Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2008, 25: 525-549

Alteraciones histológicas ocasionadas por el ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) a pedúnculos y sépalos de frutos de *Psidium guajava* L.

Histological alterations caused by *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) to peduncles and sepals of *Psidium guajava* L.

G. Rivero-Maldonado[1], A. Sánchez-Urdaneta[1], M. Quirós de G[2]., M.E. Sanabria[4], C. Colmenares[3] y J. Ortega[3]

[1]Departamento de Botánica. [2]Departamento Fitosanitario, Museo de Artrópodos. [3]Departamento de Estadística. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Apartado 15205. Maracaibo, Zulia, 4005, Venezuela.
[4]Decanato de Agronomía. Laboratorio de Microtecnia e Histología Vegetal. Universidad Centro-occidental "Lisandro Alvarado". Apartado 400. Barquisimeto, Lara, Venezuela.

Resumen

Se describen cualitativa y cuantitativamente las alteraciones histológicas ocasionadas por *Brevipalpus phoenicis* a sépalos y pedúnculos de frutos pequeños, medianos y grandes de *Psidium guajava* L. Estructuras físicamente sanas, con daño moderado y severo causado por el ácaro se recolectaron de plantas establecidas en el Centro Frutícola del Zulia- CORPOZULIA, municipio Mara (19º83'53" LN y 19º65'09" LE), Venezuela. Las secciones transversales sanas y dañadas se microfotografiaron y digitalizaron con el programa Image Pro Plus®, a fin de establecer comparaciones mediante la cuantificación realizada con el programa Image Tool®. Las variables evaluadas fueron: espesor de la epidermis o del estrato superficial necrosado, espesor del parénquima, número de células con fenoles (NCF); número de braquiesclereidas (NB) y el espesor de su pared celular. Los procedimientos estadísticos aplicados fueron análisis de varianza, prueba de comparación de medias (Tukey y DMS) y análisis de frecuencias. Los resultados determinaron que los tejidos epidérmicos y parenquimáticos de sépalos y pedúnculos con daño del ácaro se modificaron en un estrato superficial necrosado, cuyo espesor incrementó dependiendo de la combinación de los factores de estudio. El NCF en los frutos pequeños presentó un rango de 0,35 a 24 células células ·12.399 μm^{-2} correspondientes a pedúnculos sin daño y sépalos con daño moderado, respectivamente. El NB se ubicó en el

Recibido el 10-3-2008 ● Aceptado el 5-6-2008
Autor de correspondencia e-mail: drivero@luz.edu.ve

rango 0 a 3 braquiesclereidas células·12.399 μm^{-2}, no siendo abundantes en sépalos ni en pedúnculos, como se ha observado en el mesocarpo. Considerando que tanto la epidermis como el parénquima poseen capacidad meristemática, las alteraciones ocasionadas por el ácaro podrían afectar el crecimiento y la cicatrización de heridas en las estructuras analizadas.
Palabras clave: Histopatología, guayabo, ácaro.

Abstract

Histological alterations caused to sepals and peduncles of small, medium and large size fruits of *Psidium guajava* L. by *Brevipalpus phoenicis* are described and quantified. From 30/10/2003 to 22/01/2004 samples of healthy, moderately and severely damaged fruits were collected from plants located at Centro Frutícola del Zulia, Mara County (19º83'53"N and 19º65'09"E), Venezuela. Transversal sections of tissues were micro photographed and digitalized by using Pro Plus® software Image program, with the purpose of establishing comparisons through quantification made by using Tool® software Image program. The variables evaluated were: epidermal thickness or necrosed superficial layer (NSL), parenchyma thickness, and number of phenolic cells (NPC), number of sclereids (NS) and thickness of cell wall. The statistical procedures analysis of variance, test of means comparison (Tukey and DMS) and frequency analysis. The results showed that the epidermal and parenchyma tissues of sepals and peduncles with flat mite damage were modified into a necrosed superficial layer, whose thickness increased according to the combination of the studied factors. The NPC in small fruits with healthy peduncles and moderately damaged sepals ranged from 0.35 to 24 cells.12399 μm^{-2}. The NS ranged from 0 to 3 sclereids.12399 μm^{-2}, not being as abundant in sepals or peduncles, as observed in mesocarp. Considering that the epidermal and parenchymatic layers have meristematic capacity, the alterations caused by the mite could affect the cellular regeneration which is important and necessary to the fruit growing, as well as to the wounds healing in the analyzed structures.
Key words: Histopathology, guava, flat mite.

Introducción

El guayabo (*Psidium guajava* L.) es un frutal de grandes perspectivas en Venezuela, tanto por su aceptación como fruto fresco, como por los subproductos que de este se generan (Avilán y Millan 1984). En el año 2000 la región Zuliana fue la principal zona productora de este rubro en el país

Introduction

Guava (*Psidium guajava* L.) is a fruit tree of high perspectives in Venezuela, because its acceptance like fresh fruit and of by-products coming from it (Avilan and Millan 1984). In year 2000 the Zulian region was the principal producer region in country (Ministerio de Produccion y Comer-

(Ministerio de Producción y Comercio 2000), ubicándose en la región noroeste del estado el mayor número de plantaciones comerciales, aun cuando durante los años 1990 a 1995 el área de cultivo sufrió un brusco descenso como consecuencia principalmente de problemas fitosanitarios, entre los más importantes se citan: las infestaciones de las raíces por nematodos (*Meloidogyne incognita*, raza 1) (Casassa *et al*., 1996), mota blanca del guayabo (*Capulinia* sp.) (Chirinos-Torres *et al*., 2000) y la pudrición apical de los frutos ocasionada por *Dothiorella* sp. (Bravo, 2003).

Entre los artrópodos asociados al guayabo se encuentra el ácaro plano *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) (Quirós y Viloria 1991), cuyo daño comienza desde la formación del fruto hasta que llega a la madurez fisiológica desmejorando la apariencia del mismo; sin embargo, no se ha considerado importante debido a la poca exigencia por parte de los consumidores del mercado nacional (Quirós *et al*., 2002; Quirós *et al*., 2006); adicionalmente, se deben tomar en cuenta aspectos entre los que destacan la predisposición del fruto a infecciones fungosas una vez que el ácaro ha causado heridas en el mismo, como se ha reportado con *Dothiorella* sp. cuya infección ocurre más rápidamente en frutos con heridas que en frutos intactos (Cedeño *et al*., 1998), así como también la diseminación, por parte del *B. phoenicis*, de esporas de ese hongo (Quirós *et al*., 2006).

El efecto producido a las plantas por la acción de agentes bióticos, como el originado por *B. phoenicis*

cio 2000), being the higher number of commercial plantations located in northwest region, even when during the years 1990 to 1995 the crop area suffered a severe decrease principally as a consequence of healthy problems, between the more important are cited the following: the roots infestations by nematodes (*Meloidogyne incognita*, race 1) (Casassa *et al*., 1996), white mota of guava (*Capulinia* sp.) (Chirinos-Torres *et al*., 2000) and the apical rot of fruit caused by *Dothiorella* sp. (Bravo, 2003).

Between the arthropods related to guava is found the *Brevipalpus phoenicis* flat mite (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) (Quiros and Viloria 1991), with a damage that begins from the fruit formation until the physiological ripening by getting sick its appearance; however it has not to consider important because the little exigency by consumers of national market (Quiros *et al*., 2002; Quiros *et al*., 2006); additionally, some aspects like fruit predisposition to fungal infections once flat mite have caused injuries on it have to be taken into consideration, like those reported by *Dothiorella* sp. whose infection occurs more rapidly in fruits with injuries than in healthy fruits (Cedeño *et al*., 1998), likewise the dissemination, by the *B. phoenicis*, of spores of this fungal (Quiros *et al*., 2006).

The effect produced to plants by the action of biotic agents, like the originated by *B. phoenicis* derivates in external or internal changes, also called alterations or cellular responses of host; varies qualitative and quantitatively, according to the histology of different affected organs,

derivan en cambios externos e internos, también llamados alteraciones o respuestas celulares del hospedante; varían cualitativa y cuantitativamente, según la histología de los diferentes órganos afectados, el tipo y estado de desarrollo del organismo, las condiciones ambientales, entre otros factores (Cárdenas, 2001). Artrópodos fitófagos chupadores de savia como los ácaros, producen desórdenes histológicos que dependen principalmente de la longitud de sus estiletes, del tiempo de alimentación, de la densidad de población y de las características de la planta hospedera. En hojas de diferentes cultivos, se han reportado afecciones no sólo en la epidermis, incluyendo los estomas, sino también a nivel del tejido parenquimático (Tomczyk y Kropczynska 1985).

La mayoría de los ácaros fitófagos tienen preferencia por un tipo de tejido vegetal en particular, siendo esta la razón por la cual se convierten en plagas que se localizan en determinadas partes de las plantas durante su ciclo de vida. El estudio de los hábitos alimenticios del ácaro *B. phoenicis* en guayabo ha permitido observar una marcada preferencia del mismo por partes específicas del fruto, tales como el pedúnculo y el ápice incluyendo los sépalos (Quirós *et al.*, 2005); bajo estas consideraciones el objetivo de esta investigación fue describir cualitativa y cuantitativamente las alteraciones histológicas ocasionadas por el ácaro *Brevipalpus phoenicis* en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de diferentes

type and state of developing of organism, the environmental conditions, among other factors (Cardenas, 2001). Phytophagous arthropods sucking insect of sap like the flat mite produces histological disorders that principally depend on styletes length, of nutrition time, of population density and of characteristics of host plant. In leaves of different crops, affections have been reported not only in the epidermal, by including the stomas, but also, at a level of parenchymatic tissue (Tomczyk and Kropczynska 1985).

The most of phytophagous flat mite have preference by a type of vegetable tissue in particular, being this the reason by which they became in pests located in determined parts during its life cycle. The study of feeding habits of *B. phoenicis* flat mite in guava have permitted to observe a marked difference of it by specific parts of fruit, such as peduncle and apex by including sepals (Quiros *et al.*, 2005); under these considerations the objective of this research was to describe in a qualitative and quantitative way the histological alterations by the *Brevipalpus phoenicis* flat mite in sépalos and peduncles of guava (*Psidium guajava* L.) fruits of different sizes and with different damage levels.

Materials and methods

Fruits collection was accomplished in an experimental plot located in Centro Fruticola del Zulia (CENFRUZU, CORPOZULIA), Mara municipality, of guava "Criolla Roja" plants grafted of 13 years-old. Fruits

tamaños y con diferentes niveles de daño.

Materiales y métodos

La recolección de los frutos se realizó en una parcela experimental ubicada en el Centro Frutícola del Zulia (CENFRUZU, CORPOZULIA), municipio Mara, de plantas de guayaba "Criolla Roja" injertadas de 13 años. Los frutos se procesaron en los laboratorios de Botánica Morfológica de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia y de Microtecnia e Histopatología Vegetal de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA).

Para el estudio histológico se separaron sépalos y pedúnculos de frutos pequeños, medianos y grandes sanos y con daños ocasionado por *B. phoenicis*, conservándolos en una solución de formaldehído (40%), ácido acético glacial y alcohol etílico (50%) (FAA), en una proporción 5:5:90 (Roth, 1964). Posteriormente, se deshidrataron en una serie de alcohol butírico terciario (ABT) en concentraciones ascendentes del 70% al 100%, cada cambio de concentración se realizó en intervalos de una hora. Se obtuvieron secciones transversales de las estructuras (12 µm de espesor) con un micrótomo de rotación Spencer® modelo 820, previa inclusión en paraplast (punto de fusión 55 a 60ºC). Finalmente, las secciones de sépalos y pedúnculos se paraffin out e hidrataron para culminar con la tinción llevada a cabo con safranina+"verde rápido" y hematoxilina+safranina (Johansen, 1940).

were processed in the Morphological Botanic Laboratories of the Agronomy Faculty, Universidad of Zulia and Microtechnia and Vegetal Histopathology of the University Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA).

For the histological study sepals and peduncles of little, medium and bag fruits, healthy and with damages caused by *B. phoenicis* were separated, by conserving them into a formaldehyde solution (40%), acetic glacial acid and ethyl alcohol (50%) (FAA) in one proportion 5:5:90 (Roth, 1964). After, they were dehydrated in a serial of alcohol butyric tertiary (ABT) in growing concentrations 70% to 100%, each change of concentration was made in intervals of one hour. Transversal sections of structures (12 ìm thickness) were observed with a rotation microtome Spencer® model 820, previous inclusion in paraplast (fusion point 55 at 60ºC). Finally, sepals and peduncles sections were paraffin-off and hydrated for finishing with dying carried out with safranina+"quick green" and hematoxilina+safranina (Johansen, 1940).

To these transversal sections amplified at 60X, microphotographs were taken with digital chamber connected with a microscope mark LEICA®, and after, they were digitalized through the Image-Pro Plus® (Image-Pro Plus 1999) program, with the purpose of compare them through the quantification of tissues and cells with the Image Tool® (Wilcox *et al.*, 2002) program.

Mass averages, polar diameter and equatorial diameter of fruits

A estas secciones transversales amplificadas a 60X se les tomaron microfotografías con una cámara digital acoplada a un microscopio marca LEICA®, y luego se digitalizaron mediante el programa Image-Pro Plus® (Image-Pro Plus 1999), a fin de compararlas mediante la cuantificación de tejidos y células con el programa Image Tool® (Wilcox *et al*., 2002).

Los promedios de masa, diámetro polar y diámetro ecuatorial de los tamaños de frutos analizados fueron: pequeños: 0,76 g, 11,70 mm y 0,76 mm; medianos: 29,55 g, 43,48 mm y 33,84 mm; grandes: 89,41 g, 57 mm y 51,84 mm, respectivamente.

Los factores estudiados: tamaño del fruto (pequeños, medianos y grandes), estructura del fruto (sépalos y pedúnculos), y condición del fruto (sin daño, daño moderado y severo ocasionado por *B. phoenicis*), según la escala fijada por Güerere y Quirós (2000), se dispusieron en un arreglo factorial 3x2x3, en un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. La unidad experimental estuvo conformada por un fruto.

Las variables respuesta analizadas fueron:

a. Espesor del tejido superficial, el cual correspondió a la epidermis (EE), incluyendo la cutícula en sépalos y pedúnculos sin daño de *B. phoenicis*, ó del estrato superficial necrosado (ESN) en aquellos que presentaban daños (µm).

b. Espesor del parénquima (EP), medido por debajo del tejido superficial hasta el inicio de los tejidos vasculares en el pedúnculo, y el mesófilo en los sépalos (µm).

analyzed sized were: 0.76 g, 11.70 mm and 0.76 mm; medium: 29.55 g, 43.48 mm and 33.84 mm; big: 89.41 g, 57 mm and 51.84 mm, respectively.

Factors studied were: fruit size (little, medium and big), fruit structure (sepals and peduncles), and fruit condition (without damage, moderate and severed damage occasioned by *B. phoenicis*), according to fixed scale by Güerere and Quiros (2000), were dispersed in a factorial arrangement 3x2x3, on a experimental split plot design with five replications. The experimental unit was formed by a fruit.

The analyzed response variables were:

a. Thickness of superficial tissue, which corresponded to epidermis (EE), by including the cuticle in sepals and peduncles without damage of *B. phoenicis*, or necrosed superficial layer (NSL) in those that shows, damages (µm).

b. Thickness of parenchyma (TP), measured below of superficial tissue until the beginning of vascular tissues in peduncle and the mesophilous in sepals (µm).

c. Thickness of brachisclereids wall (EPB), by making five measurements in its different parts (µm).

d. Number of brachisclereids (NB).

e. Number of cells with phenols content (NCF).

For determining NB and NCF cells present in an area of 12.399 μm^2 of a transversal section of peduncle and/or sepal micro photographies digitalized were counted.

For each variable ten

c. Espesor de la pared de las braquiesclereidas (EPB), efectuándose cinco mediciones en diferentes partes de la misma (µm).

d. Número de braquiesclereidas (NB).

e. Número de células con contenidos de fenoles (NCF).

Para determinar NB y NCF se contaron las células presentes en un área de 12.399 μm^2 de una sección transversal del pedúnculo y/o sépalo en microfotografías digitalizadas.

Para cada variable se realizaron diez mediciones por repetición en la imagen de la sección transversal del sépalo o pedúnculo proyectada en el monitor del computador, según metodología propuesta por Peña-Valdivia *et al*., (2005).

El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico SAS®, versión 9.1.3 (2005). Los procedimientos estadísticos aplicados fueron análisis de varianza (procedimiento GLM), prueba de comparación de medias para los efectos simples (Tukey) y la prueba DMS para las medias de la combinación de los factores a través de la opción LSMEANS. A la variable NB se le realizó un análisis de frecuencia, por ser de tipo discreta, con poca variabilidad.

Resultados y discusión

El análisis de la varianza mostró diferencias estadísticas (P<0,05) para las variables EE, ESN y NCF, generadas por la interacción de los factores estudiados. En EP la significancia (P<0,05) se produjo por el efecto del tamaño del fruto por el

measurements by each replicate in the image of the transversal section of sepal or peduncle projected in the monitor of computer, according methodology proposed by Peña-Valdivia *et al*., (2005).

Data processing was accomplished with the statistical program SAS®, version 9.1.3 (2005). Statistical procedures applied were analysis of variance (procedure GLM), test of means comparison for the simple effects (Tukey) and the test DMS for the means of combination of factors through the option LSMEANS. To the variable NB it was made a frequency analysis because of being of discrete type, with little variability.

Results and discussion

The analysis of variance showed statistical differences (P<0.05) for the variables ET, NSS and NCF, generated by the interaction of factors studied. In EP the significance (P<0.05) is produced by the effect of fruit size by the structure type and size by fruit condition (table 1).

It is convenient to point out that in samples collected it was not possible the treatment obtaining corresponding to big fruit with sepals without damages, because all of them were moderately or severely affected by the flat mite.

Epidermal thickness (ET) and necrosed superficial layer (NSL) in sepals and peduncles of guava fruits in different sizes and condition respect to *B. phoenicis*

ET varied according to the

tipo de estructura y tamaño por condición del fruto (cuadro 1).

Es conveniente acotar, que en las muestras recolectadas no fue posible la obtención del tratamiento correspondiente a frutos grandes con sépalos sin daños, ya que todos se encontraban afectados moderada o severamente por el ácaro.

Espesor de la epidermis (EE) y del estrato superficial necrosado (ESN) en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo de diferentes tamaños y condición con respecto a *B. phoenicis*

El EE varió de acuerdo a la estructura y tamaño del fruto de guayabo; así en los pedúnculos sin daños

structure and size of guava fruit; so, in peduncles without damages, the value of this variable oscillated from 8.12 to 15.16 µm of little, medium and big fruits and in sepals without damage was of 8.94 µm to 21.87 µm of little to medium fruits. In a general way, sepals showed a high ET, however, when measuring separately the cuticle this was 5.48 µm thickness in peduncles of little fruits and of 6.64 µm in those medium, whereas in sepals was of 4.89 µm for the first ones and 5.66 for the others.

Even when in sepals of medium fruits (SM) and big (SB), and in peduncles of little fruits (PL) and big ones (PB) with moderate damage of

Cuadro 1. Sumas de cuadrados y significación para las variables espesor de la epidermis ó estrato necrosado, espesor del parénquima y número de células con fenoles determinado por el efecto del tamaño, estructura y condición del fruto del guayabo (*Psidium guajava* L.).

Table 1. Sum of squares and significance for epidermal width or necroses tissue, parenchyma width and cells number variables with phenol determined by the size effect, structure and guava fruit condition (*Psidium guajava* L.).

Efecto	Espesor de la epidermis o estrato necrosado	Espesor del parénquima	Número de células con fenoles
Tamaño del fruto	26334,98**	12477,95NS	7,2201**
Estructura del fruto	30896,83**	62509,31**	0,14NS
Condición del fruto	287584,72**	209722,06**	18,49**
Tamaño x estructura	58314,71**	191993,80**	0,34NS
Tamaño x condición	58446,21**	243927,50 **	27,95 **
Estructura x condición	48758,20**	3121,73NS	5,68**
Tamaño x estructura x condición	45186,75**	41134,66NS	15,33**
Error	144501,43	396370,96	23,96

el valor de esta variable osciló de 8,12 a 15,16 µm de frutos pequeños, medianos y grandes, y en los sépalos sin daño fue 8,94 µm a 21,87 µm de frutos pequeños a medianos. De manera general, los sépalos presentaron un mayor EE; sin embargo, al medir la cutícula por separado ésta fue de 5,48 µm de grosor en los pedúnculos de frutos pequeños y de 6,64 µm en los medianos, mientras que en los sépalos fue de 4,89 µm para los primeros y 5,66 para los segundos.

Aún cuando en los sépalos de frutos medianos (SM) y grandes (SG), y en los pedúnculos de frutos pequeños (PP) y grandes (PG) con daño moderado de *B. phoenicis* fue evidente la alteración del tejido superficial en un estrato necrosado (ESN), los valores de su espesor (SM: 68,74; SG: 36,65; PP: 8,55 y PG: 45,11 µm), no se diferenciaron del EE medido en las estructuras sanas (P>0,05). A juzgar por el espesor del estrato necrosado, hasta el nivel de daño moderado la afectación del ácaro parece no afectar la capacidad regenerativa en estas estructuras.

El mayor espesor del ESN se obtuvo en los pedúnculos de frutos grandes con daño severo (344,71 µm), el mismo se diferenció estadísticamente del obtenido por las demás combinaciones (figura 1). Este resultado se puede explicar considerando los hábitos de *B. phoenicis*, el cual al incrementar sus poblaciones se traslada de las hojas al fruto a través del pedúnculo, al cual invade y deteriora progresivamente en el tiempo, posteriormente algunos individuos (hembras o ninfas) recorren el fruto hasta llegar a los sépalos, donde per-

B. phoenicis was evident the alteration of superficial tissue in a moderate layer (ESN), values of its thickness (SM: 68.74; SB: 36.65; PL: 8.55 and PB: 45.11 µm), were not differenced from EE method in healthy structures (P>0.05). Despite thickness of moderate layer, until moderate damage level, affectation seems do not affect the regenerative ability in these structures.

The high thickness of ESN was obtained in peduncles of big fruits with severe damage (344.71 µm), which was statistically differed from those obtained by the rest of combinations (figure 1). This result can be explained by taking into consideration *B. phoenicis* habits, which when increase its populations is moved from leaves to fruit through peduncle, by invading it and damaging in a considerable and progressive way at the same time, after, some individuals (females or nymph) travel across fruit toward sepals, in where they remain and reproduces in a successful way, getting food of this tissue (Quiros *et al*., 2005). Nevertheless, existence of a cuticle of high thickness in this structure, such as it was observed, should have to offer additional information (Bally, 1999; Flores-Vindas, 1999) against phytophagous arthropods like *B. phoenicis*, but the flat mite styletes changed this tissue in a considerable way.

Formation of necrosed superficial layer (ESN) was product of epidermis and parenchyma alteration. On this respect, it has to be establish that the tissues adjacent to epidermis are affected in a direct way by the injection of from flat mites or

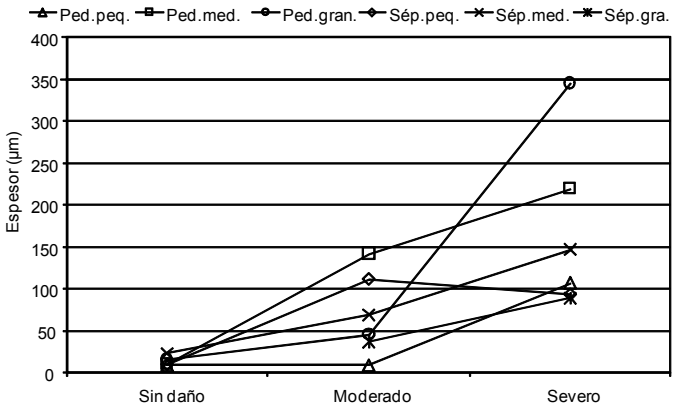

Figura 1. Espesor de la epidermis y del estrato superficial necrosado en pedúnculos y sépalos de frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de diferentes tamaños y condición con relación a *Brevipalpus phoenicis*.

Figure 1. Epidermal thickness of necrosed superficial layer in peduncles and sepals of guava (*Psidium guajava* L.) fruits of different sizes and condition in relation to *Brevipalpus phoenicis*.

manecen y se reproducen exitosamente, alimentándose de ese tejido (Quirós *et al*., 2005). Sin embargo, la existencia de una cutícula de mayor espesor en esta estructura, tal como se observó, debería ofrecer protección adicional (Bally, 1999; Flores-Vindas, 1999) contra artrópodos fitófagos como *B. phoenicis*, pero los estiletes del ácaro lograron alterar considerablemente ese tejido.

La formación del estrato superficial necrosado (ESN) fue producto de la alteración tanto de la epidermis como del parénquima. Al respecto, se ha establecido que los tejidos adyacentes a la epidermis se afectan de forma directa por la inyección de saliva de los ácaros o indirectamente la planta es capaz de dar respuestas fisiológicas complejas al daño infligido por

indirectly, plant is able to give physiological and complexes responses to damage caused by flat mite (Tomczyk and Kropczynska 1985). However, presence of this necrosed tissue is related to collapse and dead of epidermal cells (Cardenas, 2001), as observed in *Canna generalis* with damage of *Puccinia canna*, being attributed to the alteration of this tissue as a consequence of an advanced state of infection (Rodriguez *et al*., 1995).

When comparing epidermal and parenchyma cells disposition in these structures, it was observed that in the first tissue cells were disposed in a total way, whereas in second one, high inter cellular spaces were observed, cellular walls thinner, and parenchyma showed more varied

el ácaro (Tomczyk y Kropczynska 1985). No obstante, se ha relacionado la presencia de este tejido necrosado con el colapso y muerte sólo de las células epidérmicas (Cárdenas, 2001), así como se observó en *Canna generalis* con daño de *Puccinia canna*, atribuyéndoselo a la alteración de este tejido como consecuencia de un estado avanzado de la infección (Rodríguez *et al*., 1995).

Al comparar la disposición de las células de la epidermis y del parénquima en estas estructuras, se observó que en el primer tejido las células se dispusieron de forma compacta, mientras que en el segundo se observaron mayores espacios intercelulares, paredes celulares más delgadas, aunado a que el parénquima presentó contenidos intracelulares más variados (Flores-Vindas, 1999), las cuales pueden constituir características ideales para el proceso de alimentación de los ácaros, como lo demuestran las investigaciones realizadas en hojas de pera, manzana, fresa y soya con daños ocasionados por ácaros del género *Tetranychus* al parénquima en empalizada, esponjoso y a ambos simultáneamente (Tomczyk y Kropczynska 1985). Esto permitió explicar la afectación del tejido parenquimático en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo que en conjunto con la epidermis derivaron en la formación del estrato superficial necrosado observado.

Las observaciones microscópicas realizadas en sépalos de frutos de guayabo con daño moderado de *B. phoenicis* permitieron determinar la presencia de protuberancias de coloración marrón oscuro (figura 2A),

intra cellular contents (Flores-Vindas, 1999), which could constitute ideal characteristic for the food process of flat mites, like it is shown research carried out in pear, apple, strawberry and soybean leaves, with damages caused by flat mites *Tetranychus* genre to parenchyma in palisade, spongy and simultaneously to both of them (Tomczyk and Kropczynska 1985). This will permit to explain the affectation of parenchymatic tissue in sepals and peduncles of guava fruits that in conjunction with epidermal derived in formation of necrosed superficial layer observed.

The microscopic observations made in sepals of guava fruits with moderate damage of *B. phoenicis* permitted to determine the presence of protuberances of dark brown color (figure 2A), constituted by epidermal and parenchymatic tissue, which were after expanded because of its pressure when damage was severe (figure 2B). These evidences are similar to those described by Güerere and Quiros (2000), when characterized damages moderate and severe produced by the flat mite.

ESN

Observations accomplished agree with those determined in a macroscopic way in other research in where damage caused by *B. phoenicis* was characterized by a change of coloration from green to reddish brown of structures that form guava fruit, in which a surface breaking had place, only visible when damage was severe (Güerere and Quiros 2000).

Parenchyma thickness (PT) in sepals and peduncles of guava fruits

constituidas por tejido epidérmico y parenquimático, las cuales posteriormente se expandieron por la presión de los mismos cuando el daño fue severo (figura 2B). Estas evidencias son similares a las descritas por Güerere y Quirós (2000), cuando caracterizaron los daños moderado y severo producidos por el ácaro.

Las observaciones realizadas coincidieron con las determinadas de forma macroscópica en otra investigación donde se caracterizó el daño causado por *B. phoenicis* como un cambio de coloración de verde a marrón rojizo de las estructuras que con-

Fruit size by fruit structure interaction

PT variable increased in sepals of 306.71 µm at 391.72 µm of little fruits to medium. On the contrary, in peduncles of PT was higher in those little ones (389.04 µm) in comparison to big ones (304.83 µm) and medium ones that obtained the lower value (282.22 µm), being differences in a statistical of the rest ($P<0.05$) (figure 3).

These differences between sepals and peduncles were derived from the proper anatomic that conform each structure. Sepals constitute modified leaves that in case

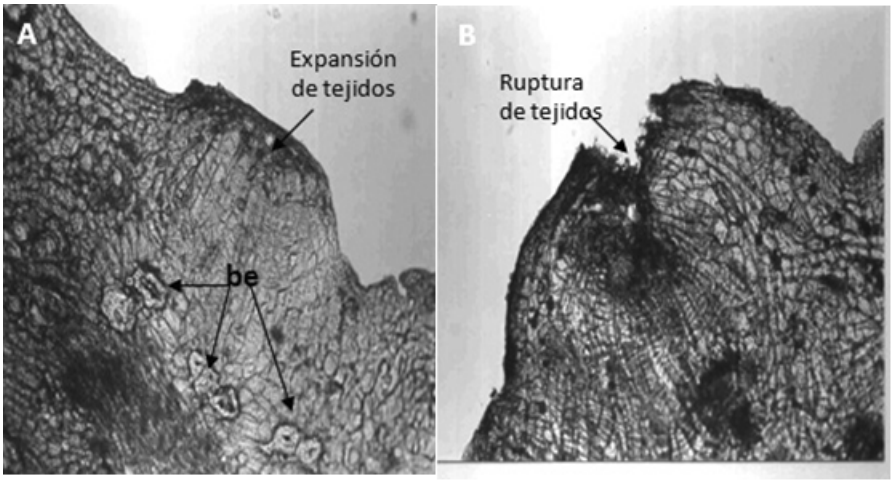

Figura 2. Secciones transversales de la superficie adaxial del ápice de sépalos de guayabo (*Psidium guajava* L.) con daño moderado (A) y severo (B) ocasionado por *Brevipalpus phoenicis*, donde se observa expansión y ruptura de tejidos, respectivamente. Braquiesclereidas (be). 100X.

Figure 2. Transversal sections away from the axis surface of guava (*Psidium guajava* L.) apex sepals with moderate (A) and severe damage (B) caused by *Brevipalpus phoenicis*, in where expansion and breaking of tissues is observed, respectively. Braquiesclereidas (be). 100X.

forman el fruto del guayabo, en las cuales ocurría un resquebrajamiento de la superficie sólo visible cuando el daño era severo (Güerere y Quirós 2000).

Espesor del parénquima (EP) en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo

Interacción tamaño del fruto por estructura del fruto

La variable EP incrementó en los sépalos de 306,71 µm a 391,72 µm de los frutos pequeños a medianos. Por el contrario, en los pedúnculos el EP fue mayor en los pequeños (389,04 µm) en comparación con los grandes (304,83 µm) y medianos que obtuvieron el valor más bajo (282,22 µm), diferenciándose estadísticamente de los restantes ($P<0,05$) (figura 3).

Estas diferencias entre sépalos y pedúnculos se derivaron de la conformación anatómica propia de cada estructura. Los sépalos constituyen hojas modificadas que en el caso de especies de Myrtaceae persisten a lo largo del desarrollo del fruto; en estas estructuras, el tejido parénquimático se conforma en un estrato central ó mesófilo localizado entre dos epidermis (figuras 4C y 4D); mientras que en el pedúnculo por su analogía a un tallo, el parénquima se localiza en la periferia de los tejidos vasculares, de forma concéntrica, y en el centro, representando la médula. El xilema y el floema ocupan la mayor parte de la sección transversal a medida que avanza el desarrollo del fruto, como se puede observar en la figuras 4A y 4B, correspondientes a pedúnculos de frutos pequeños y medianos, respectivamente.

of species of Myrtaceae persist along fruit development; in these structures, parenchymatic tissue is formed in a central layer or mesophilous placed among two epidermis (figures 4C and 4D); whereas in peduncle by analogy to an stem, parenchyma is located in the periphery of vascular tissues, in a concentric shape, and at center, by representing medulla. Xylem and phloem occupies the higher part of transversal section when fruit development advances, as can be observed in figures 4A and 4B, corresponding to peduncles of little and medium fruits, respectively.

Fruit size by fruit condition interaction

In sepals and peduncles of medium and big fruits, EP decreased according to the damage level advanced too, in medium fruits the thickness was reduced from 463.61 µm to 253.53 µm, from healthy to severe damage and in big ones from 376.36 µm to 254.70 µm from moderate damage to severe, respectively (figure 5).

The existence of a necrosed superficial layer, product of the epidermis and parenchyma alteration by the attack of flat mite *B. phoenicis*, caused a diminishing of thickness of the last one tissue in sepals and peduncles. Similar results were obtained in sunflower (*Helianthus annus* L.), in where thickness of foliar blade was reduced by histological changes produced by presence of fungal *Alternaria helianthi*, which were principally represented by collapse and necrosis of cells from different tissues (Romero and Subero 1997).

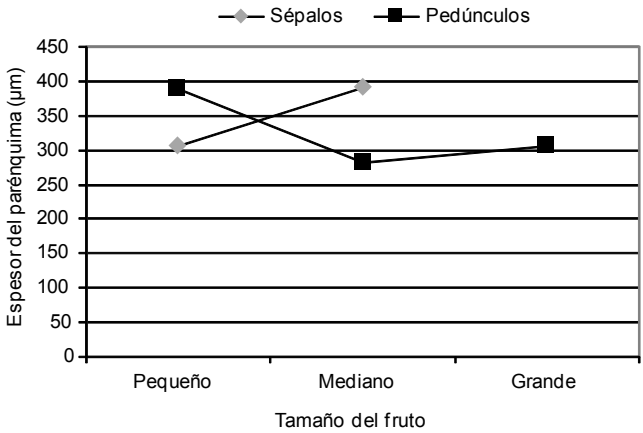

Figura 3. Espesor del parénquima en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de diferentes tamaños.

Figure 3. Parenchyma thickness in sepals and peduncles of guava (*Psidium guajava* L.) fruits of different sizes.

Interacción tamaño del fruto por condición del fruto

En sépalos y pedúnculos de frutos medianos y grandes EP disminuyó conforme avanzó el nivel de daño; en los frutos medianos el espesor se redujo de 463,61 µm a 253,53 µm de sin daño a daño severo y en los grandes de 376,36 µm a 254,70 µm de daño moderado a severo, respectivamente (figura 5).

La existencia de un estrato superficial necrosado producto de la afectación de la epidermis y el parénquima por el ataque del ácaro *B. phoenicis*, ocasionó una reducción del espesor de este último tejido tanto en sépalos como en pedúnculos. Resultados similares fueron obtenidos en girasol (*Helianthus annus* L.), donde el espesor de la lámina foliar se redujo por los cambios histológicos producidos por la presencia del hon-

PT in both structures of little fruits showed a different behavior. In those fruits that showed moderate and severe damage was of 404.28 µm and 333.63 µm respectively, not being statistically differenced among them, but respect to the healthy fruits, in where PT was comparatively inferior (305.73 µm) ($P<0.05$).

These results could be attributed to the high cellular multiplication rate that occurs in growing fruits being reflected like a major accumulation of parenchymatic tissue in response to damage caused by *B. phoenicis*. It was determined that in guava the fruit growing was product of division and cellular expansion, which reflects in the size and mass of fruits (Araujo *et al.*, 1997).

The ability of cellular regeneration in sepals and peduncles

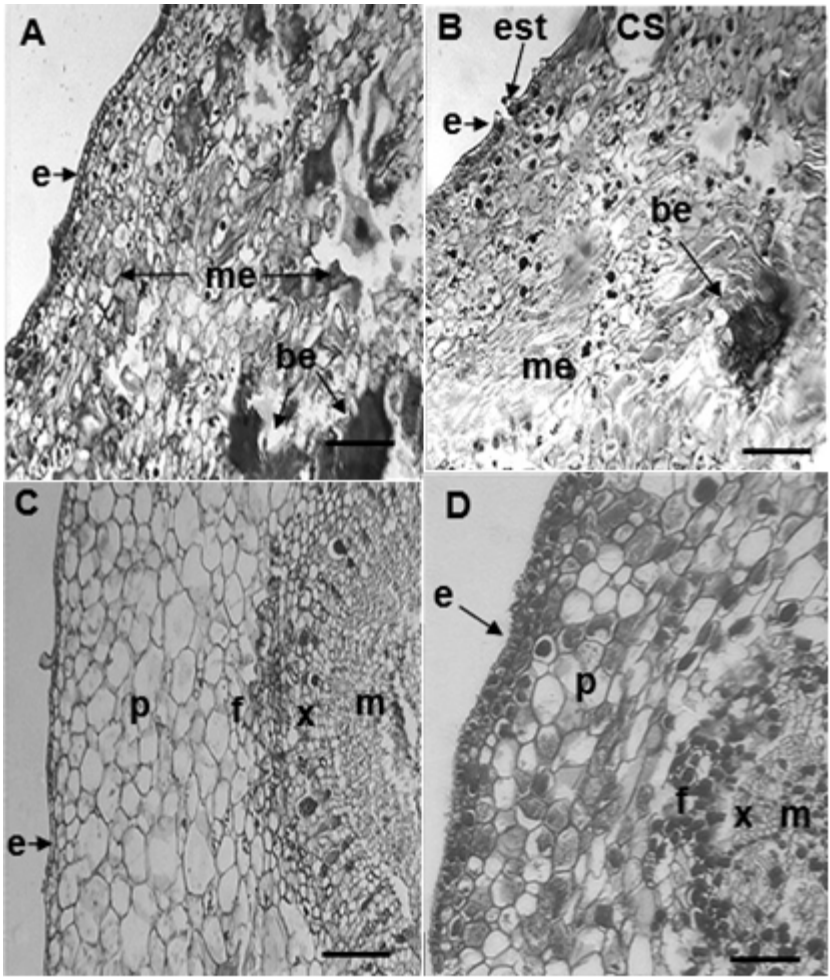

Figura 4. Secciones transversales de pedúnculos (A y B) y sépalos (C y D) de frutos pequeños y medianos, respectivamente de guayabo (*Psidium guajava* L.). Epidermis (e), estoma (est) parénquima (p), mesófilo (me), floema (f), xilema (x), médula (m), cavidad secretora (cs), braquiesclereida (be). 60X. Escala comprende 40 µm.

Figure 4. Transversal sections of peduncles (A and B) and sepals (C and D) of medium and little fruits of guava (*Psidium guajava* L.), respectively. Epidermis (e), stomata (est) parenchyma (p), mesophilous (me), phloem (f), xylem (x), medulla (m), secretor cavity (cs), braquiesclereida (be). 60X. Scale 40 µm.

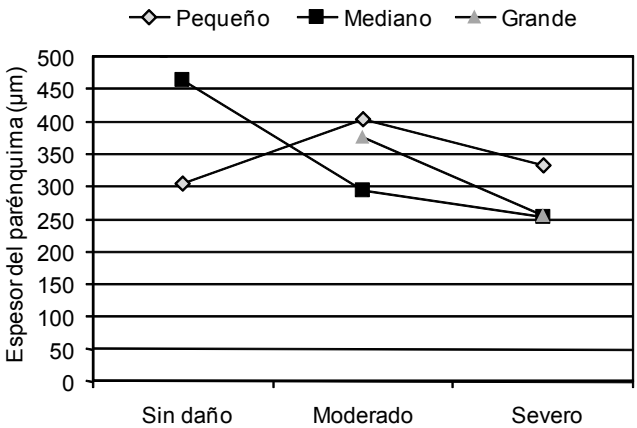

Figura 5. Espesor del parénquima en frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de diferentes tamaños y condición con relación a *Brevipalpus phoenicis*.

Figure 5. Parenchyma thickness in guava (*Psidium guajava* L.) fruits of different sizes and condition in relation to *Brevipalpus phoenicis*.

go *Alternaria helianthi*, los cuales estuvieron representados principalmente por el colapso y necrosis de las células de los diferentes tejidos (Romero y Subero 1997).

El EP en ambas estructuras de frutos pequeños mostró un comportamiento diferente. En aquellos que presentaron daño moderado y severo fue de 404,28 µm y 333, 63 µm respectivamente, no diferenciándose estadísticamente entre ellos, pero sí con respecto a los frutos sin daño, donde el EP fue comparativamente menor (305,73 µm) ($P<0,05$).

Estos resultados se pueden atribuir a la alta tasa de multiplicación celular que ocurre en frutos en pleno crecimiento reflejándose como una mayor acumulación de tejido parenquimático en respuesta al daño ocasionado por *B. phoenicis*. En gua-

of guava fruits of different sizes was progressively lost when they reached the damage level caused by *B. phoenicis* from moderate to severe, probably due the loss of meristematic activity of parenchyma (Flores-Vindas, 1999). It has been described that epidermis retains its ability for dividing; even guard cells of stomas could desdifferencing and to assume meristematic functions (Flores-Vindas, 1999). Both tissues could contribute to growing and reparation of lesions in sepals and peduncles, which is important to consider, because according level of damage caused by *B. phoenicis* the regenerative ability could be affected.

In peduncles of little, medium and big ones fruits with moderate and severe damages caused by *B. phoenicis* pointed out the presence of

yabo se determinó que el crecimiento de los frutos fue producto de la división y expansión celular, lo cual se refleja en el aumento del tamaño y masa de los mismos (Araujo *et al*., 1997).

La capacidad de regeneración celular en los sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo de diferentes tamaños se perdió progresivamente a medida que avanzó el nivel del daño ocasionado por *B. phoenicis* de moderado a severo, probablemente debido a la pérdida de la actividad meristemática del parénquima (Flores-Vindas, 1999). Al igual que este tejido, se ha descrito que la epidermis retiene su habilidad para dividirse; incluso las células guardianas de los estomas pueden desdiferenciarse y reasumir funciones meristemáticas (Flores-Vindas, 1999). Ambos tejidos pueden contribuir al crecimiento y reparación de lesiones en sépalos y pedúnculos, lo cual es importante considerarlo, ya que según el nivel de daño ocasionado por *B. phoenicis* la capacidad regenerativa pudiera afectarse.

En los pedúnculos de frutos pequeños, medianos y grandes con daños moderados y severos ocasionados por *B. phoenicis* resaltó la presencia de un estrato superficial necrosado de espesor considerable ocupando gran parte de la sección transversal. Los estratos superficiales se expandieron, rompieron y desprendieron de los tejidos restantes. En el parénquima las células presentaron formas muy irregulares, sin ordenamiento definido, lo cual se calificó como una completa desorganización del tejido parenquimático, consecuencia del

a necrosed superficial layer of considerable thickness by occupying a high part of transversal section. The superficial layers were expanded, broken and taken from the rest of tissues. In the parenchyma cells showed very irregular shapes, without defined ordering, which was qualified like a complete disorganization of parenchymatic tissue, as a consequence of damage caused by this flat mite (figures 6C and 6D).

In sepals with moderate and severe damage, cells were observed of irregular shape, very different when comparing to parenchyma of healthy sepals in where the mesophilous was formed by parenchymatic cells with polygonal or rounded outlines, and like in peduncles, a necrosed situation at epidermal and parenchyma level it was evident (figures 6A and 6B); these characteristics could be product of breaking of cells walls that took to the collapse and posterior detachment of them (Cardenas, 2001), besides of cellular content of tissues pricked with styletes emerge for being ingested by flat mite. There are evidences about damages to epidermis and parenchyma could cause alterations to the functioning of stomas, because guard cells lost its swelling, which causes the close of them (Tomczyk and Kropczynska 1985).

Number of cells containing phenols in sepals and peduncles of guava fruits of different sizes and condition respect to *B. phoenicis*

NCP did not show a defined tendency related to the study factors evaluated: damage level caused by *B. phoenicis*, structure and size if guava

daño causado por este ácaro (figuras 6C y 6D).

En los sépalos con daños moderado y severo se observaron células de forma irregular, muy diferentes al comparar con el parénquima de sépalos sin daño donde el mesófilo estuvo constituido por células parenquimáticas con contornos poligonales o redondeados, y al igual que en los pedúnculos fue evidente un necrosamiento a nivel de la epidermis y del parénquima (figuras 6A y 6B); estas características pudieran ser producto de la ruptura de paredes celulares que conllevaron al colapso y posterior desprendimiento de las mismas (Cárdenas, 2001), además de que el contenido celular de los tejidos pinchados con los estiletes emerge para ser ingerido por el ácaro. Existen evidencias de que los daños a la epidermis y parénquima puede causar alteraciones al funcionamiento de los estomas, debido a que las células guardianas pierden su turgor, lo que ocasiona el cierre de los mismos (Tomczyk y Kropczynska 1985).

Número de células conteniendo fenoles en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo de diferentes tamaños y condición con respecto a *B. phoenicis*

NCF no presentó una tendencia definida relacionada con los factores de estudio evaluados: nivel de daño ocasionado por *B. phoenicis*, estructura y tamaño del fruto del guayabo. El número de células con fenoles (NCF) en los sépalos y pedúnculos de frutos de diferentes tamaños varió con relación al nivel de daño ocasionado por *B. phoenicis*; en severo se situó en un rango de 4,75 a 20,88 célu-

fruit. Cells number with phenols (NCP) in sepals and peduncles of fruits with different sizes varied in relation to damage level caused by *B. phoenicis*; in severe was placed in a rank of 4.75 to 20.88 cells ·12.399 μm^{-2}, this lat one value was the higher of these combinations and it was not differences from those obtained by sepals without damage of medium fruits with 14.36 cells ·12.399 μm^{-2}.

In the structures of little, medium and big fruits with moderate damage, the NCP was between 9.24 to 24.20 cells in 12399 μm^{-2}, and those healthy 14.36 to 0.35 cells ·12.399 μm^{-2}; however, being this value the lower of all, did not show significant differences respect to those obtained by sepals of little fruits with severe damage, which was of 4.75 cells ·12.399 μm^{-2} (figure 7). Even when these results were obtained, it has to be pointed out that these compounds are increased or induced with in places in where occurs natural injuries or those caused by penetration and advance of several agents like pathogens (Cardenas, 2001).

In studies carried out on bean (*Vigna unguiculata* L.) leaves with the flat mite *T. urticae* physiological changes are reported related the phenols content like response to the saliva injection of the flat mite when get food of tissues of this plant specie, which is moved to growing regions. Likewise, a local infestation of this flat mite causes an increase on the transport of phosphorous to apex and roots, probably product of a physiological influence by the saliva secretion (Sthorms, 1971). It is s important to remember that in this

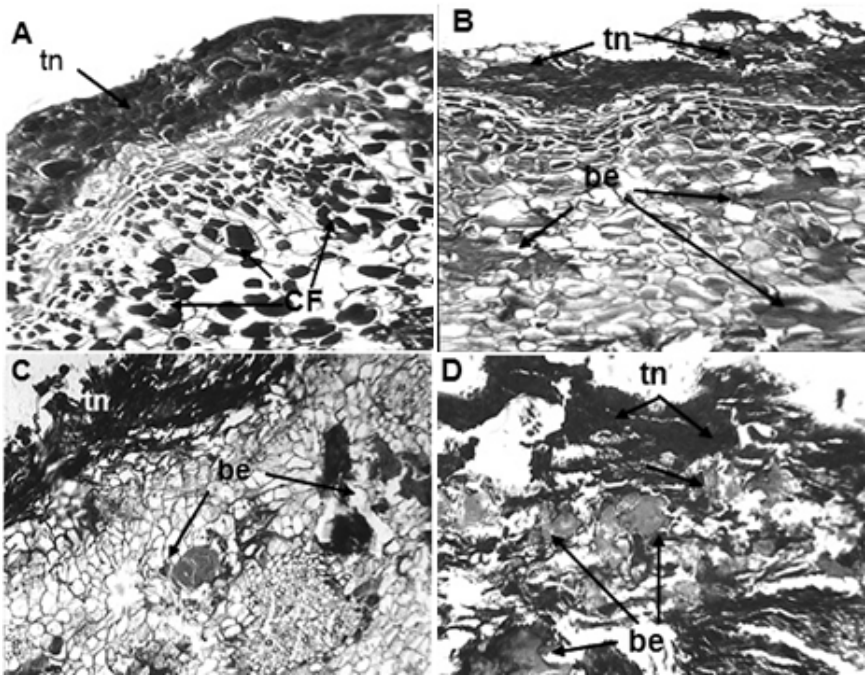

Figura 6. Secciones transversales de sépalos (A y B) y pedúnculos (C y D) de frutos grandes de guayabo (*Psidium guajava* L.) con daños moderado y severo, respectivamente de *B. phoenicis*. Braquiesclereidas (be), tejido necrosado (tn), células con fenoles (CF). 60X. Escala comprende 40 µm.

Figura 6. Secciones transversales de sépalos (A y B) y pedúnculos (C y D) de frutos grandes de guayabo (*Psidium guajava* L.) con daños moderado y severo, respectivamente de *B. phoenicis*. Braquiesclereidas (be), tejido necrosado (tn), células con fenoles (CF). 60X. Escala comprende 40 µm.

las ·12.399 μm^{-2}, éste último valor fue el más alto de estas combinaciones y no se diferenció del obtenido por los sépalos sin daño de frutos medianos con 14,36 células ·12.399 μm^{-2}.

En las estructuras de los frutos pequeños, medianos y grandes con daño moderado el NCF estuvo entre 9,24 a 24,20 células en 12399 μm^{-2}, y en los sin daño de 14,36 a 0,35 célu-

research the measurements of NCP were made in sepals and peduncles, structures that may not respond in a physiological way in the same way that leaves to the attack of flat mites and for this reason, there was no a tendency to this variable, in attention to different damage levels.

Number of brachisclereids in sepals and peduncles of guava fruits

las ·12.399 μm^{-2}; sin embargo, siendo éste valor el más bajo de todos, no presentó diferencias con respecto al obtenido por los sépalos de frutos pequeños con daño severo, el cual fue de 4,75 células ·12.399 μm^{-2} (figura 7). Aún cuando se obtuvieron éstos resultados, se ha señalado que estos compuestos se incrementan o se inducen en sitios donde ocurren heridas naturales o las causadas por la penetración y avance de ciertos agentes como los patógenos (Cárdenas, 2001).

En estudios realizados en hojas de frijol (*Vigna unguiculata* L.) con el acaro *T. urticae* se reportan cambios fisiológicos relacionados con el contenido de fenoles como respuesta a la inyección de saliva del acaro cuando se alimentó de los tejidos de esta especie de planta, la cual es transpor-

of different sizes and conditions respect to *B. phoenicis*

The variable NB was placed in a rank of 0 to 3 brachisclereids.12.399 μm^{-2} in sepals and peduncles of fruits with different sizes and condition in relation to *B. phoenicis*, being the number zero the value with higher frequency (table 2).

According to the observed in this research the brachisclereids were not abundant in sepals and peduncles with damages, but also in healthy structures; even when comparisons can not be established because they are anatomic and functional structures totally different, at mesocarp level, numerous brachisclereids have been mentioned in a disperse way of *Psidium friedrichsthalianum*, *P. guineense*

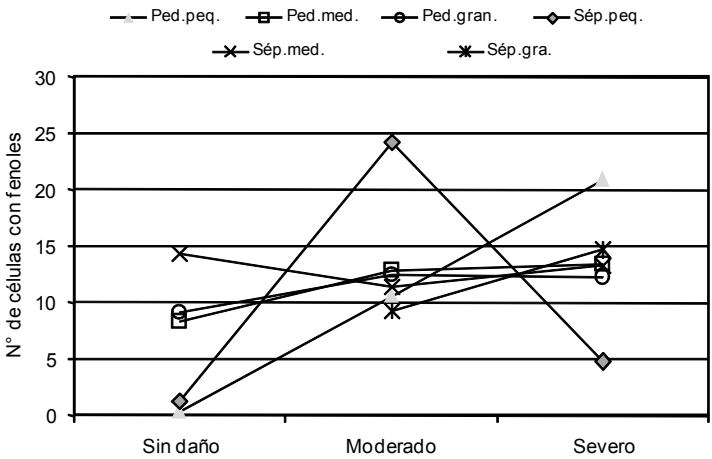

Figura 7. Número de células con fenoles en pedúnculos y sépalos de frutos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de diferentes tamaños y condición con relación a *Brevipalpus phoenicis.*

Figure 7. Number of cells with phenols in peduncles and sepals of guava (*Psidium guajava* L.) fruits with different sizes and condition in relation to Brevipalpus *phoenicis.*

Cuadro 2. Distribución del número y porcentaje de frutos con braquiesclereidas en pedúnculos y sépalos de guayabo (*Psidium guajava* L.) de frutos de diferentes tamaños y condición con relación a *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes).

Table 2. Distribution of number and percentage of fruits with braquiesclereidas in peduncles and sepals of guava (*Psidium guajava* L.) fruits with different sizes and condition in relation to *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes).

			Braquiesclereidas (Número)				Braquiesclereidas (Porcentaje)				
Tamaño	Estructura	Daño	0	1	2	3	0	1	2	3	Total
Pequeño	Pedúnculo	Sin daño	40	0	0	0	20,00	0,00	0,00	0,00	40
Mediano	Pedúnculo	Sin daño	30	0	0	0	15,00	0,00	0,00	0,00	30
Grande	Pedúnculo	Sin daño	28	2	0	0	14,00	1,00	0,00	0,00	30
Pequeño	Sépalo	Sin daño	50	0	0	0	25,00	0,00	0,00	0,00	50
Mediano	Sépalo	Sin daño	43	7	0	0	21,50	3,50	0,00	0,00	50
Grande	Sépalo	Sin daño	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	
											200
Pequeño	Pedúnculo	Moderado	47	3	0	0	16,9	1,08	0,00	0,00	47
Mediano	Pedúnculo	Moderado	35	4	1	0	12,64	1,44	0,36	0,00	40
Grande	Pedúnculo	Moderado	48	2	0	0	17,33	0,72	0,00	0,00	50
Pequeño	Sépalo	Moderado	42	6	2	0	15,16	2,17	0,72	0,00	50
Mediano	Sépalo	Moderado	49	1	0	0	17,69	0,36	0,00	0,00	50
Grande	Sépalo	Moderado	39	1	0	0	14,08	0,36	0,00	0,00	40
											277
Pequeño	Pedúnculo	Severo	50	0	0	0	19,23	0,00	0,00	0,00	50
Mediano	Pedúnculo	Severo	50	0	0	0	19,23	0,00	0,00	0,00	50
Grande	Pedúnculo	Severo	40	0	0	0	15,38	0,00	0,00	0,00	40
Pequeño	Sépalo	Severo	29	0	0	1	11,15	0,00	0,00	0,38	30
Mediano	Sépalo	Severo	38	2	0	0	14,62	0,77	0,00	0,00	40
Grande	Sépalo	Severo	47	3	0	0	18,08	1,15	0,00	0,00	50
											260

tada a las regiones de crecimiento. Así mismo, una infestación local de este ácaro ocasiona un incremento en el transporte de fosfatos a los ápices y raíces, probablemente producto de una influencia fisiológica por la secreción de saliva, más que en respuesta al daño que ocasiona (Sthorms, 1971). Es importante recordar que en esta investigación las mediciones del NCF se realizaron en los sépalos y pedúnculos, estructuras que a lo mejor no responden fisiológicamente de igual manera que las hojas al ataque de los ácaros y por esa razón no hubo una tendencia con respecto a esta variable atendiendo los diferentes niveles de daño.

Número de braquiesclereidas en sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo de diferentes tamaños y condición con respecto a *B. phoenicis*

La variable NB se ubicó en un rango de 0 a 3 braquiesclereidas.12.399 μm^{-2} en los sépalos y pedúnculos de frutos de diferentes tamaños y condición con relación a *B. phoenicis*, siendo el número cero el valor con mayor frecuencia (cuadro 2).

Según lo observado en esta investigación las braquiesclereidas no fueron abundantes en sépalos y pedúnculos con daños, pero tampoco lo fueron en las estructuras sanas; aún cuando no pueden establecerse comparaciones, por ser estructuras anatómica y funcionalmente diferentes, a nivel del mesocarpo, se han evidenciado numerosas braquiesclereidas de manera dispersa en *Psidium friedrichsthalianum*, and *Syzygium malaccense* (Flores-Vindas, 1999).

In peduncles of little, medium and big fruits a light increase of those healthy was observed (1% of total of fruits analyzed) in comparison to those showing moderate damage (3.6%); but in those with severe damage, the result was of 0% of fruits with brachisclereids.

In sepals tendency was similar, by getting percentages of 3.5, 3.61 and 2.3% for the healthy structures, with moderate and severe damage, respectively. In contrast, the number of sclereids was indicative of damage caused t the guava fruit by fungal *Dothiorella* sp., in where an increase on number of them (Bravo, 2003). In the same way, the decrease on thickness of the wall of these cells was considered a response of tissues to the damage caused by *Botryosphaeria dothidea* in apple *(Malus* spp.) (Kim *et al*., 2001).

Conclusions

Physiological alterations to sepals and peduncles of guava fruits caused by *B. phoenicis* were evidenced like an necrosed superficial layer in substitution of epidermal and parenchymatic tissues, whose thickness increased according to damage level caused by the flat mite. The necrosed superficial layer was macroscopically visible like a region of irregular texture that finally was cracked and removed. These changes could affect the meristematic ability of both tissues for its growing, wound healing and stomas functioning.

P. guineense y *Syzygium malaccense* (Flores-Vindas, 1999).

En los pedúnculos de frutos pequeños, medianos y grandes se observó un ligero incremento de aquellos sin daño (1% del total de frutos analizados) en comparación con lo que presentaron daño moderado (3,6%); pero en aquellos con daño severo, el resultado fue de 0% de frutos con braquiesclereidas.

En los sépalos, la tendencia fue similar obteniéndose porcentajes de 3,5, 3,61 y 2,3% para las estructuras sin daño, con daño moderado y severo, respectivamente. A diferencia de estos resultados, el número de esclereidas fue indicativa del daño ocasionado al fruto del guayabo por el hongo *Dothiorella* sp., donde se determinó un incremento del mismo a medida que éste se deterioraba (Bravo, 2003). De igual manera, la disminución en el espesor de la pared de estas células se consideró como una respuesta de los tejidos ante el daño ocasionado por *Botryosphaeria dothidea* en frutos de manzana *(Malus* spp.) (Kim *et al*., 2001).

Conclusiones

Las alteraciones histológicas a sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo causadas por *B. phoenicis* se evidenciaron como un estrato superficial necrosado en sustitución de los tejidos epidérmicos y parenquimáticos, cuyo espesor incrementó según el nivel de daño ocasionado por el ácaro. El estrato superficial necrosado fue visible macroscópicamente como una región de textura irregular que finalmente se agrietó y desprendió. Estas alteraciones pueden afectar la capacidad meristemática de ambos tejidos importante para su crecimiento, para la cicatrización de las heridas y el funcionamiento de los estomas.

El número de braquiesclereidas y de células con fenoles no fueron variables indicativas del daño ocasionado por *B. phoenicis* a sépalos y pedúnculos de frutos de guayabo.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, CONDES, y al

The number of brachisclereids and of cells with phenols was not indicative variables of damage caused by *B. phoenicis* to sepals and peduncles of guava fruits.

Acknowledgements

Authors want to express their thanks to the Consejo de Desarrollo Científico y Humanistico, CONDES, and to the Fondo Nacional de Ciencia y Tecnologia by the financing to this research through the Program CC-0032-05 and G-2002000588. Also, to the Centro Fruticola del Zulia, CORPOZULIA, Project FONACIT N° F-2001001117 by permitting samplings and maintain guavas collection from this place. To the Professor Dorys Chirinos, responsible of Project FONACIT S1-200100119-LUZ, by permitting the use of microscope LEICA® and the program Image-Pro Plus®.

End of english version

Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología por haber financiado la investigación a través del Programa CC-0032-05 y G-2002000588. Al Centro Frutícola del Zulia, CORPOZULIA, Proyecto FONACIT N° F-2001001117 por permitir los muestreos y mantener la colección de guayabos de ese centro. A la profesora Dorys Chirinos, responsable del Proyecto FONACIT S1-200100119-LUZ, por permitir el uso del microscopio LEICA® y el programa Image-Pro Plus®.

Literatura citada

Araujo F., S. Quintero, J. Salas, J. Villalobos y A. Casanova. 1997. Crecimiento y acumulación de nutrientes del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) del tipo criolla roja en la planicie de Maracaibo. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 14:315-328.

Avilán, L. y M. Millan. 1984. Consideraciones acerca de los sistemas de plantación del guayabo *Psidium guajava* L. en Venezuela. Agronomia Tropical. 34 (4-6):69-80.

Bally I. 1999. Changes in the cuticular surface during the development of mango *(Mangifera indica* L.) cv. Kensington Pride. Scientia Horticulturae 79:13-22.

Bravo, V. 2003. Histología de frutos de *Psidium guajava* L. inoculados con *Dothiorella* sp. Seminario de Convalidacion. La Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, División de estudios para graduados, Programa de Fruticultura. 39 p.

Cárdenas, E. 2001. Curso de Histopatología Vegetal. Programa Fitopatología. Colegio de Postgraduados, México. (Mimeografiado). 317 pp.

Casassa A., J. Matheus, R. Crozzoli y A. Casanova. 1996. Control químico de *Meloidogyne* spp. en el cultivo del guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agr. (LUZ). 13:303-312.

Cedeño, L., C. Carrero y R. Santos. 1998. Podredumbre marrón en frutos del guayabo, causada por *Dothiorella* sp. fase conidial de *Botryophaeria dothidea*, en los estados Mérida y Zulia. Fitopatología Venezolana. 11(1):16-23.

Chirinos-Torres, L., F. Geraud-Pouey, D. T. Chirinos, C. Fernández, N. Guerrero, M. J. Polanco, G. Fernández y R. Fuenmayor. 2000. Efectos de insecticidas sobre *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* Von Ihering (Homoptera: Eriococcidae) y sus enemigos naturales en el municipio Mara estado Zulia, Venezuela. Bol. Entomol. Venezuela. 15(1):1-16.

Flores-Vindas E. 1999. La planta, estructura y función. Volumen I y II. Libro Universitario Regional. Cartago, Costa Rica. 883 p.

Güerere P. y M. Quirós. 2000. Escalas cualitativas del daño hecho por el ácaro plano, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Tenuipalpidae), a frutos del guayabo (*Psidium guajava* L.). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 17:471-481.

Image-Pro Plus. 1999. Versión 4.0 para Windows media Cybernetics, Inc.

Johansen, D. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw-Hill. New Cork. Journal of the Biological Photographic Association. Williams and Wilkins. Baltimore, Md.

Kim K., E. Park, Y. Kim, K. Ahn, P. Kimy y K. Kim. 2001. Latency and defense-related ultrastuctural characteristics of apple fruit tissue infected with *Botryosphaeria dothidea*. Phytopathology 91:165-172.

Ministerio de Producción y Comercio. 2000. "Principales Cultivos Permanentes y Semi-permanentes" en "Estadísticas Agrícolas" de "VI Censo Agrícola de Venezuela".

Peña-Valdivia C., A. Sánchez, C. Trejo, R. Aguirre y E. Cárdenas. 2005. Root anatomy of drought sensitive and tolerant maize (*Zea mays* L.) seedlings under different water potentials. Cereal Research Communications, 33:4.

Quirós M. y Z. Viloria. 1991. Importancia del ácaro plano *Brevipalpus phoenicis*, (Geijskes), Acari: Tenuipalpidae en huertos de guayabo, *Psidium guajava* L., en el Estado Zulia. Revista Agronomía (LUZ) 8(4):155-192.

Quirós M., N. Poleo y Y. Petit. 2002. Evolución del daño en el ápice del fruto de guayaba *Psidium guajava* L., causado por *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). Entomotrópica 17(1):91-96.

Quirós de G., M., Y. Petit de M, N. Poleo y A. Gómez. 2005. Distribución de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) en la planta del guayabo (*Psidium guajava* L.) en La Coruba, municipio Mara, estado Zulia, Venezuela. Entomotrópica 20 (1):39-47.

Quirós M., D. Araujo, L. Urdaneta, N. Poleo y C. Colmenares. 2006. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Prostigmata: Tenuipalpidae) as disseminator of phytopathogenic fungi on guava, *Psidium guajava* L. under lab conditions. XII th International Congress of Acarology 21-26 August. Amsterdan, The Netherlands. Jan Bruin (eds.). 164 p.

Rodríguez, L., S. Pérez y C. Sánchez. 1995. Alteraciones anatómicas de la hoja de *Canna generalis* inducidas por *Puccinia cannae*. Anales de Botánica Agrícola. Vol. 2:30-34.

Romero T. y L. Subero. 1997. Caracterización de los cambios histológicos producidos por *Alternaria helianthi* (hansf.) Tub.Nish. en hojas de plantas de girasol (*Helianthus annus* L.). Anales de Botánica Agrícola. Vol. 4:43-48.

Roth I. 1964. Microtecnia Vegetal. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas. pp. 89.

SAS, Institute. INC. 2005. SAS (Statistycal Analysis System) the Institute INC, Cary, NC. USA.Versión 9.1.3.

Sthorms, J. 1971. Some physiological effects of spider mite infestation on bean plants. European Journal of Plant Pathology. 77(5):154-167.

Tomczyk, A., y D. Kropczynska. 1985. Effects on the host plant. In W. Helle y M.W. Sabelis (Eds.) Spider mites, their, biology, natural enemies and control, Vol. IA. Elsevier, New York. Chapter 1.4.7. p. 327.

Wilcox, D., B. Dove, D. Mc David y D. Greer. 2002. Image Tool for Windows. Version 3.0. The University of Texas Health Science Center. San Antonio, Texas.