de altas radiaciones lumínicas y bajas temperaturas produce la llamada *fotoinhibición* que es una daño en el PSII); las bajas temperaturas reducen las tasas de las reacciones metabólicas y limitan los destinos (fijación de CO₂ y la fotorespiración) para la energía de excitación absorbida aumentando el potencial de daño al PSII, en particular la proteína D1 del centro de reacción (Nishida y Murata, 1996); por lo que, a baja temperatura se produce un desequilibrio entre la capacidad de captar energía luminosa y la capacidad de consumir esta energía en la actividad metabólica de las hojas, y la inhibición de la capacidad fotosintética (Oquist, G. y Huner, N. P. 2003); razón por la cual, la intensidad de luz de las cámaras frigoríficas utilizadas resulta ser favorable para este trabajo de investigación y esta no es un factor que altere el desarrollo y los procesos bioquímicos de las plantas en etapa de crecimiento.

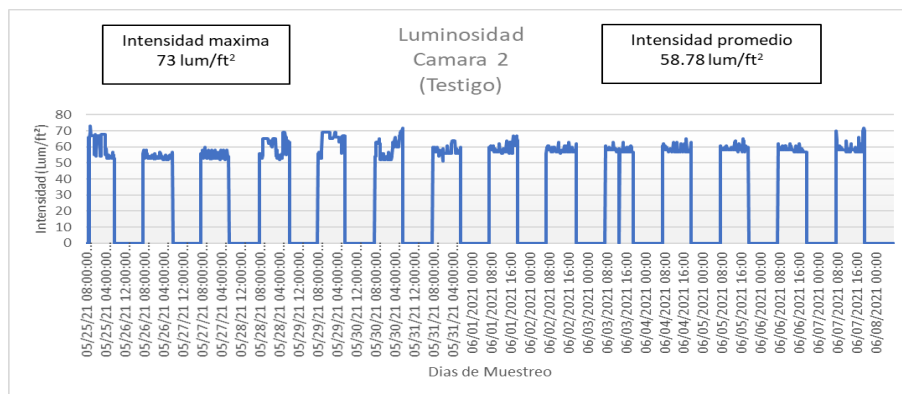


Figura 13. Intensidad lumínica de la cámara 2 (testigo).

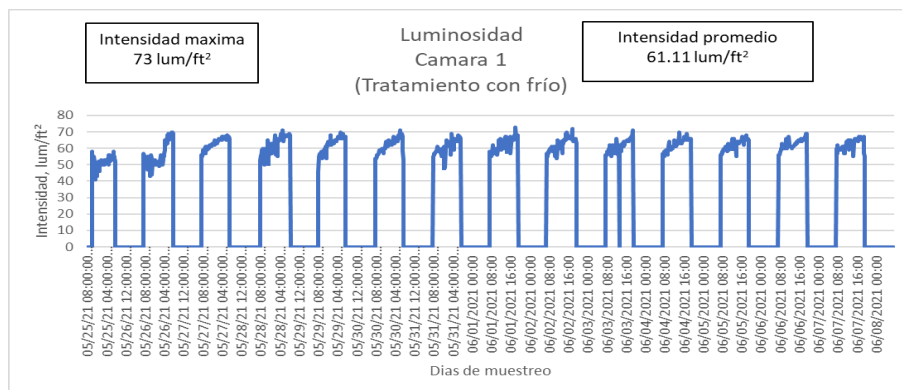


Figura 14. Intensidad lumínica de la cámara 1 (tratamiento con frío).

5.2. Crecimiento de planta

Los resultados de crecimiento de las plantas de la cámara 2 (testigo) con temperaturas con luz de 23.20°C, y oscuridad de 19.29°C mostraron un aumento de tamaño a los 14 días, en los materiales no injertados e injertados; así como lo menciona Lahav y Trochoulis (1982) que el desarrollo vegetativo de las plantas de aguacate se lleva a cabo en el intervalo óptimo de temperatura de 20-30°C; en donde existe una máxima asimilación neta de CO₂ favoreciendo el crecimiento de la planta entera. Por el contrario, en las condiciones de la cámara 1 con temperaturas con luz de 15.61°C, y oscuridad de 4.40°C, se registró poco y nulo crecimiento en los materiales no injertados e injertados; por lo que, el efecto del crecimiento y el desarrollo del aguacatero, se reduce significativamente a temperaturas menores a 10°C (Whiley *et al.*, 1990). De acuerdo a la comparación de medias con una significancia de $\alpha=0.05$ el crecimiento de los materiales no injertados e injertados de la cámara 2 (testigo) con valores de 1.12cm, y 0.72cm respectivamente resultaron significativamente mayores a los obtenidos en los materiales no injertados e injertados de la cámara 1 (tratamiento con frío) con valores de 0.3cm en los materiales no injertados e injertados. (Figura 15).

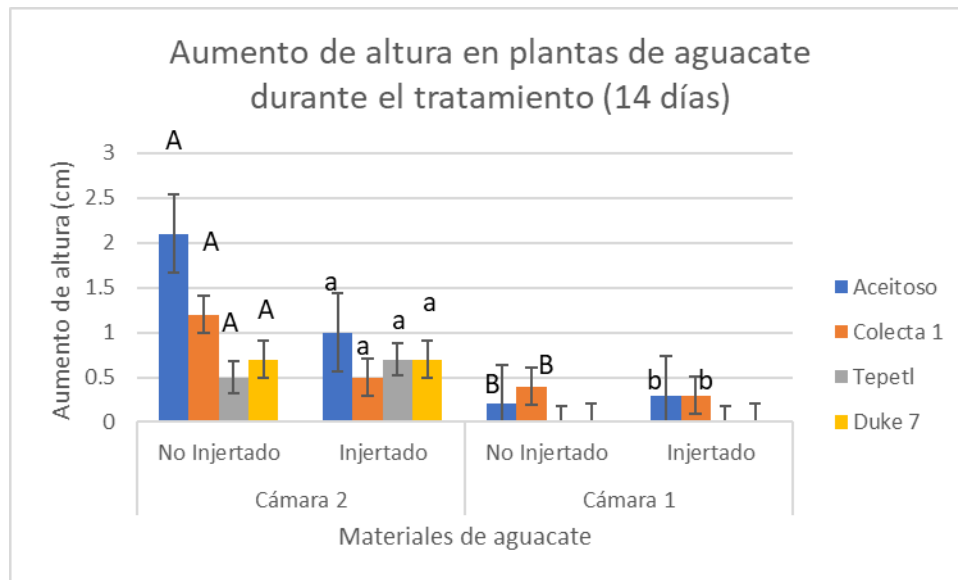


Figura 15. Efecto del tratamiento con frío sobre el crecimiento (altura) de planta de aguacate no injertada (A, B) e injertada (a, b) a los 14 días de su establecimiento en las cámaras.

5.3. Contenido de clorofila a

En relación a los índices de clorofila unidades (SPAD) de los materiales no injertados de la cámara 2 (testigo); muestran un promedio general de lectura de 40.46 unidades, en comparación a 39.48 unidades de los materiales no injertados de la cámara 1 (tratamiento con frío); que de acuerdo a Coelho *et al.* (2010) el rango de 35.2 y 42.2 unidades SPAD son adecuados para diagnosticar un buen nivel de N en papa (*Solanum tuberosum*); de igual forma, Taiz y Zeiger (2004) mencionan que la intensidad del verde de las hojas tiene correlación con el contenido de clorofila y la concentración de nitrógeno; por lo que, se puede mencionar que el contenido de clorofila en los materiales, de ambas cámaras no es afectado por el tratamiento con frío. De acuerdo a la comparación de medias con una significancia $\alpha=0.05$ entre los materiales no injertados de ambas cámaras no existe una diferencia significativa (Figura 16).

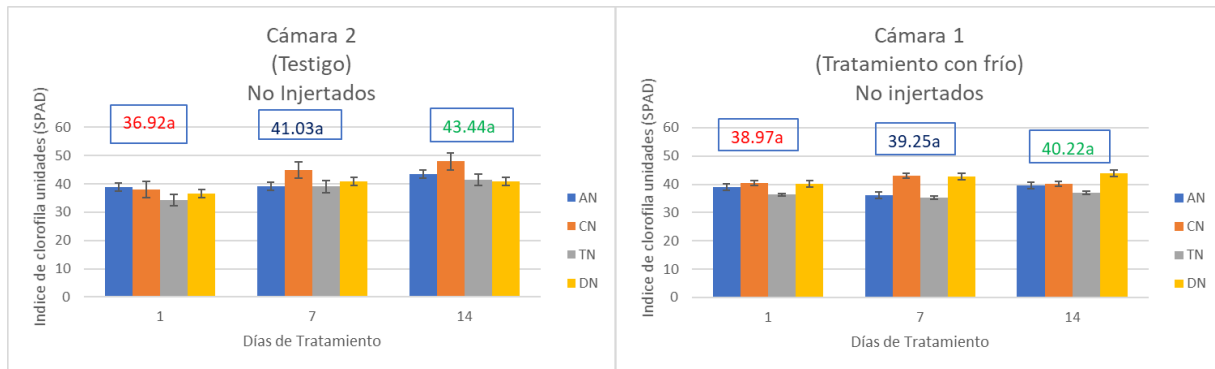


Figura 16. Lectura de unidades SPAD de materiales no injertados Aceitoso (AN), Colecta 1 (CN), Tepetl (TN) y Duke 7 (DN), comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras.

Los materiales establecidos en la cámara 1 (tratamiento con frío) no presentaron alteraciones en el crecimiento de las hojas evaluadas, coincidiendo con los resultados de la cámara 2 y con Gianquinto *et al.* (2003) que menciona la correlación positiva de los índices SPAD con la disponibilidad de nitrógeno en las hojas, se puede decir que, el proceso de maduración de las hojas pasa por diferentes etapas morfológicas, desde su emergencia hasta su senescencia, de ser demanda a ser fuentes de nutrientes, así como su respuesta a las variables ambientales (Dickson *et al.*, 2000), indicando que el factor de baja temperatura no afecta el contenido de nitrógeno en la etapa de demanda. Para los materiales injertados de la cámara 2 (testigo) con un promedio de 38.35 unidades, en

comparación con los materiales injertados de la cámara 1 (tratamiento con frío) con un promedio de 39.07 unidades; se puede mencionar que, de acuerdo a la comparación de medias con una significancia de $\alpha=0.05$ no existen diferencias significativas entre los materiales injertados de ambas cámaras (Figura 17).

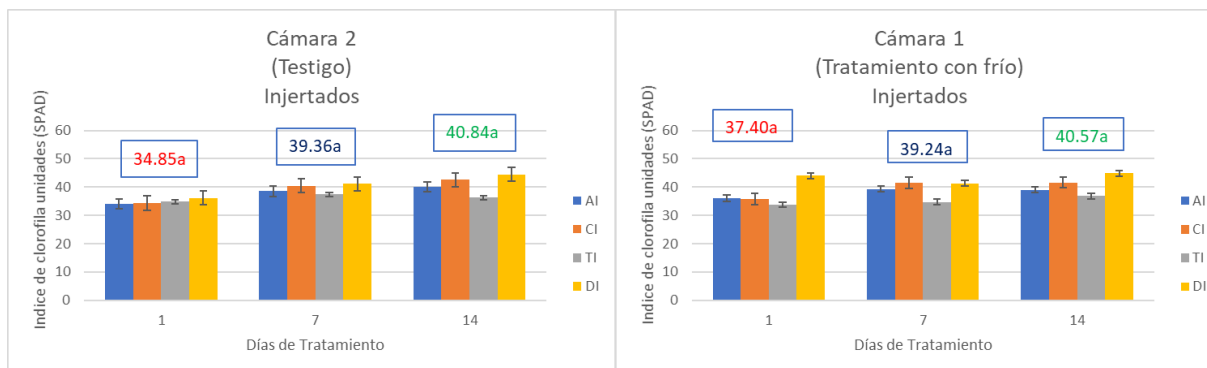


Figura 17. Lectura de unidades SPAD de materiales injertados Aceitoso (AI), Colecta 1 (CI), Tepetl (TI) y Duke 7 (DI), comparando (DMS) mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los portainjertos es el valor promedio en todos los portainjertos.

5.4. Contenido de azúcares solubles con dos ambientes de temperatura

5.4.1. Glucosa

Los análisis realizados en hojas de brotes jóvenes, que de acuerdo a Liu *et al.* (2002) deben ser hojas menores a 20 días después de la brotación; muestran que la concentración de glucosa en las hojas de los brotes vegetativos aumenta bajo las condiciones de la cámara 1 (tratamiento con frío); debido a que, la glucosa es utilizada en la síntesis de compuestos como los ácidos orgánicos, aminoácidos y lípidos (Geigenberger *et al.*, 2005), componentes básicos para la acumulación de biomasa y desarrollo de las plantas; por lo que, el contenido de glucosa en las hojas de los brotes vegetativos como tejidos de demanda, son afectados por factores ambientales, bioquímicos y fisiológicos que en conjunto determinan la cantidad de fotosintatos que pueden ser descargados en los tejidos demanda (Rolland *et al.*, 2002); de acuerdo con lo anterior, la concentración de glucosa en condiciones de la cámara 1 (tratamiento con frío) presenta valores promedio de $9.74 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, $14.87 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco en el día 7 y $12.64 \mu\text{molas g}^{-1}$ a los 14 días; en comparación al testigo, con valores promedio de $5.02 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, $8.06 \mu\text{molas g}^{-1}$

de peso fresco en el día 7 y $7.17 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 14 días; se puede mencionar que, de acuerdo a la comparación de medias con una significancia de $\alpha=0.05$ los 3 valores promedio del tratamiento con frío son significativamente mayores a los del testigo (Figura 18).

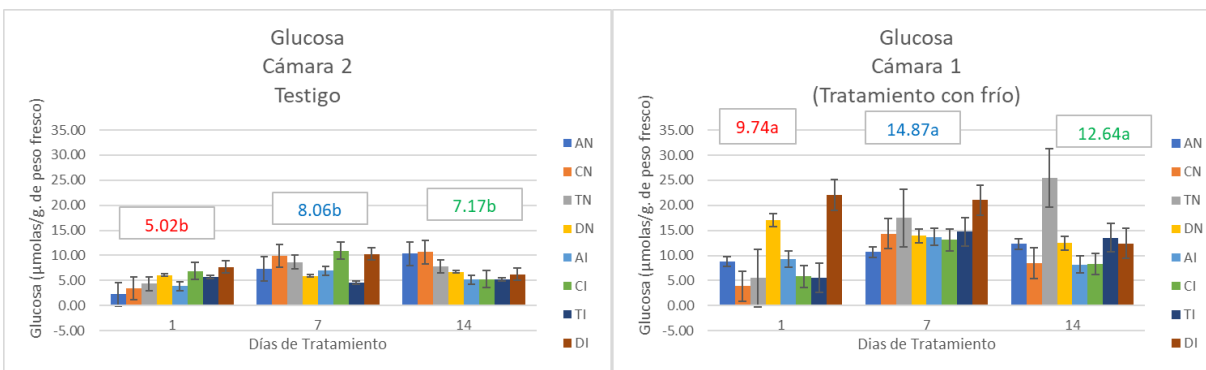


Figura 18. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de glucosa en hojas jóvenes de los materiales Aceitoso (AN y AI), Colecta 1 (CN y CI), Tepetl (TN y TI) y Duke 7 (DN y DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los portainjertos es el valor promedio en todos los portainjertos. La comparación de medias (DMS) es entre cámaras el mismo día de tratamiento.

5.4.2. Fructosa

El contenido de fructosa en las hojas de los brotes vegetativos está relacionado con la reserva de carbono de las plantas superiores (Marschall *et al.*, 2019); estas reservas, son el contenido de fructosa de los materiales establecidos en la cámara 2 (testigo) ; sin embargo, bajo condiciones estresantes por frío; estos carbohidratos están asociados con la tolerancia a diferentes tipos de estrés, actuando como osmoprotectores ante condiciones ambientales adversas por calor, frío, o estrés hídrico (Marschall *et al.*, 2019). Con valores promedio de los materiales establecidos en la cámara 1 (tratamiento con frío) de $7.65 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, $9.91 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco al día 7 y con $12.52 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para los 14 días; comparados con los valores de la cámara 2 (testigo) de $3.28 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, $4.60 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, para el día 7 y $5.79 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 14 días; se puede mencionar que, al realizar la comparación de medias, con una significancia de $\alpha=0.05$, las plantas de la cámara 1 (tratamiento con frío) aumentaron su contenido de fructosa en

las hojas de los brotes vegetativos significativamente desde el día 1 de tratamiento en comparación a los valores promedio de la cámara 2 (testigo) (Figura 19).

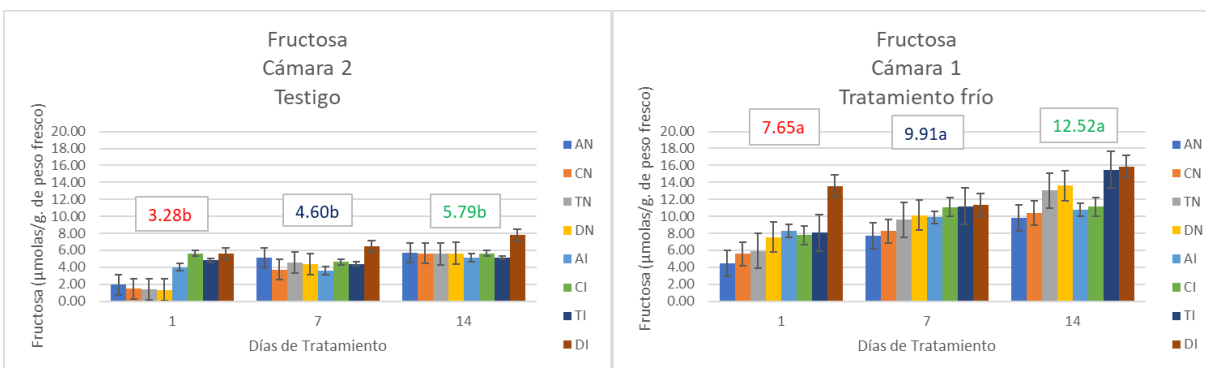


Figura 19. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de fructosa en hojas jóvenes de los materiales Aceitoso (AN y AI), Colecta 1 (CN y CI), Tepetl (TN y TI) y Duke 7 (DN y DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los portainjertos es el valor promedio en todos los portainjertos.

5.4.3. Sacarosa

El transporte de los fotoasimilados hacia los vertederos (tejidos demanda) se efectúa en forma de sacarosa, siendo este uno de los compuestos bioquímicos con mayor movilidad, dependiendo de la especie de planta y del tipo de carga y descarga en el floema (vía sim-plasto o apoplasto) (Schöning y Kollman, 1997; Minchin y Lacoite, 2005); por lo que, el efecto de las bajas temperatura puede afectar o no su movilidad en las hojas jóvenes de los brotes vegetativos; la sacarosa, es utilizada por la planta como principal fuente de energía bioquímica, al realizar su síntesis en el citosol a partir de glucosa y fructosa fosforiladas (Hopkins y Huner, 2004), por vía simplasto, la sacarosa viaja a través de conductos (plasmodesmos) y por vía apoplasto, la sacarosa puede ser incorporada mediante un transportador específico o puede ser hidrolizada por una invertasa de pared celular (Padilla y Martínez, 2007); de acuerdo a las características de la sacarosa y los valores promedio de los materiales de la cámara 1 (tratamiento con frío) de $0.32 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco en el día 1, $0.43 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco a los 7 días y $0.58 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco a los 14 días, que al comparar con los valores promedio de la cámara 2 (testigo) de 0.15 para el día 1, $0.21 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco a los 7 días y $0.41 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco los 14 días; se puede mencionar que, de acuerdo a la comparación de medias con una significancia de $\alpha=0.05$ los resultados de

los días 1 y 7 del tratamiento con frío fueron significativamente superiores a los del testigo y para los resultados del día 14 no existe una diferencia significativa (Figura 20).

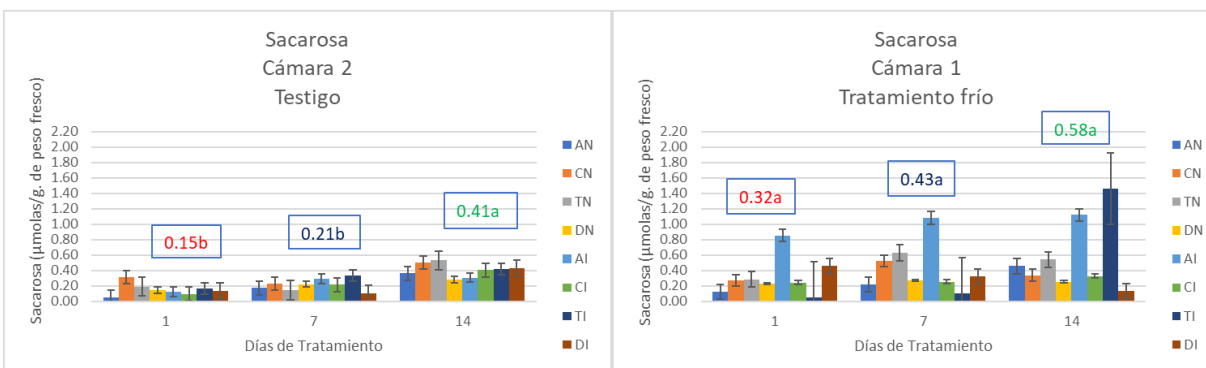


Figura 20. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de sacarosa en hojas jóvenes de los materiales Aceitoso (AN y AI), Colecta 1 (CN y CI), Tepetl (TN y TI) y Duke 7 (DN y DI) comparando (DMS) mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los portainjertos es el valor promedio en todos los portainjertos.

5.4.4. Almidón

El almidón está compuesto por amilopectina (85-70%) y amilosa (15-30%) respectivamente (Mclauchlan *et al.*, 2001); su metabolismo en los vertederos (semillas, raíces, tubérculos, hojas en desarrollo) está asociado con la relación de síntesis almidón/sacarosa en la fuente, la eficiencia de exportación, transporte de sacarosa y con la prioridad y potencia del vertedero (Schöning y Kollman, 1997; Minchin y Lacoite, 2005). Las hojas jóvenes de los brotes vegetativos de aguacate (vertederos) mostraron una concentración baja en el contenido de almidón en ambas cámaras, Baguma *et al.* (2003), menciona que las hojas son tejidos que acumulan almidón transitorio; por lo que, las muestras de los materiales de aguacate bajo las condiciones de la cámara 1 (tratamiento con frío) registraron valores promedio de 1.71 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, 1.33 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 7 días y 1.07 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 14 días, mientras que, en la cámara 2 (testigo) los valores promedio fueron de 1.31 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco para el día 1, 1.59 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 7 días y 1.05 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco a los 14 días; por lo que, de acuerdo a la comparación de medias con una significancia de $\alpha=0.05$ se puede mencionar que, no existen diferencias significativas entre los materiales de la cámara 1 (tratamiento con frío) y el testigo (Figura 21).

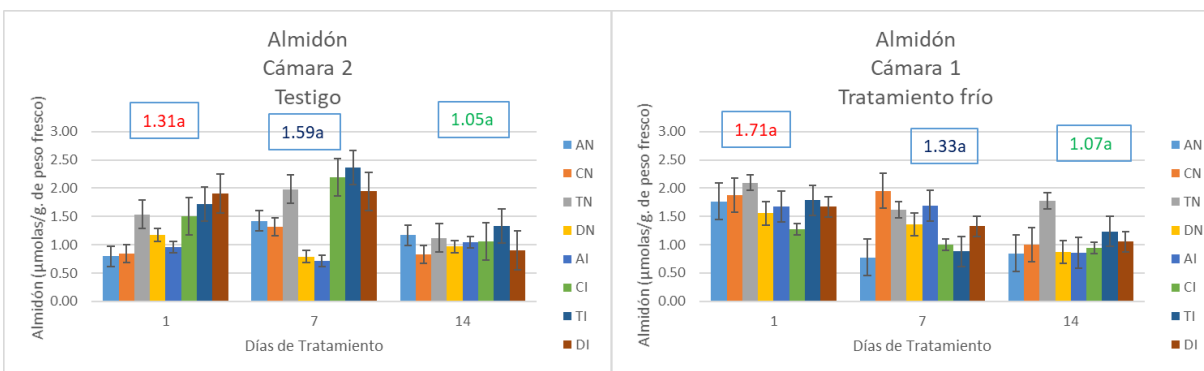


Figura 21. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de almidón en hojas jóvenes de los materiales Aceitoso (AN y AI), Colecta 1 (CN y CI), Tepetl (TN y TI) y Duke 7 (DN y DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5. Contenido de azúcares en materiales no injertados e injertados

5.5.1. Glucosa

5.5.1.1. Materiales no Injertados

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación de los materiales de aguacate no injertados establecidos en la cámara 2 (Figura 22a), muestran un incremento del contenido de glucosa al paso del tiempo y una acumulación acorde al desarrollo y crecimiento de las plantas con valores promedio a las 24h de $4.01 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días con $7.97 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días con $8.87 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que, en la cámara 1 (Figura 22b) la concentración de glucosa aumento significativamente desde las primeras 24h con un promedio de $8.80 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días con $14.10 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días con $14.67 \mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco; estos resultados indican que el contenido de glucosa aumenta por efecto de las bajas temperaturas en los materiales sin injertar; de acuerdo con Lockard y Schneider, (1981) y Lacono et al., (1998) quienes mencionan que los materiales de aguacate de raza mexicana son considerados por su origen como materiales tolerantes a las bajas temperaturas, se puede mencionar que esta tolerancia tiene relación con el aumento del contenido de glucosa en las hojas de los brotes vegetativos de los materiales.

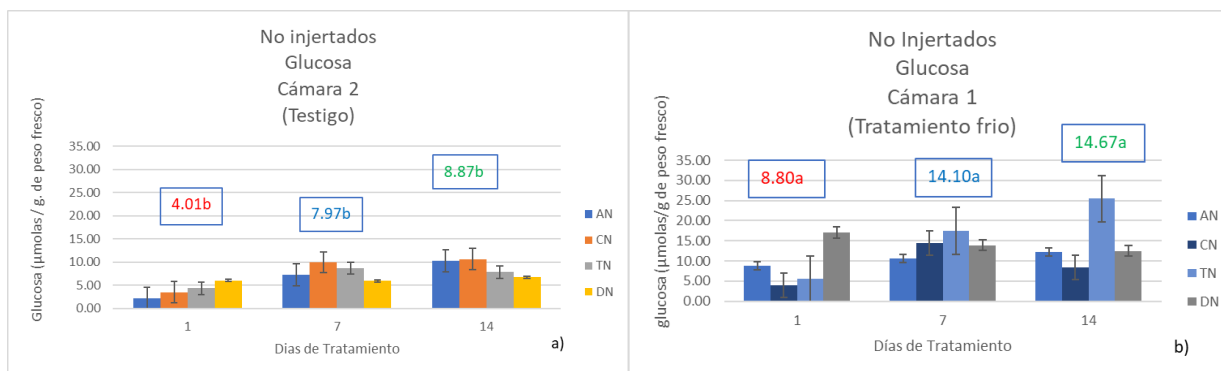


Figura 22. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de glucosa en hojas jóvenes de los materiales no injertados Aceitoso (AN), Colecta 1 (CN), Tepetl (TN) y Duke 7 (DN) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.1.2. Materiales injertados con ‘Hass’

En la cámara 2 los materiales injertados con la variedad ‘Hass’ (Figura 23a) muestran un comportamiento diferente a los materiales sin injertar bajo las mismas condiciones en donde a las 24h registro una concentración promedio de glucosa de $6.04 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días aumenta a $8.16 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco y disminuye a los 14 días a $5.48 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que en los materiales injertados con ‘Hass’ de la cámara 1 del tratamiento con frío (Figura 23b) a las 24h registran valores de $10.67 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días aumenta a $15.64 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días disminuye a $10.61 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco pero mayor al registrado en él testigo; datos que de acuerdo a la comparación de medias muestran que la concentración de glucosa es significativamente superior a los 7 y 14 días de tratamiento con frío; efecto que alteran el crecimiento y la acumulación de materia seca en ‘Hass’ y que de acuerdo al paso del tiempo en condiciones de frío se ve menos afectada por las temperaturas extremas por su gran adaptabilidad ambiental en comparación a otras variedades (Yusof *et al.*, 1969; Whiley *et al.*, 1990; Schaffer *et al.*, 2013); en general se mantuvo la concentración de glucosa durante el tratamiento excepto en el material duke 7 (DI) que a las 24h y los 7 días mantuvo valores superiores a los demás con 22.02 y $21.03 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco respectivamente, y que a los 14 días bajo nuevamente.

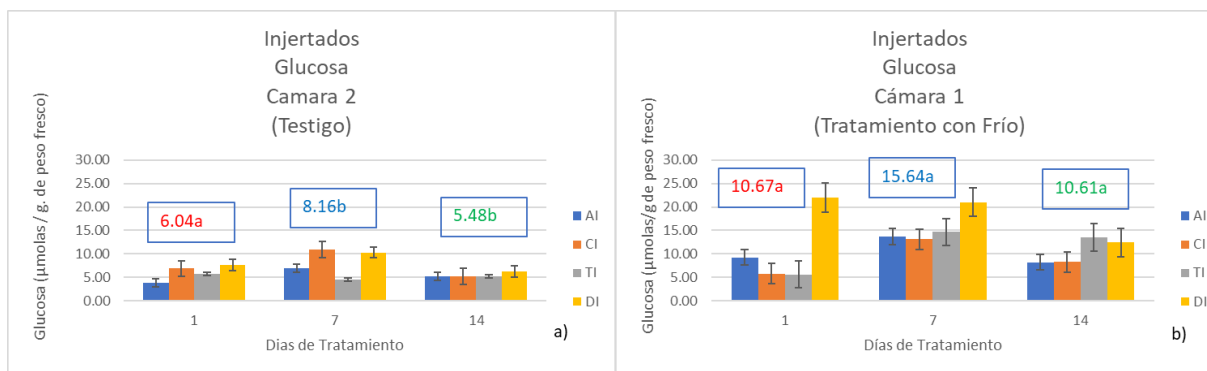


Figura 23. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de glucosa en hojas jóvenes de los materiales injertados Aceitoso (AI), Colecta 1 (CI), Tepetl (TI) y Duke 7 (DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.2. Fructosa

5.5.2.1. Materiales no Injertados

En este trabajo de investigación el contenido de fructosa de las hojas jóvenes de los brotes vegetativos de las plantas de aguacate en la cámara 2 (Figura 24a) obtuvo los siguientes promedios a las 24h con $1.54 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días con $4.44 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días con $5.64 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que en la cámara 1 se registraron promedios del contenido de fructosa significativamente superiores con valores a las 24h de $5.86 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días con $8.93 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días con $11.72 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco (Figura 24b); de acuerdo a los resultados obtenidos podemos mencionar que el contenido de fructosa en las hojas de los brotes vegetativos de las plantas de aguacate aumenta por efecto de condiciones de frío, corroborando lo que menciona Marschall *et al.* (2019) que el contenido de fructosa en las hojas está relacionado con la reserva de carbono de las plantas superiores bajo condiciones estresantes por frío; estos carbohidratos están asociados con la tolerancia a diferentes tipos de estrés, actuando como osmoprotectores ante condiciones ambientales adversas por calor, frío, o estrés hídrico; por lo que, el aumento del contenido de fructosa está directamente relacionado con la tolerancia al frío.

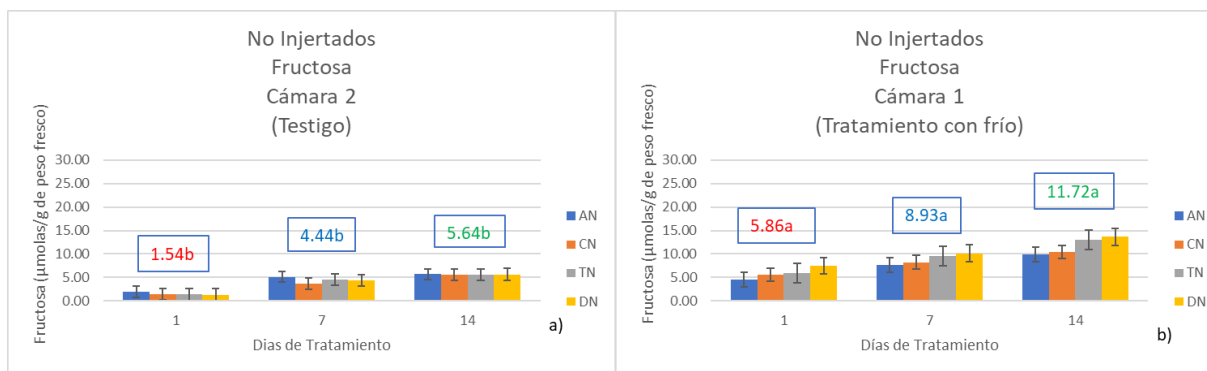


Figura 24. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de fructosa en hojas jóvenes de los materiales no injertados Aceitoso (AN), Colecta 1 (CN), Tepetl (TN) y Duke 7 (DN) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.2.2. Materiales injertados con ‘Hass’

Los materiales injertados con la variedad ‘Hass’ de la cámara 2 (Figura 25a) muestran una concentración de fructosa promedio en las hojas jóvenes de los brotes vegetativos a las 24h de 5.01 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días con un promedio de 4.77 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días un promedio de 5.94 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que, en la cámara 1 los resultados promedio se muestran con un contenido mayor de fructosa (Figura 25b) iniciando a las 24h con de 9.44 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días se con 10.89 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días se registró un promedio de 13.32 $\mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; resultados que muestran una diferencia significativamente mayor a los promedios de la cámara 2 (testigo), Vijn y Smeekens (1999) y Pérez *et al.* (2001) mencionan que los fructanos, que son polímeros de fructosa, están involucrados en la resistencia al frío y la sequía, y recientemente, se ha sugerido que podrían contrarrestar el estrés oxidativo (Peshev *et al.*, 2013); por lo que, podemos mencionar que el aumento del contenido de fructosa en las hojas de los brotes vegetativos de los materiales injertados con ‘Hass’ está relacionado con el efecto de las bajas temperaturas de la cámara 1.

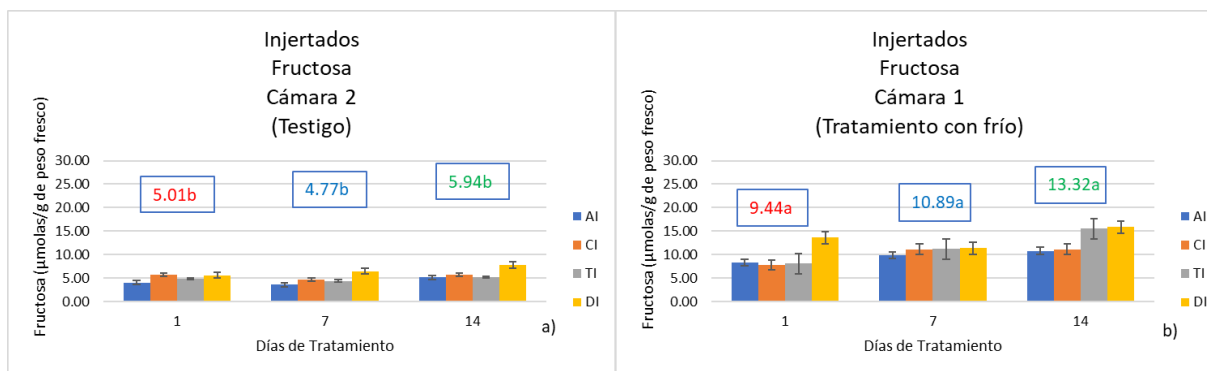


Figura 25. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de fructosa en hojas jóvenes de los materiales injertados Aceitoso (AI), Colecta 1 (CI), Tepetl (TI) y Duke 7 (DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.3. Sacarosa

5.5.3.1. Materiales no injertados

Los resultados obtenidos del contenido de sacarosa en las hojas de los brotes vegetativos de los materiales no injertados ubicados en la cámara 2 (testigo), con un promedio a las 24h de $0.17 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días de $0.19 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días el promedio fue de $0.42 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, (Figura 26a); mientras que los resultados promedio de los materiales no injertados de la cámara 1 (tratamiento con frío) a las 24h fue de $0.23 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días de $0.41 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y por ultimo a los 14 días se registró el valor de $0.40 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco (Figura 26b); datos que, de acuerdo con MacRae y Lunn (2012) quienes mencionan que la sacarosa es utilizada y proporciona la mayoría de energía y el carbono necesario para el crecimiento de órganos no fotosintéticos en las plantas superiores; por lo que, se justifica que el contenido de sacarosa en las hojas de los brotes vegetativos de las plantas de aguacate no injertados no es afectada, en ninguna de las fechas de muestreo, por las condiciones de frío de la cámara 1.

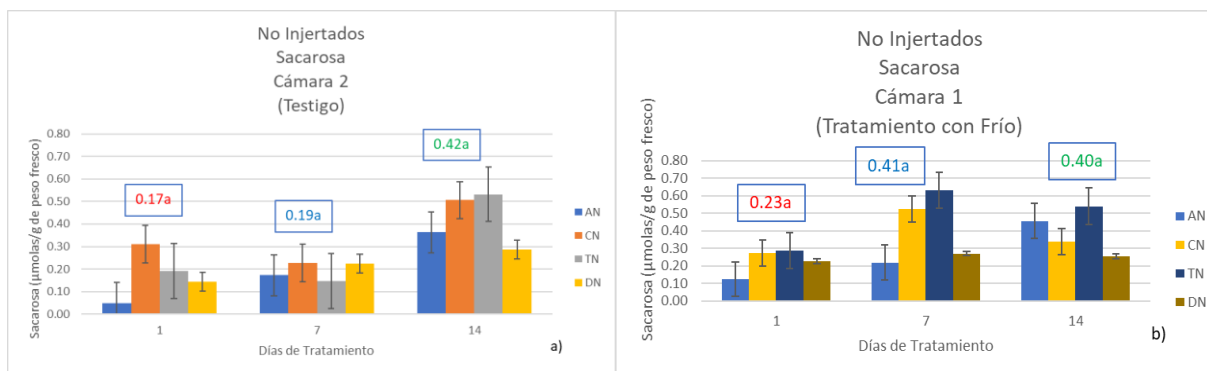


Figura 26. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de sacarosa en hojas jóvenes de los materiales no injertados Aceitoso (AN), Colecta 1 (CN), Tepetl (TN) y Duke 7 (DN) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.3.2. Materiales injertados con ‘Hass’

La concentración promedio de sacarosa en estos materiales injertados con la variedad ‘Hass’ (Figura 27a) bajo las condiciones de la temperatura de la cámara 2 (testigo), registraron a las 24h valores promedio de $0.13 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días $0.24 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días de tratamiento se registró el promedio de $0.39 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que en los materiales injertados con la variedad ‘Hass’ establecidos en la cámara 1 (Figura 27b) registraron valores promedio en las hojas de los brotes vegetativos a las 24h de $0.40 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días de $0.44 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días de tratamiento se registró un valor promedio de $0.76 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; de acuerdo con lo mencionado por Zeeman, *et al.* (2007), la sacarosa se sintetiza en el citosol para posteriormente cargarse en el floema de los tejidos de origen (hojas maduras) para el transporte a los tejidos de demanda (raíces, hojas en desarrollo y órganos de almacenamiento), donde se utiliza para la respiración y el crecimiento; por lo que la sacarosa es utilizada por las plantas antes de ser afectada en su concentración en las hojas de brotes vegetativos por las bajas temperaturas resultando valores diferentes en las plantas de la cámara 1 (tratamiento con frío) pero no significativos en comparación a los valores de la cámara 2 (testigo).

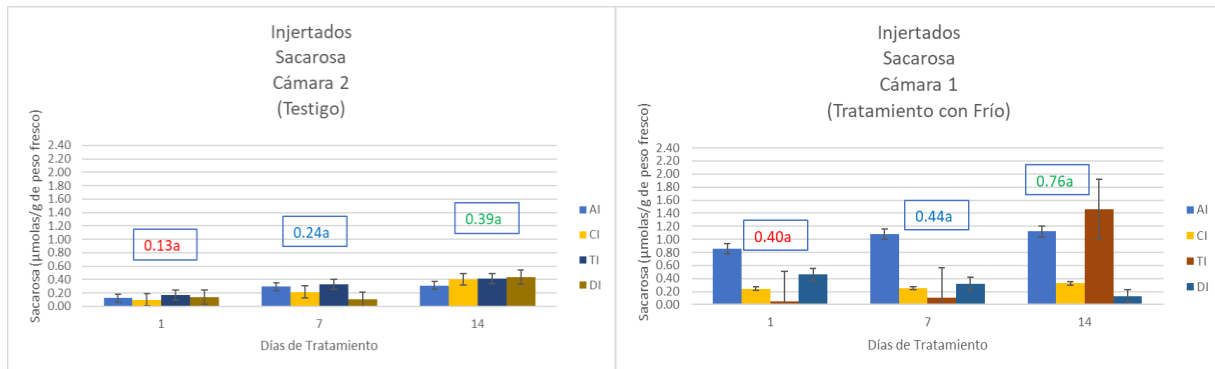


Figura 27. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de sacarosa en hojas jóvenes de los materiales injertados Aceitoso (AI), Colecta 1 (CI), Tepetl (TI) y Duke 7 (DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.4. Almidón

5.5.4.1. Materiales no injertados

El contenido promedio de almidón en las hojas de los brotes vegetativos de los materiales no injertados de la cámara 2 (Figura 28a) muestran a las 24h de tratamiento una concentración de $1.09 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días de $1.38 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días la concentración de almidón fue de $1.02 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco; mientras que, en la cámara 1 (Figura 28b) la concentración de almidón en los materiales no injertados inicio a las 24h con un promedio de $1.82 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días su concentración disminuyo a $1.43 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$, y finalmente a los 14 días se obtuvo un resultado de $1.12 \mu\text{mol} \text{g}^{-1}$ de peso fresco; en base a lo que mencionan Baslam *et al.* (2017), el almidón se acumula en tejidos fotosintéticos, más del 50% se retiene en los cloroplastos durante el día y durante la noche es movilizado para el apoyo del metabolismo y crecimiento no fotosintéticos; por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos de este trabajo de investigación se puede mencionar que el almidón no es afectado por las bajas temperaturas al no aumentar su concentración en las hojas de los brotes vegetativos de las plantas de aguacate.

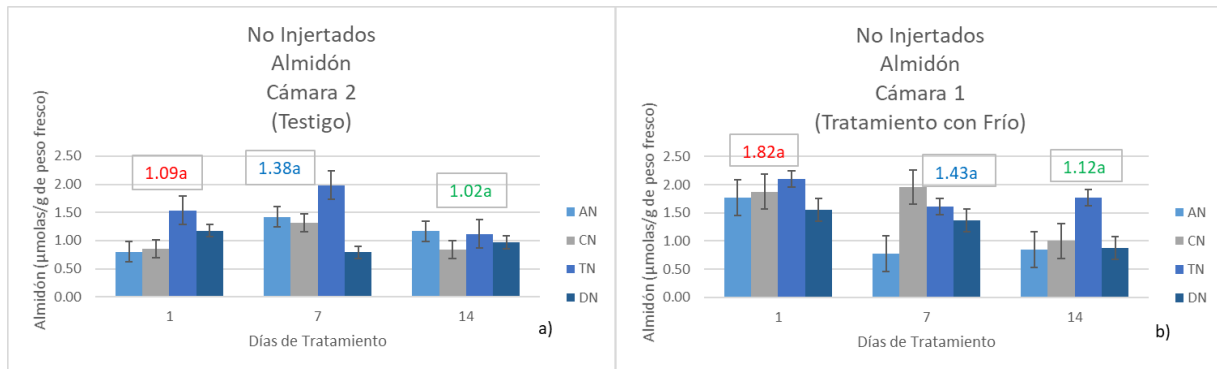


Figura 28. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de almidón en hojas jóvenes de los materiales no injertados Aceitoso (AN), Colecta 1 (CN), Tepetl (TN) y Duke 7 (DN) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.5.4.2. Materiales injertados con ‘Hass’

La concentración de almidón en las hojas de los brotes vegetativos de los materiales injertados con la variedad ‘Hass’ ubicados en la cámara 2 (testigo) (Figura 29a), iniciaron a las 24h de tratamiento con un promedio de concentración de almidón de $1.52 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días de $1.80 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y finalmente a los 14 días de $1.08 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; para los materiales ubicados en la cámara 1 (tratamiento con frío) (Figura 29b), el contenido de almidón inicio con un promedio de $1.60 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco, a los 7 días la concentración fue de $1.23 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco y a los 14 días presento un promedio de $1.02 \mu\text{molas g}^{-1}$ de peso fresco; y de acuerdo con Heldt (2005), quien menciona que la síntesis de almidón tiene lugar en los plastidios de plantas superiores, en los cloroplastos en hojas fotosintéticamente activas y frutos verdes como almacén, podemos mencionar que en las hojas jóvenes de las plantas de aguacate, su concentración no es afectada por efecto de las bajas temperaturas de la cámara 1 considerada el tratamiento con frío.

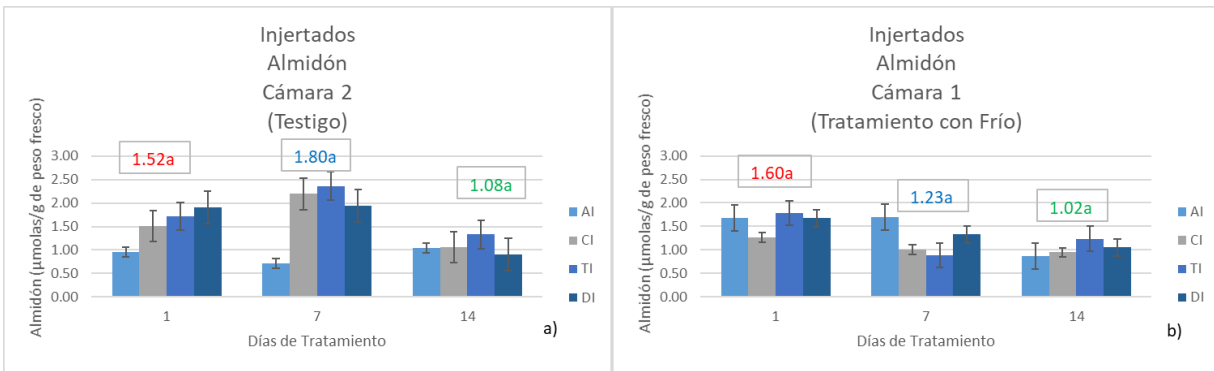


Figura 29. Efecto del tratamiento con frío sobre el contenido de almidón en hojas jóvenes de los materiales injertados Aceitoso (AI), Colecta 1 (CI), Tepetl (TI) y Duke 7 (DI) comparando mismo número de día de tratamiento entre ambas cámaras. El número encima de cada conjunto de barras de los materiales es el valor promedio por día de muestreo.

5.6. Contenido de azúcares por material de aguacate

5.6.1. Aceitoso

El contenido de azúcares solubles en el material Aceitoso (Cuadro 6), registro un promedio de contenido de glucosa (PcG) en las plantas no injertadas de la cámara 1 (tratamiento con frío), significativamente mayor en la muestra del día 1 en comparación al testigo (Figura 30a), para las plantas injertadas con ‘Hass’ las muestras realizadas los días 1, 7 y 14 de la cámara 1 (tratamiento con frío) son significativamente mayores al testigo (Figura 30c); para el promedio del contenido de fructosa (PcF) en las plantas no injertadas (Figura 31a) y en las plantas injertadas con ‘Hass’ (Figura 31c) las muestras de los días 1, 7 y 14 de la cámara 1 (tratamiento con frío) son significativamente mayores al testigo; el promedio del contenido de sacarosa (PcS) para las plantas no injertadas es significativamente mayor solo en la muestra del día 1 (Figura 32a), y para los injertados es significativamente mayor en los muestreos de los días 1, 7 y 14 (Figura 32c). Para el promedio del contenido de almidón (PcA) en las plantas no injertadas es significativamente mayor en la muestra del día 1 (Figura 33a) y para las plantas injertadas es significativamente mayor en las muestras de los días 1 y 7 (Figura 33c).

Cuadro 6. Promedio de contenido de glucosa (PcG), promedio del contenido de Fructosa (PcF), promedio del contenido de sacarosa (PcS) y promedio del contenido de almidón (PcA) del material Aceitoso no injertado y aceitoso injertado en respuesta a tratamiento con frío (cámara 1).

Material	Variable	Testigo Cámara 2			Tratamiento Cámara 1		
		1día	7días	14días	1día	7días	14días
Aceitoso No Injertado	PcG ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	2.22b	7.30a	10.31a	8.82a	10.65a	12.29a
	PcF ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	1.95b	5.14b	5.69b	4.46a	7.70a	9.83a
Injertado (AN)	PcS ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.05b	0.17a	0.36a	0.12a	0.22a	0.46a
	PcA ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.80b	1.42a	1.17a	1.77a	0.78a	0.85a
Aceitoso Injertado (AI)	PcG ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	3.86b	6.92b	5.20b	9.28a	13.71a	8.20a
	PcF ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	4.02b	3.59b	5.13b	8.28a	9.90a	10.79a
	PcS ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.12b	0.29b	0.31b	0.85a	1.08a	1.12a
	PcA ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.96b	0.71b	1.05a	1.68a	1.69a	0.86a

Medias con la misma letra en la variable y día de muestreo no son significativamente diferente (prueba de Tukey).

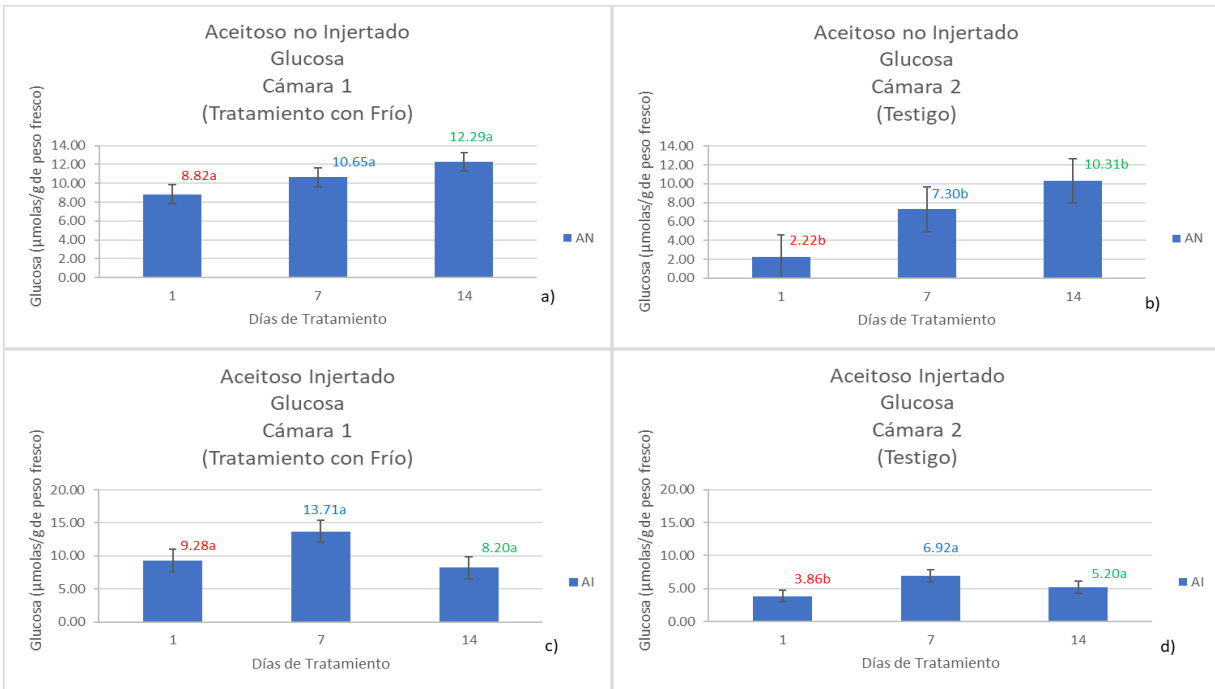


Figura 30. Contenido de glucosa en el material de aguacate Aceitoso no injertado (AN) (a, b) e injertado (AI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

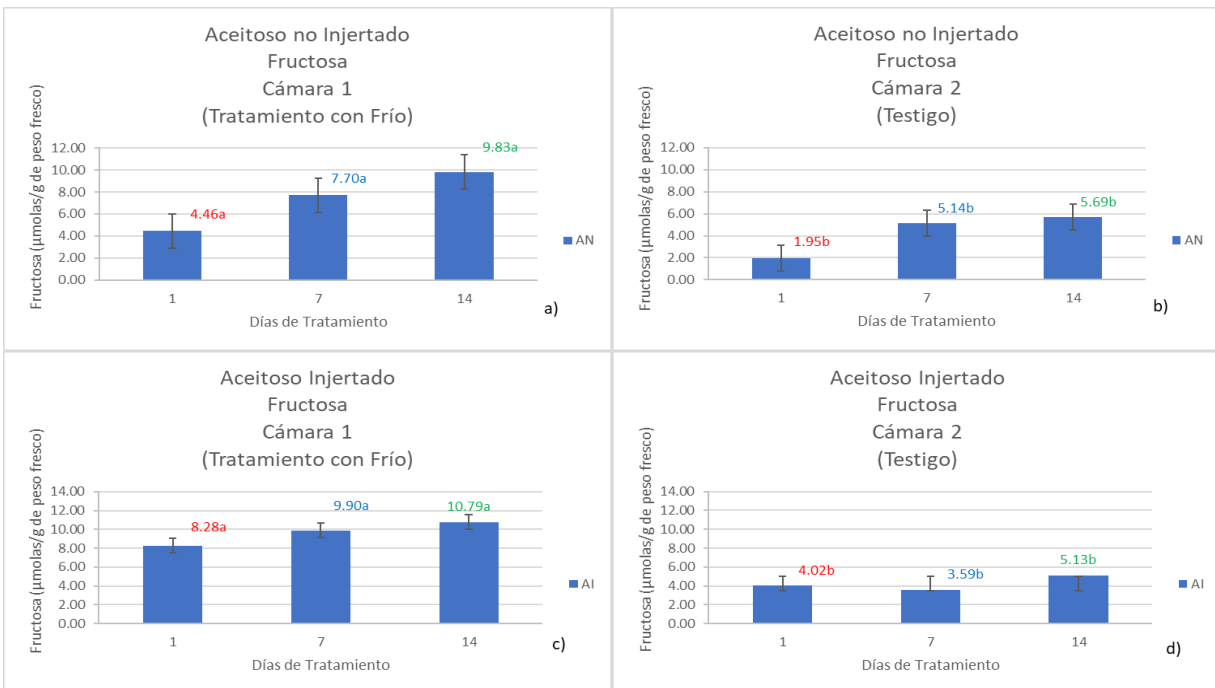


Figura 31. Contenido de Fructosa en el material de aguacate Aceitoso no injertado (AN) (a, b) e injertado (AI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

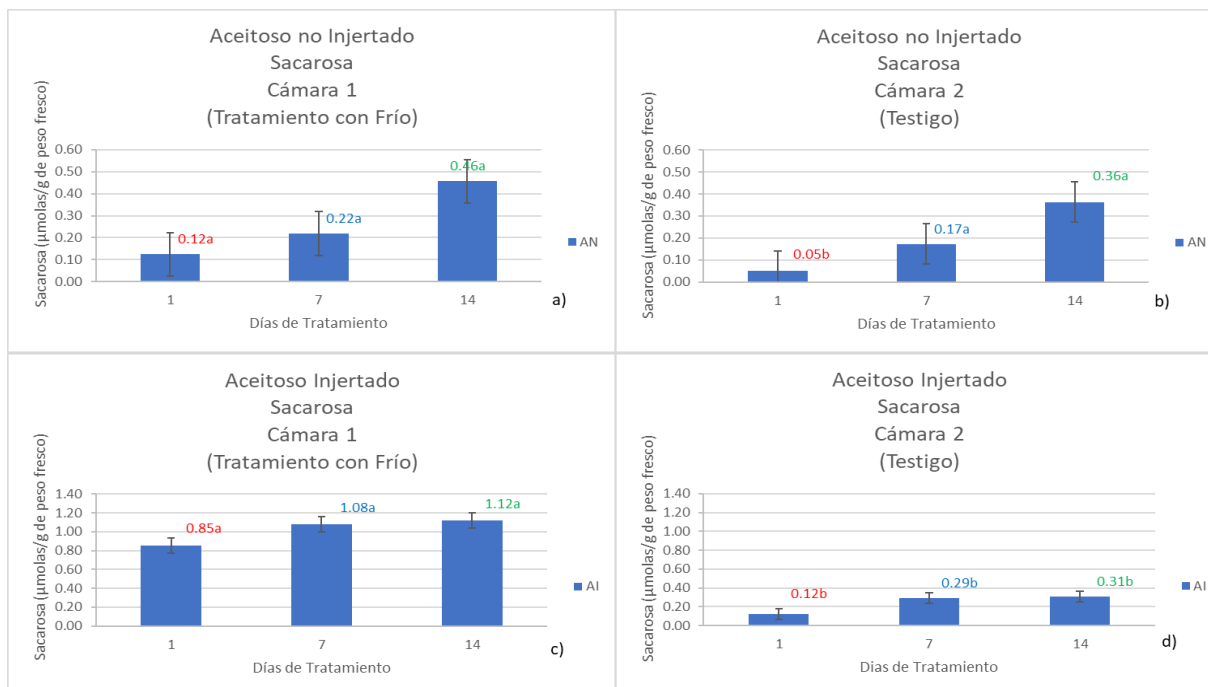


Figura 32. Contenido de Sacarosa en el material de aguacate Aceitoso no injertado (AN) (a, b) e injertado (AI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

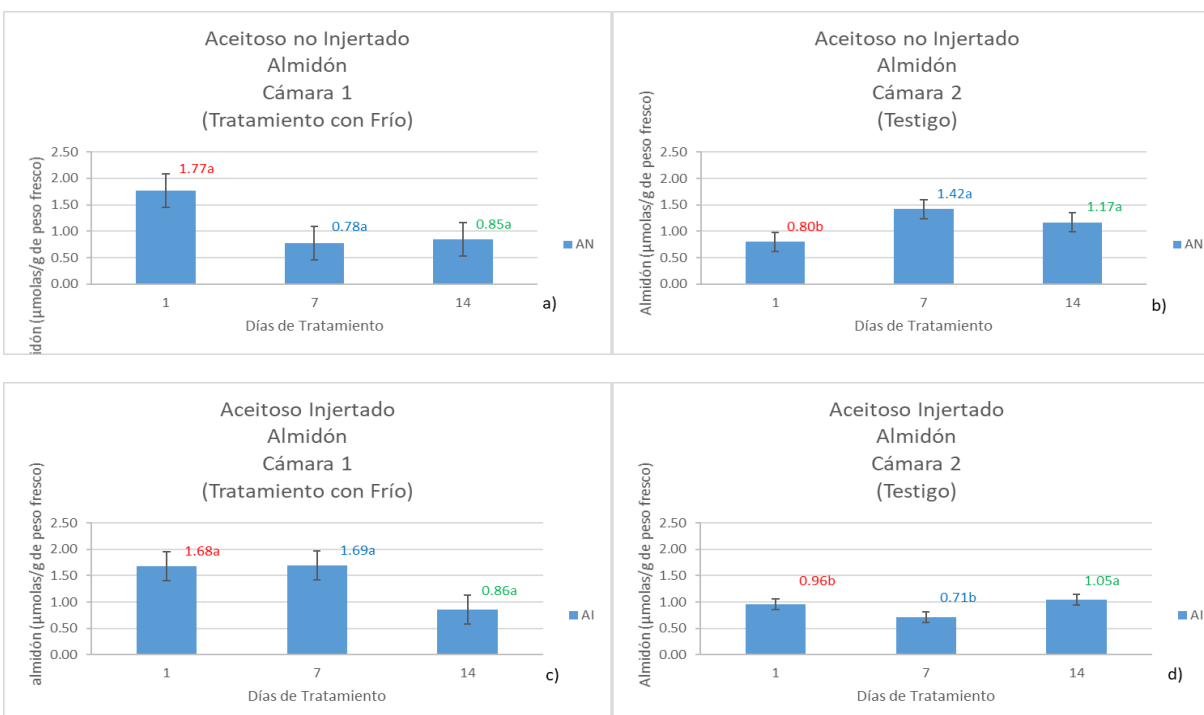


Figura 33. Contenido de Almidón en el material de aguacate Aceitoso no injertado (AN) (a, b) e injertado (AI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

5.6.2. Colecta 1

El contenido de azúcares en el material de colecta 1 (Cuadro 7), registro un promedio de contenido de glucosa (PcG) en las plantas no injertadas de la cámara 1 (tratamiento con frío) los resultados de las muestras del día 7 son significativamente mayores al testigo (Figura 34a); para las plantas injertadas con 'Hass', son significativamente mayor en los resultados de las muestra realizada el día 14 (Figura 34c); el promedio del contenido de fructosa (PcF) es significativamente mayor en las plantas no injertadas (Figura 35a) y en las plantas injertadas (Figura 35c) en las muestras de los días 1, 7 y 14; el promedio del contenido de sacarosa (PcS) para las plantas no injertadas es significativamente mayor solo en la muestra del día 7 (Figura 36a), y para las plantas injertadas es significativamente mayor el día 1 en comparación al testigo (Figura 36c). El promedio del contenido de almidón (PcA) es significativamente mayor en la muestra del día 1 en las plantas no injertadas (Figura 37a) y para los materiales injertados es significativamente mayor en la muestra del día 7 (Figura 37c).

Cuadro 7. Promedio de contenido de glucosa (PcG), promedio del contenido de Fructosa (PcF), promedio del contenido de sacarosa (PcS) y promedio del contenido de almidón (PcA) del material colecta 1 no injertado y colecta 1 injertado en respuesta a tratamiento con frío (cámara 1).

Material	Variable	Testigo Cámara 2			Tratamiento Cámara 1		
		1día	7días	14días	1día	7días	14días
Colecta 1 No Injertado	PcG (μ mol/g)	3.46a	9.96b	10.65a	3.87a	14.34a	8.44a
	PcF (μ mol/g)	1.49b	3.72b	5.65b	5.56a	8.25a	10.39a
Injertado (CN)	PcS (μ mol/g)	0.31a	0.23b	0.51a	0.27a	0.53a	0.34b
	PcA (μ mol/g)	0.85b	1.32a	0.84a	1.88a	1.95a	1.00a
Colecta 1 Injertado (CI)	PcG (μ mol/g)	6.88a	10.92a	5.25b	5.79a	13.11a	8.30a
	PcF (μ mol/g)	5.64b	4.61b	5.65b	7.79a	11.09a	11.14a
	PcS (μ mol/g)	0.10b	0.21a	0.40a	0.24a	0.25a	0.33a
	PcA (μ mol/g)	1.51a	2.19a	1.06a	1.27a	1.00b	0.94a

Medias con la misma letra en la variable y día de muestreo no son significativamente diferente (prueba de Tukey).

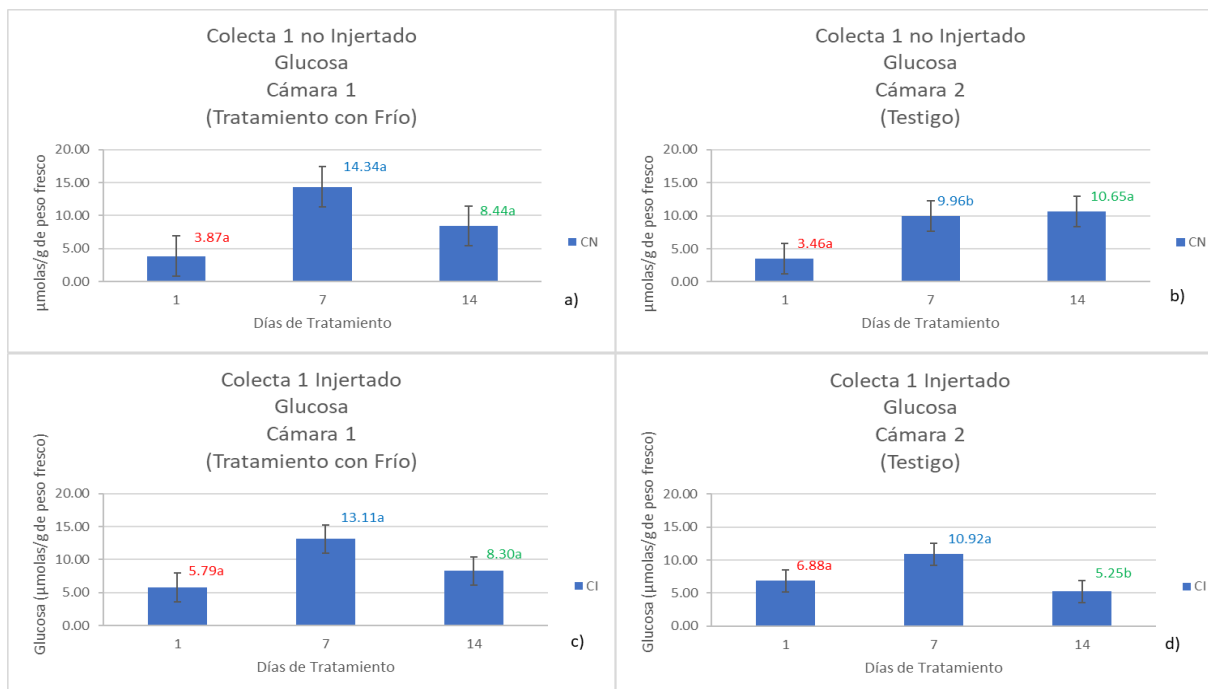


Figura 34. Contenido de Glucosa en el material de aguacate Colecta 1 no injertado (CN) (a, b) e injertado (CI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

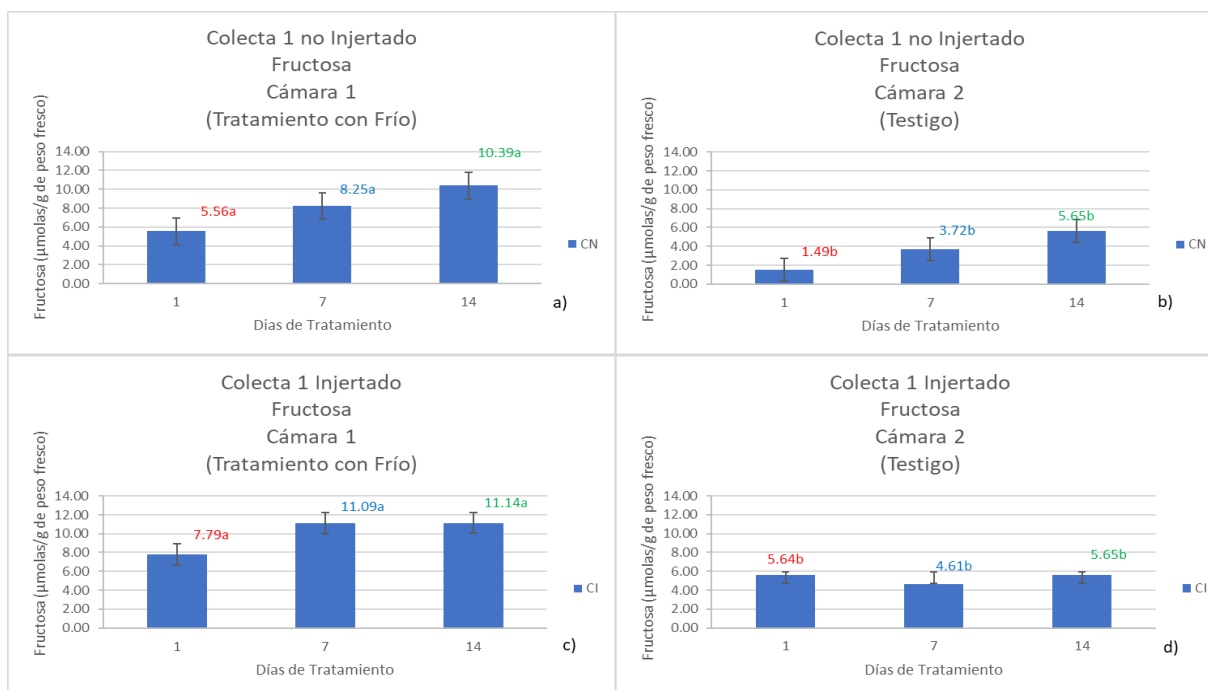


Figura 35. Contenido de Fructosa en el material de aguacate Colecta 1 no injertado (CN) (a, b) e injertado (CI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

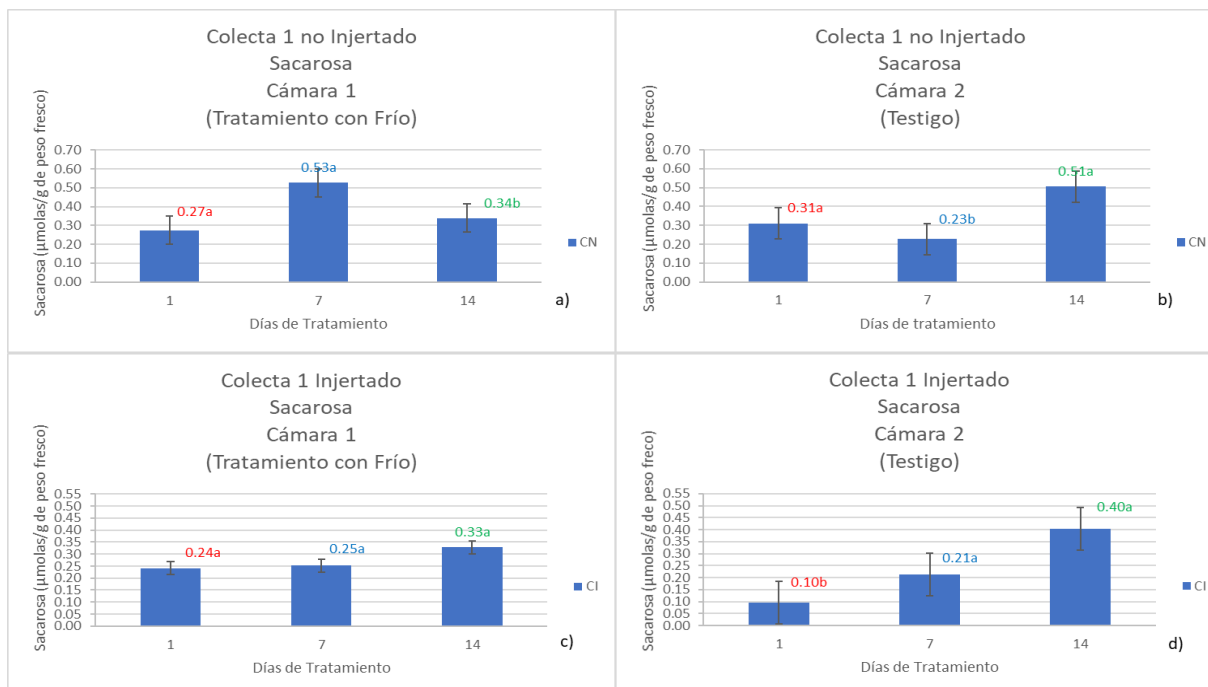


Figura 36. Contenido de Sacarosa en el material de aguacate Colecta 1 no injertado (CN) (a, b) e injertado (CI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

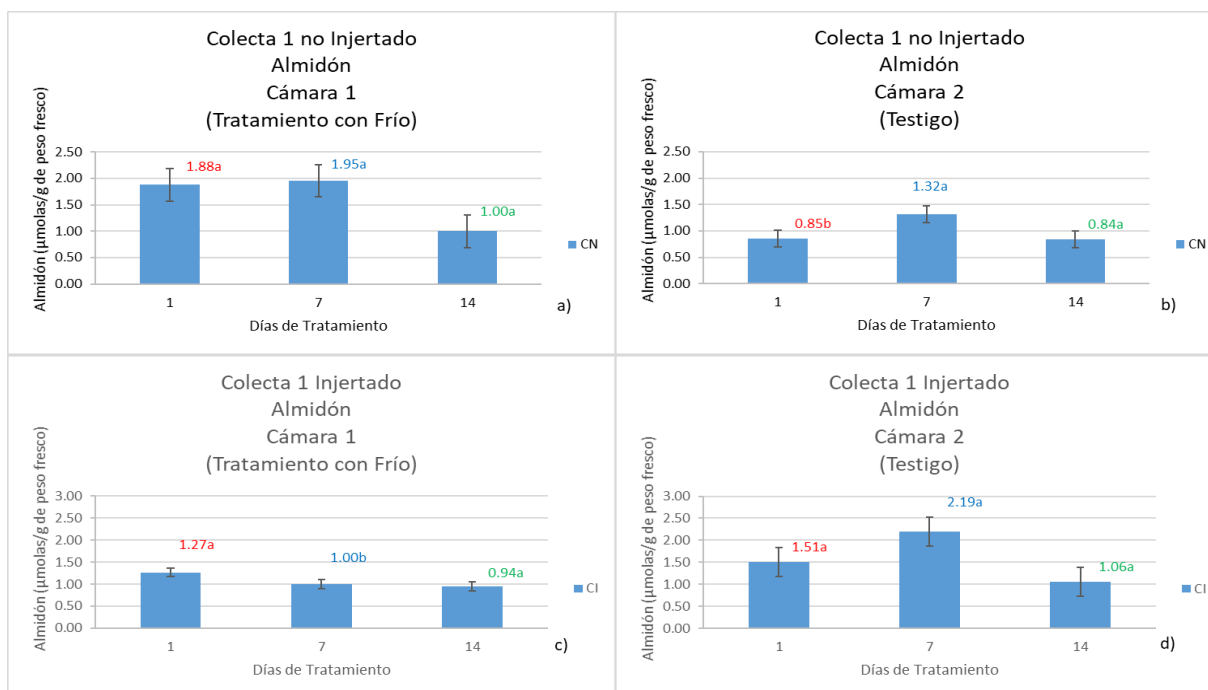


Figura 37. Contenido de Almidón en el material de aguacate Colecta 1 no injertado (CN) (a, b) e injertado (CI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

5.6.3. Tepetl

El contenido de azúcares en el material de tepetl (Cuadro 8), registro un promedio de contenido de glucosa (PcG) en las plantas no injertadas de la cámara 1 (tratamiento con frío) con diferencias superiores en las muestras realizadas los días 7 y 14 en comparación al testigo (Figura 38a); para las plantas injertadas de la cámara 1 (tratamiento con frío) son significativamente mayor en las las muestras realizadas los días 7 y 14 en comparación al testigo (Figura 38c); el promedio del contenido de fructosa (PcF) es significativamente mayor en los tres muestreos realizados el día 1, 7 y 14 en las plantas no injertadas (Figura 39a) y en las plantas injertadas (Figura 39c); el contenido de sacarosa (PcS) para las plantas no injertadas es significativamente mayor en la muestra del día 7 (Figura 40a), para las plantas injertadas de la cámara 1 (tratamiento con frío) es significativamente mayor en la muestra del día 14 en comparación al testigo (Figura 40c). Para el promedio del contenido de almidón (PcA) en las plantas no injertadas (Figura 41a) y en las plantas injertadas (Figura 41c) no presentan diferencia significativa en comparación al testigo.

Cuadro 8. Promedio de contenido de glucosa (PcG), promedio del contenido de Fructosa (PcF), promedio del contenido de sacarosa (PcS) y promedio del contenido de almidón (PcA) del material tepetl no injertado y tepetl injertado en respuesta a tratamiento con frío (cámara 1).

Material	Variable	Testigo Cámara 2			Tratamiento Cámara 1		
		1día	7días	14días	1día	7días	14días
Tepetl	PcG (μmol/g)	4.32a	8.67b	7.82b	5.49a	17.48a	25.47a
No	PcF (μmol/g)	1.38b	4.54b	5.57b	5.90a	9.62a	13.04a
Injertado	PcS (μmol/g)	0.19a	0.15b	0.53a	0.29a	0.63a	0.54a
(TN)	PcA (μmol/g)	1.54a	1.98a	1.12a	2.10a	1.62a	1.77a
Tepetl	PcG (μmol/g)	5.74a	4.51b	5.23b	5.58a	14.71a	13.53a
Injertado	PcF (μmol/g)	4.80b	4.40b	5.15b	8.08a	11.20a	15.48a
(TI)	PcS (μmol/g)	0.17a	0.33a	0.42b	0.05b	0.10b	1.46a
	PcA (μmol/g)	1.72a	2.36a	1.33a	1.78a	0.88b	1.24a

Medias con la misma letra en la variable y día de muestreo no son significativamente diferente (prueba de Tukey).

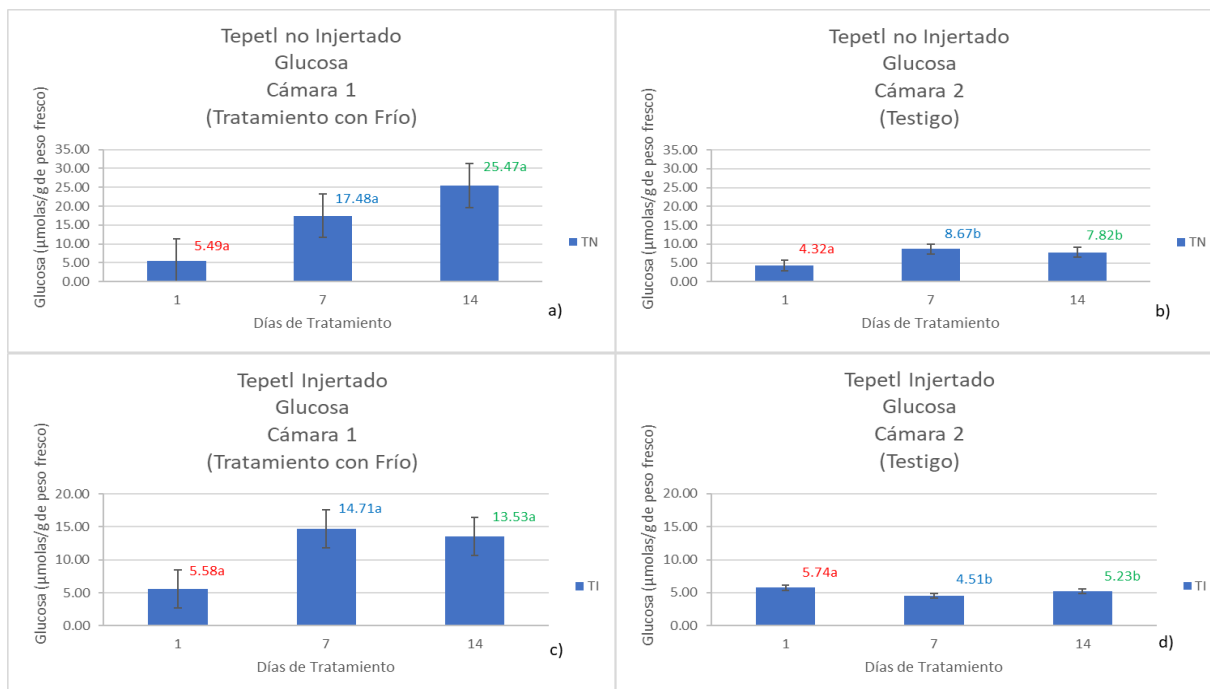


Figura 38. Contenido de Glucosa en el material de aguacate Tepetl no injertado (TN) (a, b) e injertado (TI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

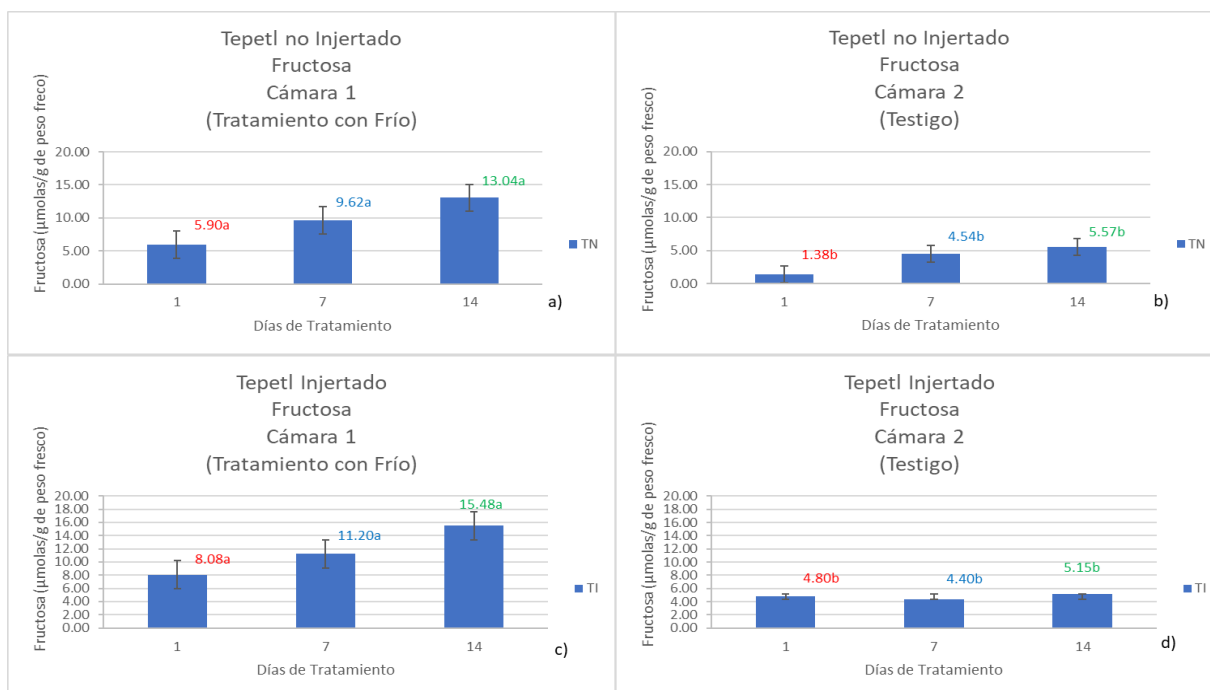


Figura 39. Contenido de Fructosa en el material de aguacate Tepetl no injertado (TN) (a, b) e injertado (TI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

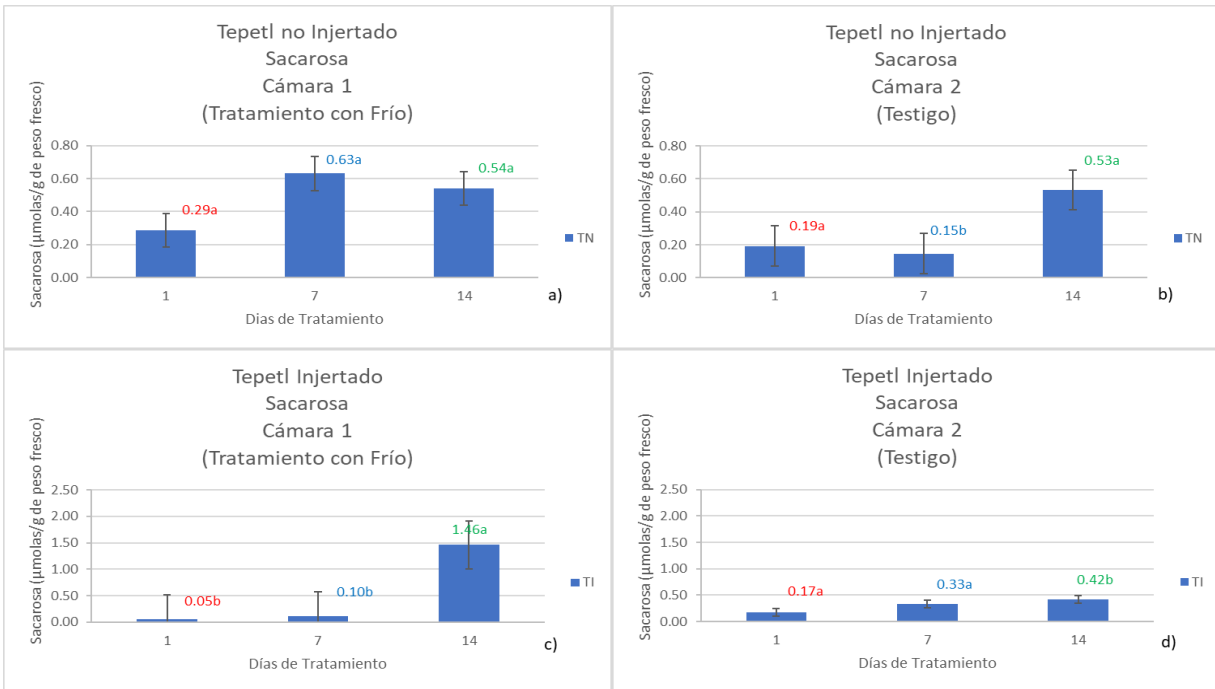


Figura 40. Contenido de Sacarosa en el material de aguacate Tepetl no injertado (TN) (a, b) e injertado (TI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

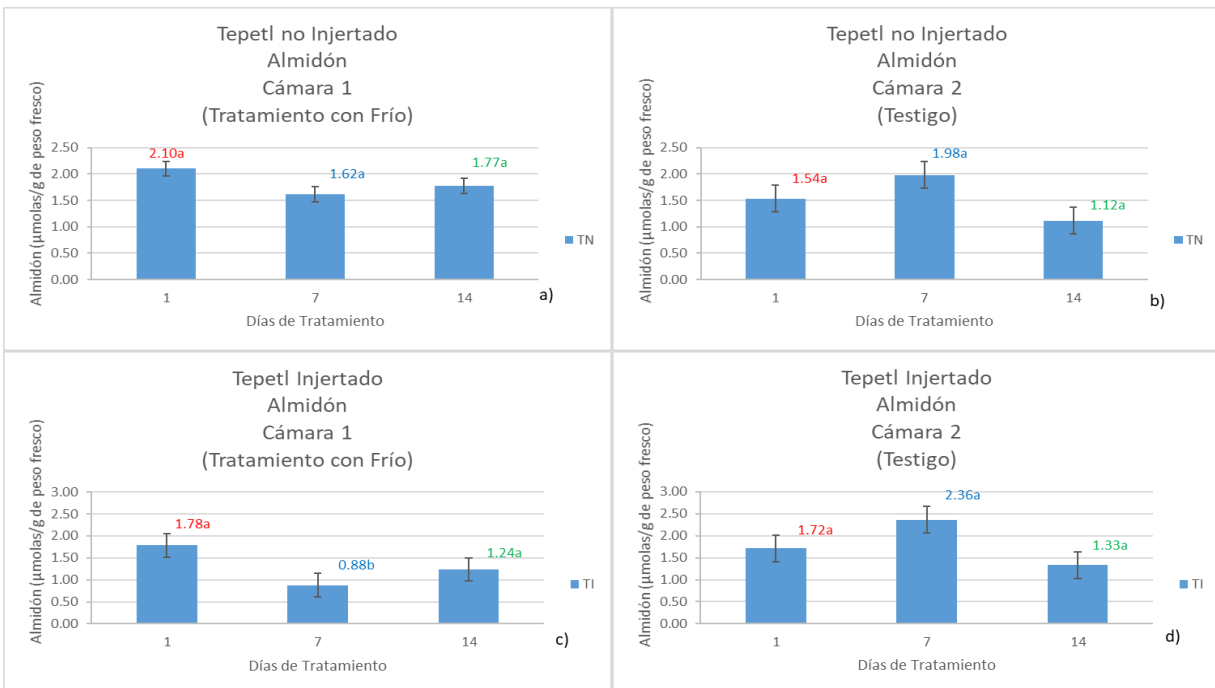


Figura 41. Contenido de Almidón en el material de aguacate Tepetl no injertado (TN) (a, b) e injertado (TI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

5.6.4. Duke 7

El contenido de azúcares en el material de duke 7 (Cuadro 9), registro un promedio de contenido de glucosa (PcG) significativamente mayores en las muestras de los días 1, 7 y 14 en las plantas no injertadas (Figura 42a) y las plantas injertadas (Figura 42c) de la cámara 1 (tratamiento con frío) en comparación al testigo de la cámara 2; para el caso del contenido de fructosa (PcF) es significativamente mayor en los tres muestreos realizados el día 1, 7 y 14 en las plantas no injertadas (Figura 43a) y de igual forma en las plantas injertadas (Figura 43c) en comparación al testigo; el contenido de sacarosa (PcS) para las plantas no injertados es significativamente mayor en la muestra del día 1 (Figura 44a), y para las plantas injertadas (Figura 44c) es significativamente mayor en las muestras del día 1 y 7, en comparación al testigo de la cámara 2. El promedio del contenido de almidón (PcA) en las plantas no injertadas es significativamente mayor en la muestra del día 7 (Figura 45a); y en las plantas injertadas no se registraron diferencias significativas en ninguna muestra realizada (Figura 45c) en comparación a los resultados de las muestras del testigo de la cámara 2.

Cuadro 9. Promedio de contenido de glucosa (PcG), promedio del contenido de Fructosa (PcF), promedio del contenido de sacarosa (PcS) y promedio del contenido de almidón (PcA) del material duke 7 no injertado y duke 7 injertado en respuesta a tratamiento con frío (cámara 1).

Material	Variable	Testigo Cámara 2			Tratamiento Cámara 1		
		1día	7días	14días	1día	7días	14días
Duke 7 No Injertado	PcG ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	6.02b	5.93b	6.70b	17.03a	13.93a	12.48a
	PcF ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	1.33b	4.36b	5.66b	7.52a	10.15a	13.63a
(DN)	PcS ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.14b	0.22a	0.29a	0.23a	0.27a	0.25a
	PcA ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	1.18a	0.79b	0.97a	1.55a	1.37a	0.88a
Duke 7 Injertado	PcG ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	7.67b	10.30b	6.24b	22.02a	21.03a	12.41a
	PcF ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	5.59b	6.46b	7.81b	13.59a	11.36a	15.88a
(DI)	PcS ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	0.14b	0.10b	0.43a	0.46a	0.32a	0.13b
	PcA ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	1.91a	1.94a	0.90a	1.67a	1.33a	1.05a

Medias con la misma letra en la variable y día de muestreo no son significativamente diferente (prueba de Tukey).

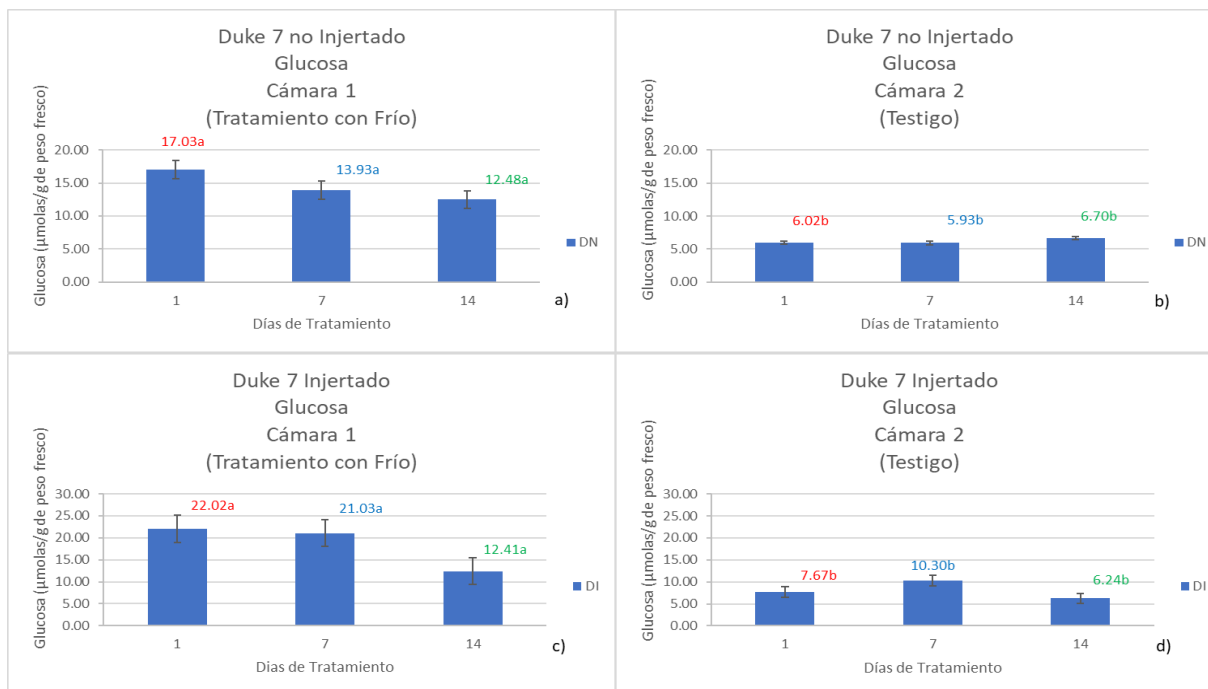


Figura 42. Contenido de Glucosa en el material de aguacate Duke 7 no injertado (DN) (a, b) e injertado (DI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

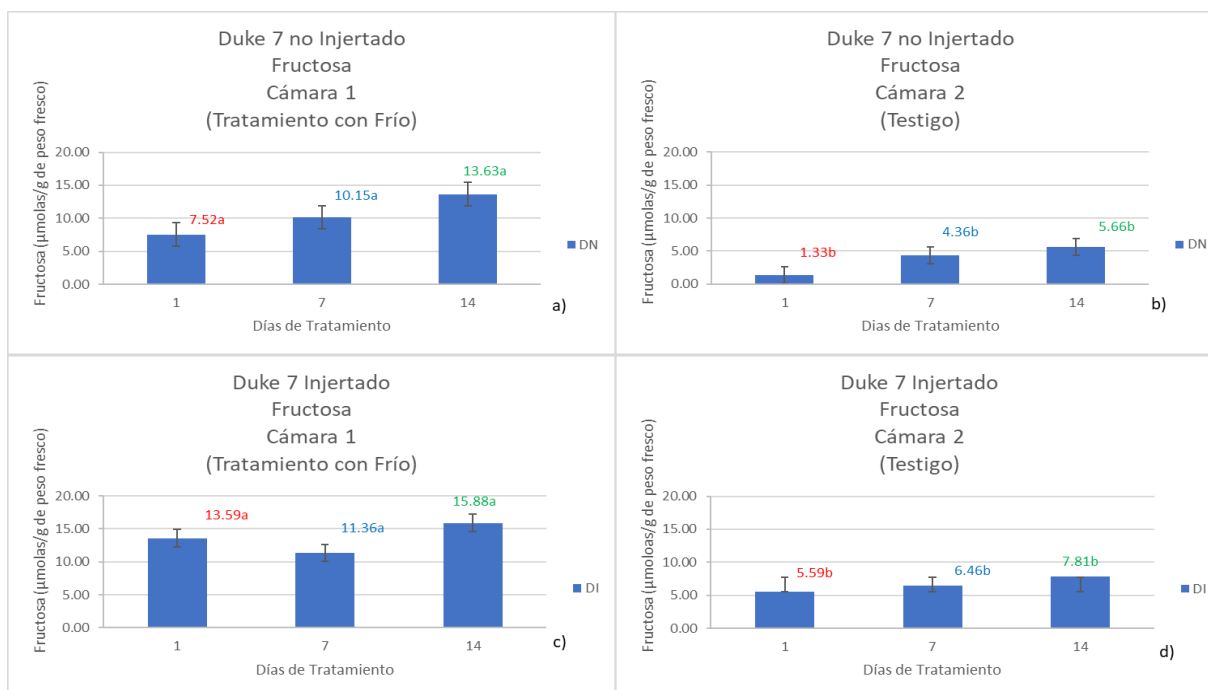


Figura 43. Contenido de Fructosa en el material de aguacate Duke 7 no injertado (DN) (a, b) e injertado (DI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

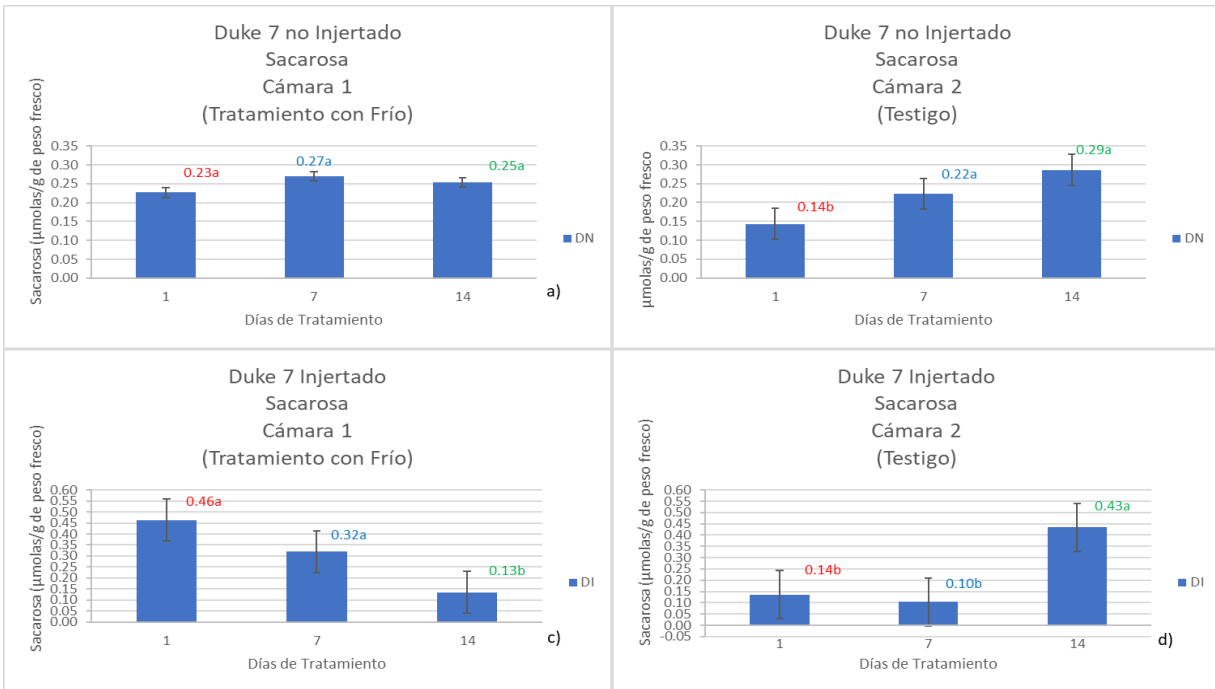


Figura 44. Contenido de Sacarosa en el material de aguacate Duke 7 no injertado (DN) (a, b) e injertado (DI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

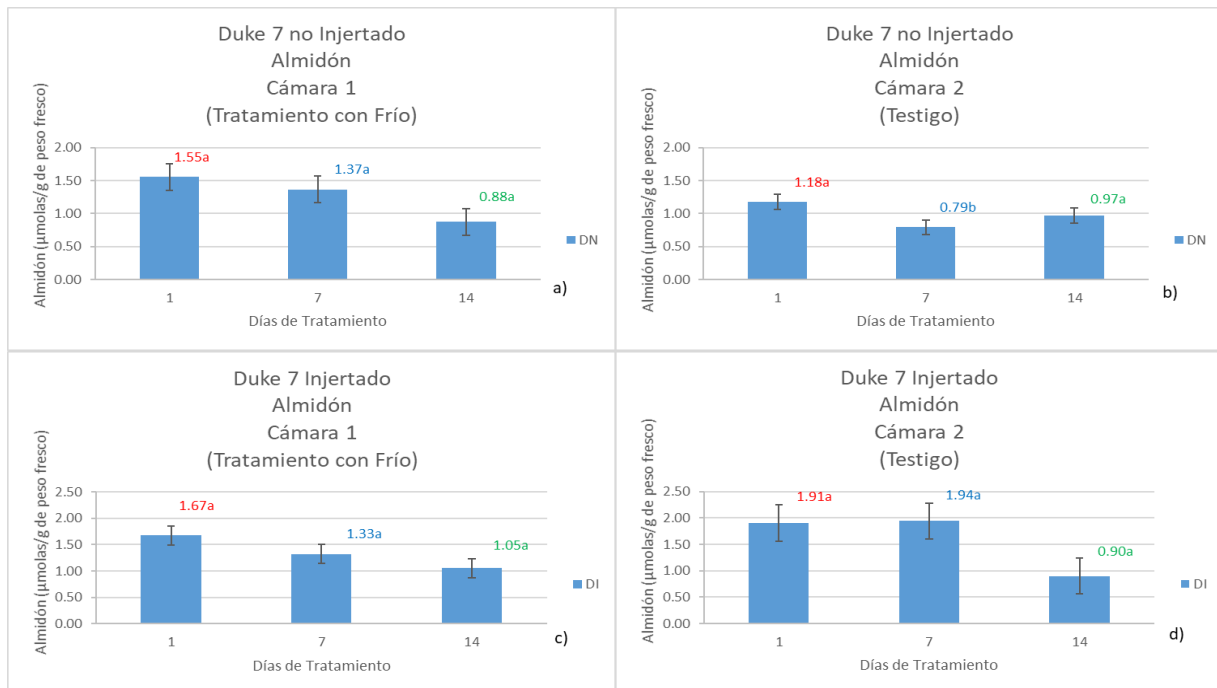


Figura 45. Contenido de Almidón en el material de aguacate Duke 7 no injertado (DN) (a, b) e injertado (DI) (c, d), en respuesta al tratamiento con frío (cámara 1), donde las medias con letra diferente y mismo color son significativamente diferentes según la prueba de Tukey.

VI. CONCLUSIONES

En este trabajo la evaluación de azúcares solubles principalmente glucosa y fructosa demuestra que su concentración es diferente en los 4 materiales de la raza mexicana (Aceitoso, Colecta 1, Tepetl y Duke 7) y el factor de baja temperatura provocó un incremento en los puntos de demanda (hojas jóvenes de brotes vegetativos) como respuesta de protección ante condiciones ambientales adversas.

La respuesta de incremento de glucosa causado por estrés por bajas temperaturas, afectó directamente al portainjerto modificando la concentración de glucosa en el injerto (variedad 'Hass'); por lo que, el injerto depende de la concentración de glucosa del portainjerto.

La percepción de temperatura de las plantas de aguacate injertadas y no injertadas, a las 24h de frío continuo, incrementó la concentración de fructosa, como respuesta inmediata de protección ante condiciones adversas por bajas temperaturas y se mantiene hasta los 14 días (fin del tratamiento).

En relación al contenido de sacarosa como principal fuente de energía bioquímica se observó que bajo condiciones estresantes de frío no es afectada en los materiales sin injertar; sin embargo, en los materiales injertados con 'Hass' el incremento es variable y se marca continuo sólo en el material Aceitoso injertado (AI).

Considerando que las hojas son tejidos que acumulan transitoriamente almidón, se observó que este no es afectado por el estrés por frío y que no aumenta su concentración en los puntos de demanda de la planta de aguacate por efecto de las bajas temperaturas.

Los materiales que presentaron crecimiento bajo condiciones de frío fueron Aceitoso y Colecta 1 injertados y sin injertar, pero la mayor concentración de azúcares principalmente glucosa y fructosa se registró en el material Duke 7.

El material con mayor concentración de glucosa y fructosa bajo condiciones de frío fue el material de Duke 7; por lo que, considerando esto como un criterio de tolerancia, este portainjerto podría tener mayor tolerancia al frío y recomendarse como portainjerto de la variedad 'Hass' en zonas con temperaturas que oscilen entre 15.61°C promedio en el

día y 4.40°C promedio en la noche, no obstante, su capacidad de crecimiento en el periodo frío fue imperceptible.

VII. LITERATURA CITADA

- Anderson, E.N. 2003. Those who bring the flowers: Maya ethnobotany in Quintana Roo, Mexico. Ecosur, San Cristóbal, México.
- Andrade H. 2015. Mecanismos de defensa en portainjertos de aguacate ante *Phytophthora cinnamomi* Rands. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.2. 15 de febrero al 31 de marzo, 2015. P. 347-360.
- Alexander, D.M. 1983. Avocado performance in Sunraysia. In: allen, R.N. (ed) Proceedings of the 2nd Australian Avocado Research Workshop. Agriculture Research Centre, wollongbar, Australia. pp. 41-43.
- Almeraya É. V. y E. Quintanar S. 2015. Adaptaciones fotosintéticas en las plantas para mejorar la captación del carbono. Comunicaciones libres. https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/66_4/PDF/AdaptacionesFotosinteticas.pdf.
- Ayala. 2010. Relaciones Injerto-Interinjerto y características anatómicas y fisiológicas de la hoja de cuatro genotipos de Aguacate. Revista Chapingo Serie Horticultura 16(2): 147-154.
- Azcón-Bieto J., Talón M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Capítulo 29: Fisiología de las plantas y el estrés (2nd ed.) Interamericana-McGraw-Hill, Madrid, pp. 577-597.
- Baguma, Y., Sun, Ch., Ahlandsberg, S., Mutisya, J., Palmqvist, S., Rubaihayo, P., Magambo, M., Egwang, T., Larsson, H & Jansson, C. 2003. Expression patterns of the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Plant Sci 164: 833-839.
- Barrientos-Priego, A. F. 2017. Presente y Futuro de los portainjertos y variedades de Aguacate en el mundo y México. Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate. Ciudad Guzmán, Jalisco, México.
- Barrientos-Priego, A. F.; Muñoz-Pérez, r. B.; Borys, M. W.; martínez-damián, M. T. 2000. Cultivares y portainjertos del aguacate, In: El Aguacate y su Manejo Integrado pp. 35-54.
- Bahaji A., Baroja-Fernandez E., Ricarte-Bermejo A., Sanchez -Lopez A. M., jose-muñoz F., Romero J. M., Ruiz M. T., Baslam M., Almagro G., Sesma M. T., Pozueta-Romero J. 2015. Characterization of multiple SPS knockout mutants reveals redundant functions of the four Arabidopsis sucrose phosphate synthase isoforms in plant viability, and strongly indicates that enhanced respiration and accelerated starch turnover can alleviate the blockage of sucrose biosynthesis. Plant Science. Vol 238. 135-147.
- Baslam M., Baroja-Fernández E., Ricarte-Bermejo A., Sánchez-López A M., Aranjuelo I., Bahaji A., et al. 2017. Evidencia espectrométrica de masas de proporción genética

- e isotópica de la ocurrencia de degradación y ciclo del almidón en hojas de *Arabidopsis* iluminadas. PLoS ONE 12(2): e0171245.
- Becerra, V.V., Paredes, C.M. 2000. Uso de Marcadores Bioquímicos y Moleculares en estudios de diversidad Genética. Agric. Téc. v.60 n.3. Instituto de investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Casilla 426, Chillán, Chile.
- Ben-Ya'acov, A.; Solis-Molin, A. y Bufler, G. 2003. The mountain avocado of Costa Rica *Persea americana* var. *costarricense*, a new subspecies. En: Proceeding of the 5th world avocado congress: October: Granada, 2003. pp. 19-24. Spain, pp. 27-33.
- Bergh, B.O., and Ellstrand, N. 1986. Taxonomy of the avocado. California Avocado Society yearbook 70, 135-145.
- Bergh, B.O. 1992. The origin nature and genetic, improvement of avocado. California Avocado Society Yearbook. 76, 61-75.
- Chanta A. J., Eneque G. W., Sevilla B. D. 2015. Fisiología de las plantas a bajas temperaturas. Universidad Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
- Crane J. H., Douhan G., Faber B. A., Arpia M. L., Bender G. S., Balerdi C. F. y Barrientos Priego A. F. 2013. The avocado. Botany. Cultivares y portainjertos. Production and uses. Editions Universitarias de Valparaiso. Chile.
- Coates, L.M., Dann, E.K., Shuey, L.S., Smith, L.A., Dean, J.R., Cooke, A.W., Pegg, K.G., Hofman, P.J. Marques, R., Stubbings, B. and Whiley, A.W. 2011. Effects of rootstocks on avocado fruit quality-assessment of postharvest disease, major cations and biochemical traits. Proceedings of the VII World Avocado Congress, Cairns Australia. 9pp.
- Comparot-Moss, S. y Denyer, K. 2009. The evolution of the starch biosynthetic pathway in cereals and other grasses. Journal of Experimental Botany 60, 2481-2492.
- Dahal, K., Kane, K., Gadapati, W., Webb, E., Savitch, L. V., Singh, J., Sharma, P., Sarhan, F., Longstaffe, F. J., Grodzinski, B., *et al.* 2012. The effects of phenotypic plasticity on photosynthetic performance in winter rye, winter wheat and *Brassica napus*. *Physiol. Plant.* 144. 169-188.
- Dickson, R. E., Tomlinson, P. T. y Isebrands, J.G. 2000. Allocation of current photosynthate and changes in tissue dry weight within northern red oak seedlings: individual leaf and flush carbon contribution during episodic growth. Canadian Journal of forest research. 30. 1296-1307.
- Ernst, A. A., Whiley A. W. y Bender G. S. 2013. The avocado. Botany, Production and uses. Propagation. Editions Universitarias de Valparaiso. Chile.
- FAO-Report. 2004. Market Segmentation of major avocado markets. www.fao.org/ES/ESC/common/ecg/226/en/avocados_web.pdf.

- FAO. 2020. Las principales frutas tropicales Análisis del mercado 2018. Roma. FAO pp 8-9.
- Fedoroff N, Battisti D, Beachy R, Cooper P, Fischhoff D, Hodges C, Knauf V, Lobell D, Mazur B, Molden D. 2010. Radically rethinking agriculture for the 21st century *Science* 327:833-834.
- Gallino, J. P.; Fernández, M.; Tapias, R.; Alcuña, M. M. y Cañas, I. (2007). Aclimatación al frío en diferentes clones de *Eucalyptus globulus* Labill durante el régimen natural de endurecimiento. *Bol. Inf. CIDEU* 4:77-83.
- Gao J P, D Y Chao, H X Lin. 2008. Toward understanding molecular mechanisms of abiotic stress responses in rice. *Rice* 1:36-51.
- García-Pérez M.C. y López, M. G. 2016. "Factors affecting fructosyltransferases and fructan exohydrolase activities in *Agave tequilana* Weber var. azul", *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, vol. 25, nº 2, pp. 147–154.
- Geigenberger, P., Kolbe, A., y Tiessen, A. (2005). Redox regulation of carbon storage and partitioning in response to light and sugars. *Journal of Experimental Botany* 56, 1469-1479.
- Gianquinto, G., Sambo P., Bona S. 2003. The use of SPAD-502 chlorophyll meter for dynamically optimizing the nitrogen supply in potato crop. A methodological Approach. *Acta Horticulturae*, 32(607).197-204.
- Hannah M.A., Heyer A.G., Hinch D.K. 2005. A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*; 1: e26.
- Hannah, M. A., Wiese, D., Freund, S., Fiehn, O., Heyer, A. G., Hinch, D. K. 2006. Natural genetic variation of freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* vol. 142 pp. 98-112.
- Hames, B. D. y Rickwood. D. 1990. Gel electrophoresis of proteins. 2ª ed. IRL Press at Oxford University Press, Oxford. pp 383.
- Heldt, H. W. 2005. "Plant Biochemistry" (H.-W. Heldt, and F. Held, eds.), 3rd Edition, 630 p. Elsevier.
- Hopkins, W., Huner, N. 2004. Introduction to plant Physiology. New York: John Wiley.
- Hunter, R.L. y Markert, C.L. 1957. Histochemical Demonstration of Isozymes Separated by Zone Electrophoresis in Starch Gels. *Science*, 125, 1294-1295.
- Ivanov, A. G., Sane, P. V., Hurry, V., Oquist, G., Huner, N. P. 2008. Photosystem II reaction centre quenching: Mechanisms and physiological role. *Photosynth. Res.* 98. 565-574.
- Ivanov, A.G., Rosso, D., Savitch, L. V., Stachula, P., Rosembert, M., Oquist, G., Date prisa, V., Huner, N. P. 2012. Implications of alternative electron sinks in increased

- resistance of PSII and PSI photochemistry to high light stress in cold-acclimated *Arabidopsis thaliana*. *Photosynth. Res.* 113. 191-206.
- Jang, IC; Oh, SJ; Seo, JS; Choi, WB; Song, SI; Kim, CH; Kim, YS; Seo, HS; Choi, YD; Nahm, BH; *et al.* 2003. Expresión de una fusión bifuncional del *Escherichia coli* Los genes de trehalosa-6-fosfato sintasa y trehalosa-6-fosfato fosfatasa en plantas de arroz transgénicas aumentan la acumulación de trehalosa y la tolerancia al estrés abiótico sin retraso en el crecimiento. *Plant Physiol.* 131, 516–524.
- Keller, M. 2010. *The science of grapevines: anatomy and physiology.* Elsevier Inc. EE.UU. 376 pp.
- Kerbler M.S., Taylor N. L., Harvey Millar A. 2018. Cold sensitivity of mitochondrial ATP synthase restricts oxidative phosphorylation in *Arabidopsis thaliana*. 221: 1776–1788.
- Knight, R.J. 2002. History, distribution and uses. In: Wiley, A.W., Schaffer, B. and Wolstenholme, B.N. (eds) *The Avocado: Botany, Production and uses*, 1st ed. CAB International, Wallingford, UK, pp. 1-14.
- Knight M.R., Knight H. 2012. Low-temperature perception leading to gene expression and cold tolerance in higher plants. *New Phytologist*, 195: 737-751.
- Kratsch H.A., Wise R.R. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell and Environment*; 23: 337-350.
- Komatsu, S., Yang, G., Khan, M., Onodera, H., Toki, S., Yamaguchi, M. 2007. Overexpression of calcium dependent protein kinase 13 and calreticulin interacting protein 1 confers cold tolerance on rice plants. *Molecular Genetics and Genomics*, 277: 713-723.
- Koroleva, O. A., Farrar, J. F., Deri Tomos, A., and Pollock, C. J. 1998. Carbohydrates in individual cells of epidermis, mesophyll, and bundle sheath in barley leaves with changed export or photosynthetic rate. *Plant Physiology* 118, 1525-1532.
- Lahav, E. and Trochoulis, T. 1982. The effect of temperature on growth and dry matter production of avocado plants. *Australian journal of Agricultural Research* 33. 549-558.
- Lacono, F.; Buccella, A.; Peterlunger, E. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae* 75(1): pp 27-39.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lambers H., Stuart-Chapin III F., Pons T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology.* SpringerVerlag, New York.

- Liu, X., Mickelbart, M. V. Robinson, P.W. Hofshi, R. and Arpaia, M. L. 2002. Photosynthetic characteristics of avocado leaves. *Acta Horticulturae* 575, 865-874.
- Liu, L., Duan, L., Zhang, J., Zhang, Z., Mi, G., Ren, H. 2010. Pepino (*Cucumis sativus* L.) que sobre expresa el regulador del transcriptoma inducido por frío ICE1 exhibe caracteres morfológicos modificados y mejora la tolerancia al frío. *Sci. Hortico.*2010, 124, 29–33. 33.
- Lockard, R. G., Schneider, G. W. 1981. Stock and scion relationships and the dwarfing mechanism in apple. *Horticultural Reviews* 3: 315-375.
- MacRae, E., y Lunn, J. 2012. Photosynthetic sucrose biosynthesis: An evolutionary perspective. In "Photosynthesis" (J. J. Eaton-Rye, B. C. Tripathy and T. D. Sharkey, eds.), Vol. 34, pp. 675-702. Springer Netherlands.
- Marschall, M., Sütő, S. y Szőke S., 2019 Comparative ecophysiological study of the seasonally dependent non-structural carbohydrate pool of the fructan-accumulating *Helianthus tuberosus*, *Cichorium intybus* and *Dactylis glomerata*. *Acta Biol. Plant. Agriensis.* vol. 7, pp. 81–115.
- Martínez Álvarez D, Rossato X, Bongiovanni M, Odetti JP, Martínez Bologna G y Camiolo F. 2020. El contenido de clorofila en hoja y su relación con el rendimiento, el híbrido y la densidad poblacional del cultivo de maíz. Dpto. de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de San Luis.
- Mclauchlan, A., Ogonnaya, F., Hollingsworth, B., Carter, M., Gale, K., Henry, R., Holton, T., Morell, M., Rampling, L., Sharp, P., Shariflou, M., Jones, M., Appels, R. 2001. Development of robust PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Aust J Agric Res.* 52(11-12):1409-1416.
- Méndez, A. M., Castillo, D., Del Pozo, A., Matus, I., and Morcuende, R. 2011. Differences in stem soluble carbohydrate contents among recombinant chromosome substitution lines (RCSLs) of barley under drought in a Mediterranean-type environment. *Agronomy research* 9, 433.
- Mickelbart, M.V. and Arpaia, M.L. 2002. Rootstock influences changes in ion concentrations, growth, and photosynthesis of 'Hass' avocado in response to salinity. *Journal of the American Society for Horticultural Science.* 127. 649-655.
- Mickelbart, M.V., Mesleer, S. and Arpaia, M.L. 2007. Salinity-induced changes in ion concentration of hass avocado trees on three rootstocks. *Journal of Plant Nutrition.* 30, 105-122.
- Minchin, P; Lacointe, A. 2005. New understanding on phloem physiology and possible consequences for modelling long-distance carbon transport. *New Phytol* 166.771-779.

- Miura K., Furumoto T. 2013. Cold Signaling and Cold Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 5312-5337.
- Montoliu A., 2010. Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos. Tesis doctoral. Universitat Jaume I.
- Nishida I. y Murata N. 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47: 541-568.
- Oquist, G., Huner, N. P. 2003. Photosynthesis of overwintering evergreen plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54. 329-355.
- Osmond, C.B. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. En: Baker, N.R. y J.R. Bowyer (eds.). *Photoinhibition of photosynthesis*. Oxford (BIOS Scientific). pp. 1-24.
- Osuna, D., Usadel, B., Morcuende, R., Gibon, Y., Bläsing, O. E., Höhne, M., Günter, M., Kamlage, B., Trethewey, R., Scheible, W.-R., and Stitt, M. 2007. Temporal responses of transcripts, enzyme activities and metabolites after adding sucrose to carbon-deprived *Arabidopsis* seedlings. *The Plant Journal* 49, 463-491.
- Padilla, Ch. D. y Martínez, B. E. 2007. Factores involucrados en la distribución de azúcares en las plantas vasculares: comunicación entre los tejidos fuente y tejidos demanda. Departamento de Bioquímica. Conjunto E. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. *REB* 26(3): 99-105.
- Paredes M. and Gepts, P. 1995. Extensive introgression of Middle American germplasm into Chilean common bean. *Gen. Res. and Crop Evo.* 42 :29-41.
- Pearce, R. S. (2001). Plant freezing and damage. *Ann. Bot.* 87:417-424.
- Peshev, D., Vergauwen, R., Moglia, A., Hideg, É., and Van den Ende, W. 2013. Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: A role for fructans?. *Journal of Experimental Botany* 64, 1025-1038.
- Pérez, P., Morcuende, R., Martín del Molino, I., Sánchez de la Puente, L., and Martínez-Carrasco, R. 2001. Contrasting responses of photosynthesis and carbon metabolism to low temperatures in tall fescue and clovers. *Physiologia Plantarum* 112, 478-486.
- Poirier M., Lacoite, A. y Améglio, T. 2010. A semi-physiological model of cold hardening and dehardening in walnut stem. *Tree Physiol.* 30:1555-1569.
- Pollock, C. J., and Cairns, A. J. 1991. Fructan metabolism in grasses and cereals. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 77-101.
- Praloran, J. C. 1970. Le climat des aires d'origine des avocatiers. *Fruits* 25. 543-557. In French.

- Rigui A.P. *et al.* 2019. Fructan y antioxidant metabolisms in plants of *Lolium perenne* under drought are modulated by exogenous nitric oxide. *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 145, pp. 205–215.
- Rodríguez M, E Canales, O Borrás-Hidalgo. 2005. Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Biotechnol. Apl.* 22:1-10.
- Scofield, G. N., Ruuska, S. A., Aoki, N., Lewis, D. C., Tabe, L. M., and Jenkins, C. L. D. 2009. Starch storage in the stems of wheat plants: localization and temporal changes. *Annals of Botany* 103, 859-868.
- Schaffer, B., Woltenholme, B. N. and Wwhiley, A. W. 2013. The avocado. *Botany, Production and uses*. Editions Universitarias de Valparaiso. Chile.
- Serrato, A. J., Barajas-López, J. D., Chueca, A., Sahrawy M. 2009. Changing sugar partitioning in FBPase-manipulated plants. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 60. No. 10. pp. 2923–2931.
- Shi Y., Ding Y., Yang S. 2015. Cold Signal Transduction and its Interplay with Phytohormones During Cold Acclimation. *Plant Cell Physiol.*, 56 (1): 7-15.
- SIAP. 2020. Boletín mensual de avance de la producción de Aguacate. <https://www.gob.mx/siap/documentos/boletin-mensual-de-avances-de-la-produccion-de-aguacate-103935?idiom=es>.
- Smith, C.E. 1966. Archaeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany*. 20, 169-175.
- Smith, C.E. 1969. Additional notes on prequest avocados in México. *Economic Botany*. 23, 135-140.
- Stitt, M., Huber, S., and Kerr, P. 1987. Control of photosynthetic sucrose formation. In "The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise" (M. Hatch and N. Boardman, eds.), Vol. 8, pp. 327-409. Academic, New York.
- Storey, W.B., Bergh, B.O., and Zentmyer, G.A. 1986. The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*. 70, 127-133.
- Sulpice, R., Pyl, E.-T., Ishihara, H., Trenkamp, S., Steinfath, M., Witucka-Wall, H., Gibon, Y., Usadel, B., Poree, F., Piques, M. C., Von Korff, M., Steinhäuser, M. C., Keurentjes, J. J. B., Guenther, M., Hoehne, M., Selbig, J., Fernie, A. R., Altmann, T., and Stitt, M. 2009. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 10348-10353.
- Vijn, I., and Smeekens, S. 1999. Fructan: More than a reserve carbohydrate?. *Plant Physiology* 120, 351-360.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2004. *Fisiología Vegetal*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 719 pp.
- Theocharis A., Clement C., Barka E. A. 2012. Physiological and molecular changes in plants at low temperatures. *PubMed*. 235(6): 1091-105.

- Tyystjarvi, E. 2013. Photoinhibition of photosystem II. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 300. 243-303.
- Van den Ende, W., 2018. “Novel fructan exohydrolase: unique properties and applications for human health”, *J. Exp. Bot.*, vol. 69, n° 18, pp. 4227– 4231.
- Verspreet, J., Cimini, S., Vergauwen, R., Dornez, E., Locato, V., Le Roy, K., De Gara, L., Van den Ende, W., Delcour, J. A., and Courtin, C. M. 2013. Fructan metabolism in developing wheat (*Triticum aestivum* L.) kernels. *Plant and Cell Physiology* 54(12), 2047–2057.
- Whiley A. W. 1990. CO₂ assimilation of developing shoots of cv ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.) a preliminary report. *South African Avocado Growers’ Association Yearbook* 13:28-30.
- Whiley, A.W. 1992. Avocado varieties and rootstocks a review, In: *Proceedings of the Avocado Research Workshop*. Queensland Department of Primary Industries, Brisbane, Australia, pp. 15-20.
- Whiley, A.W. 1994. Ecophysiological studies and tree manipulation for maximization of yield potential in avocado (*Persea americana* Mill.). PhD thesis, University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Willingham, S.L. Pegg, K.G., Anderson, J.M. Cooke, A.W. Dean, J.R. Giblin, F.R. and Coates, L.M. 2006. Effect of rootstocks and nitrogen fertilizer on postharvest antracnose development in hass avocado. *Australian Plant Pathology*. 35 619-629.
- Wolstenholme B. N. 1990. Resource allocation and vegetative reproductive competition: opportunities for manipulation in evergreen fruit trees. *Acta Horticulturae* 275:451- 459.
- Wolstenholme B. N. 2013. *The avocado. Botany, Production and uses*. Ecologia: clima y suelo. Ediciones Universitarias de Valparaiso. Chile.
- Zeeman, S. C., Delatte, T., Messerli, G., Umhang, M., Stettler, M., Mettler, T., Streb, S., Reinhold, H., y Kötting, O. 2007. Starch breakdown: recent discoveries suggest distinct pathways and novel mechanisms. *Functional Plant Biology* 34, 465-473.
- Zentmeyer, G.A., Guillemet, F.B., Goodall, G., Gustafson, C.D. and Lee, B.W. 1976. Avocado rootstocks resist ant to *Phytophthora cinnamomi*. *California Avocado Society Yearbook*. 60, 165-167.