

1 **Células idioblásticas de aguacate: fuente de productos naturales con actividad biológica en el**
2 **control de *Spodopetra frugiperda***

3 **A. J. Florez-Medina¹, E. Campos-Rojas¹, A. Barrientos-Priego¹,**
4 **J.E. Rodríguez-Pérez¹**

5
6 **¹Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México–Texcoco. Chapingo, Estado de**
7 **México, C.P. 56230. México. Correo-e: jamer2005@yahoo.com**

8
9 **RESUMEN**

10 En el aguacate se producen un tipo especial de derivados de ácidos grasos de cadena larga, presentes
11 en los ideoblastos, de los cuales se ha demostrado su acción biológica. Este tipo de compuestos poseen
12 propiedades citotóxicas en varios insectos, además de ser potentes bactericidas. Los idioblástos de
13 aguacate contienen compuestos (alcaloides, hidroperóxidos, sesquiterpénicos y probablemente otros
14 terpenos), responsables de una actividad biológica insecticida. En el presente trabajo, se cuantificó y
15 caracterizó los compuestos biológicos presentes en células idioblásticas de aguacate selección Méndez,
16 como posible fuente de insecticidas naturales. Se empleó un sistema comatográfico de gases HP modelo
17 6890, equipado con un detector de ionización de flama. El porcentaje de mortalidad evaluado en *S.*
18 *frugiperda* fue entre 96.9 y 1.04% después de siete días de incubación con extracto metanólico de pulpa
19 de aguacate que causó una mortalidad superior al 50% con valor CL₅₀ de 13.55 mg/ml. El extracto
20 metanólico provocó una disminución en el peso de la larva (39.4%), y no afectó el periodo larval, al
21 aumentar 10 días el periodo de pupa en comparación con las larvas testigo. Los ácidos grasos y los
22 aldehídos identificados en los extractos no polares causaron toxicidad letal reduciendo el peso de la larva
23 y no afectaron el ciclo biológico larval. Existe una variación en la actividad de los compuestos bioactivos
24 presentes en los ideoblastos de aguacate, por lo que estos presentan potencial como insecticidas
25 naturales.

26 **Palabras Clave: *Persea americana*, ácidos grasos, ideoblastos, bioinsecticida.**

27
28 **ABSTRAC**

29 The avocado produce a special type of derivatives of long chain fatty acids, of which action has been
30 demonstrated Biological relevance. Such compounds possess cytotoxic properties, cause toxicity in
31 several insects, in addition to being potent bactericidal. The avocado idioblastes contain other compounds
32 (alkaloids, sesquiterpene, hydroperoxides and possibly other terpenes), responsible for biological activity
33 of insecticides. In this paper, we quantified and characterized the cell biological compounds present in
34 idioblasts from avocado (Méndez selection), as a potential source of natural insecticides. We used a gas
35 comatographer HP model 6890, equipped with a flame ionization detector. The mortality rate evaluated as
36 a biological agent *S. frugiperda* was between 96.9 and 1.04% after seven days of incubation with
37 methanol extract of avocado pulp caused mortality exceeding 50% with LC₅₀ value of 13.55 mg/ml. The
38 methanol extract caused a decrease in the weight of larvae (39.4%), and did not affect larval period,
39 increasing 10 days the pupal period compared with control larvae. Fatty acids and aldehydes identified
40 compounds in the extracts caused lethal toxicity nonpolar reducing the weight of the larvae and did not
41 affect larval biological cycle. There is variation in the activity of bioactive compounds present in
42 ideoblastes avocado, so these have potential as natural insecticides.

43 **Keywords: *Persea americana*, fatty acids, ideoblastes, bioinsecticides.**

44
45

46 INTRODUCCIÓN

47 El intenso uso de plaguicidas de síntesis química ha traído como consecuencia grandes inconvenientes
48 como la resistencia en plagas, la alteración del equilibrio dinámico de los ecosistemas; acumulación de
49 residuos tóxicos a lo largo de las cadenas tróficas; eliminación de enemigos naturales; efectos letales en
50 humanos y animales domésticos por intoxicación directa; así como diversas afecciones humanas (cáncer,
51 esterilidad, daños al sistema nervioso) y en general, un deterioro de la salud de quienes consumen
52 alimentos con residuos de ellos; el surgimiento de nuevas plagas y el incremento en los costos de
53 producción (Soto *et al.*, 2000).

54 En todo el mundo, año con año, los cultivos destinados a satisfacer las necesidades básicas de la
55 humanidad se ven mermados en su producción debido a la gran incidencia de plagas y el daño que éstas
56 producen (disminución en la calidad rendimiento de las cosechas; favorecen (Hernández, 2000). El uso
57 irracional de éstos ha traído consigo efectos colaterales como el desarrollo de poblaciones de plagas
58 resistentes, eliminación de enemigos naturales de plagas, acumulación de residuos tóxicos a lo largo de
59 las cadenas tróficas, inducción de diversas afecciones humanas por el consumo de alimentos con
60 residuos tóxicos, entre otros (Rodríguez y Trumble, 2000; Soto *et al.*, 2000).

61 A partir de la necesidad de encontrar una alternativa natural para el control de insectos plagas y
62 reemplazar los insecticidas sintéticos, se retoma el estudio de compuestos vegetales con actividad
63 biológica ofreciendo seguridad para el medio ambiente y una eficiente opción agronómica (Borembaum,
64 1989).

65 Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas
66 con importancia contra insectos plagas (Pantoja, 2010). La selección de plantas que contengan
67 metabolitos secundarios susceptibles de ser utilizados como insecticidas naturales deben ser de fácil
68 cultivo y con principios activos potentes, con alta estabilidad química y de óptima producción (Curtis *et al.*,
69 2003); de fácil obtención, renovables y (Aldana *et al.*, 2000).

70 La composición quimiotaxonómica de la familia Laurácea, se caracteriza por la presencia de metabolitos
71 como: acetogeninas (de acción contra la herbivoría), ácidos grasos, aceites esenciales (mono y
72 sesquiterpenoides), diterpenoides, triterpenoides, saponinas, alcaloides, fenilpropanoides (lignanos y
73 neoligninas), polifenoles y flavonoides, carbohidratos, fitosteroles, grasas, derivados de ácidos grasos,
74 carotenoides y derivados de ácido abscísico (Hegnauer, 1980; Ramos-Jerz, 2007).

75 En el mesocarpio de aguacate (*Persea americana* Mill.) se encuentran unas células especializadas
76 llamadas idioblastos, que en muchas plantas dicotiledóneas almacenan aceites, grasas, lípidos, terpenos,
77 flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y acetogeninas (Platt y Thomson, 1992). El aguacate contiene
78 ideoblastos en hojas, raíces, pedicelos, pedúnculos y frutos (Amstrong, 1964).

79 Estas células oleaginosas están presentes en los frutos maduros de aguacate y en los muy jóvenes
80 desde dos o tres días después de la polinización en concentraciones que varían de 2 a 15% (Platt-Aloia
81 y Thomson, 1983).

82 Los idioblastos de aguacate, se caracterizan por estar rodeados de células poliédricas a redondeadas, de
83 las cuales sus paredes están engrosadas y suberizadas, y contienen una gota de aceite. El saco de
84 aceite llena la célula y su contenido es una mezcla de ácidos grasos saturados e insaturados con ligeras
85 trazas de terpenos (Roth (1977). Los lípidos de las células parenquimáticas son principalmente
86 triglicéridos (Mazliak, 1971). Mientras que los principales grupos de sustancias lipófilicas de actividad
87 farmacológica y toxicológica conocido en aguacate son: compuestos furónicos, vinílicos, acetilénicos y
88 derivados trihidroxilados (conocidos como avocatinas o avocafuranos) (Ramos-Jerz, 2007). Otros
89 compuestos son las acetogeninas y en fracciones polares las protoantocianidinas (Rodríguez-Saona y
90 Trumble, 2000).

91

92

93 **OBJETIVO**

94 Aislar e identificar compuestos activos en ideoblastos de aguacate y determinar su actividad biológica
95 como fuente de insecticidas

96

97 **MATERIALES Y METODOS**

98 **Material biológico**

99 Frutos de Aguacate selección 'Méndez' se obtuvieron de la huerta "La Palma", localizada en Zirahuen,
100 Michoacán. Se cosecho la fruta en madurez fisiológica en el ciclo de producción de 2010. Se
101 transportaron al Laboratorio de Fisiología de Frutales del Departamento de Fitotecnia en la Universidad
102 Autónoma Chapingo, en donde se procesaron para la obtención de ideoblastos a partir de la pulpa del
103 fruto.

104 **Extracción e identificación compuestas a partir de células idioblásticas de aguacate**

105 La extracción de los ácidos grasos provenientes de células idioblásticas de pulpa de aguacate se hizo
106 mediante protocolo propuesto por Cruz-Castillo *et al.* (2007). Para la identificación de los ácidos grasos,
107 se empleó una muestra de aceite de 100 μ l, se pesó y agregaron 1400 μ l de la mezcla
108 cloroformo:metanol (2:1), para evitar la solidificación de los metil-esteres. A 100 μ l de la mezcla se
109 agregó 1 ml de metanol: ácido clorhídrico 0.2N y se inyectó a un cromatógrafo de gases HP modelo 6890
110 con un método isotérmico a 175°C acoplado a un Detector FID a 230°C, e inyector a 200°C. Se empleó
111 una columna Supelco SP-2560 de 100 m x 250 μ m de diámetro interno y con espesor de película de 0.20
112 μ l e inyector Split con muestreador automático Agilent modelo 7683 (IOOC, 2008).

113 **Evaluación de la actividad biológica**

114 Para las pruebas de toxicidad se preparó una dieta artificial para el mantenimiento de larvas de
115 *Spodoptera frugiperda*. A 30 ml de ésta se incorporaron 450 μ l de la solución de extracto crudo a una
116 concentración de 4 mg/ml (la concentración se expresó como mg de extracto crudo/ml de dieta). La
117 solución de cada extracto consistió de 480 mg de extracto crudo disueltos en 1.8 ml de disolvente (según
118 el tipo de extracto: hexano, metanol y cloroformo). Los testigos consistieron de larvas expuestas a la dieta
119 con un disolvente (cloroformo, hexano, metanol) y una mezcla de dieta con solución de Fosdrim® a 1000
120 ppm (insecticida organofosforado comercial 90%). Una vez preparadas las placas de evaluación y
121 reposadas por 24 h, en cada uno de los pozos de la placa se colocaron dos larvas neonatas de *S.*
122 *frugiperda*. Al segundo día del experimento se quitó una de ellas (la más débil). Las placas fueron
123 incubadas bajo condiciones controladas (27°C \pm 1 °C, 60% \pm 5% HR y fotoperiodo luz: oscuridad de 16.8
124 h) durante siete días. Cada tratamiento se realizó con cuatro repeticiones, cada uno con 24 larvas. Las
125 placas se revisaron diariamente y se registró el número de larvas muertas. De este bioensayo se
126 determinaron aquellos extractos que causaron más del 50% de mortalidad a concentración de 4 mg/ml y
127 con ellos se evaluó la CL₅₀. La CL₅₀ (Concentración letal media) y sus límites de confianza se
128 determinaron con análisis Probit utilizando POLO-PC (2002).

129 Los datos de mortalidad de la larva y el efecto en el desarrollo biológico causados por los extractos
130 crudos (ganancia o pérdida de peso), fueron sometidos a un diseño experimental completamente al azar.
131 El porcentaje de mortalidad fue transformado a [Arcoseno (M/100)], después fueron analizados
132 mediante análisis de varianza usando PROC GLM y una comparación múltiple de medias mediante la
133 prueba de Tukey (SAS Institute, 2008).

134
135
136
137
138

139 **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

140

141 **Identificación de ácidos grasos**

142 Se metilaron los ácidos grasos para formar ésteres (IOOC, 2008). Para lo cual 0.2 ml de NaOH (2N)
143 metanólico-anhidro se adicionaron a 0.1 g de extracto de aceite de pulpa de aguacate Méndez y se
144 adicionaron 2 ml de hexano. La cuantificación se realizó por comparación de los tiempos de retención de
145 las muestras con los datos registrados por estándares calibrados (RESTEK # Cat. 35077), según el
146 método cromatografico descrito anteriormente. En el Cuadro 1, se enlistan los ácidos grasos presentes
147 en la pulpa de aguacate Méndez.

148 **Cuadro 1. Concentración total de ácidos grasos en aceite de pulpa de aguacate* 'Méndez'.**

Nombre del ácido	Concentración de ác. graso (mg/g aceite)	Concentración de ác. graso (mg/100g pulpa)
Butírico	0.000029485	0.000573188
Hexanoico	0.028121685	0.546685565
Dodecanoico	0.000101279	0.001968864
Pentadecanoico	0.018316834	0.356079256
Palmítico	0.096900503	1.883745769
Palmitoleico	0.02421397	0.470719574
Heptadecanoico	0.002905427	0.056481504
Octadecenoico	0.001054613	0.020501673
Oleico	0.000155327	0.00301956
Linoleico	1.91567E-05	0.000372406
Octadecatrienoico	3.99737E-05	0.000777088
Eicosenoico	0.001022696	0.01988121
Eicosatrienoico	6.99963E-05	0.001360729

149 *19.44 g aceite de LPF7 = 100 g pulpa seca

150

151 Los ácidos grasos constituyentes del aceite de Méndez corresponden, en su mayoría, a los insaturados
152 con un alto porcentaje de monoinsaturados. Olaeta (1990), afirma que el aceite crudo de aguacate
153 contiene alrededor de un 80 a 85% de ácidos grasos insaturados, así como un importante nivel de
154 materia insaponificable. El estado de desarrollo del fruto es un factor que influye en el contenido de aceite
155 junto a otros componentes esenciales (Mazliak, 1971). En la literatura, no existen parámetros
156 establecidos del perfil lipídico para aguacate selección Méndez.

157 **Evaluación de la actividad biológica**

158 En el presente estudio los extractos (hexanólico, clorofórmico y metanólico) mostraron efectos larvicida
159 (**Cuadro 2**). La mayor mortalidad de larvas se encontró en el extracto hexánico de *Persea americana*,
160 selección Méndez. El porcentaje de mortalidad evaluando en larvas de *S. frugiperda* fue de 57.29^a 96.9%
161 después de siete días de incubación con los extractos evaluados.

162

163

164

165

166 **Cuadro 2. Porcentajes de Mortalidad promedio (%M) de larvas neonatas de *S. frugiperda***
 167 **alimentadas por siete días con extractos (4 mg/ml) de pulpa de aguacate selección Méndez.**

Tratamiento	%M (\pm EE ¹)
Fosdrim	100 (0) a ^z
Extracto Hexánico	96.875 (1.99) a
Extracto Clorofórmico	93.750 (3.99) a
Extracto Metanólico	57.292 (2.62) b
Dieta + Metanol	1.042 (1.04) c
Dieta + Hexano	0 (0) d

168 ^z Valores con la misma letra dentro de factor en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de
 169 Tukey a una $P \leq 0.05$, ¹EE= error estándar.

170
 171 Se observaron diferencias significativas ($P=0.05$) entre tratamientos con un pequeño coeficiente de
 172 variación (14.3%). Ninguno de los controles negativos causó mortalidad sobre las larvas. Mientras que el
 173 control positivo (Fosdrim) causó el 100% de mortalidad. El extracto metanólico y clorofórmico provocaron
 174 una mortalidad (96.8 y 93.7%, respectivamente).

175 En este estudio se determinó que a dos días de incubación, el extracto hexánico de pulpa de aguacate
 176 causó su máximo efecto tóxico letal el cual se mantuvo hasta los siete días de incubación. Mientras que
 177 el extracto clorofórmico lo causó a partir del cuarto día de incubación. En el resto de tratamientos el
 178 efecto letal fue progresivo y a los siete días se fue de 96.8%.

179 Los extractos evaluados no afectaron el ciclo biológico de desarrollo de *S. frugiperda*, por lo que la
 180 actividad de estos extractos se concreta a su actividad larvicida. Aunque la actividad del extracto polar
 181 metanólico fue bajo en larvas sobrevivientes (**Cuadro 3**), cuando se evaluaron y compararon diferentes
 182 concentraciones del extracto, con la finalidad de comparar su efectividad y bajo porcentaje de mortalidad
 183 con respecto al resto de los extractos.

184 **Cuadro 3. Peso promedio (P) y porcentaje de peso (%P) de larvas sobrevivientes de *S. frugiperda***
 185 **a diferentes días de tratadas con extracto metanólico de pulpa de aguacate selección Méndez.**

Tratamiento	Días						
			Tres		Seis		Nueve
		N	P(mg) (%EP)	N	P(mg) (%EP)	N	P(mg) (%EP)
Testigo (Dieta con Metanol)		96	4.87 (*)a	96	121.71 (*)a	96	453.17 (+*)a
Extracto metanólico (2 mg/ml)	(2	96	3.36 (-31.01)b	96	73.72 (-39.43)b	96	287.99 (+39.4)b
Extracto metanólico (6 mg/ml)	(6	90	1.98 (-59.34)c	76	43.27 (-64.45)c	76	171.69 (+ 64.5)c
Extracto metanólico (10 mg/ml)	(10	30	1.91 (-60.78)c	22	22.19 (-81.77)d	22	139.95 (+81.8)d
CV ¹			15.12		4.73		3.88

186 ^z Valores con la misma letra dentro de factor en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de
187 Tukey a una $P \leq 0.05$. CV¹: coeficiente de variación. N= número de larvas evaluadas.
188

189 Se determinaron diferencias significativas entre tratamientos, se observó que el peso de la larva
190 alimentada con el extracto metanólico disminuyó el peso de la larva (31.01 a 81.2%) y afectó el periodo
191 larval, al aumentar 10 días el periodo de pupa en comparación con las larvas testigo. Esta actividad
192 representa porcentajes de reducción de peso significativo a tres días de incubación (31 a 60%), lo que
193 indica que el extracto metanólico tiene efecto en la alimentación de las larvas de *S. frugiperda* (Colom *et*
194 *al.*, 2007).

195 Hasta el momento solo se ha determinado para el extracto metanólico tres concentraciones entre 2 y 16
196 mg/ml y los datos de mortalidad se han ajustado a un modelo probit ($X^2=8.75$), el valor CL₅₀ para este
197 extracto fue de 13.55 mg/ml (9.78 a 30.76 mg/ml, $\alpha=0.005$).

198 Rahuman *et al.* (2008) demostraron que el extracto de éter de petróleo de *Indicum abutilón* mostró alta
199 actividad larvicida contra el mosquito *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* y *Culex quinquefasciatus*
200 debido a la presencia de β -sitosterol en la composición del extracto. Oberlies *et al.* (1998) aislaron los
201 compuestos: 1,2,4-trihidroxi-nonadecane, 1,2,4-trihidroxi- heptadec-ene-16-, y 1,2,4-trihidroxi heptadec-
202 16-ino, en los frutos de aguacate sin madurar, que mostraron los siguientes valores de toxicidad (CL₅₀):
203 2.8, 1.3 y 6.4 x 10⁻¹ mg·ml⁻¹, respectivamente, con *Artemia salina*. Contra larvas de *Aedes aegypti*, los
204 valores de CL₅₀ fueron de 1,8, 2,1 x 10⁻¹ y 7,5 x 10⁻² mg·ml⁻¹, respectivamente. β -sitosterol se detectaron
205 en el extracto hexánico de las semillas de *Persea americana* y puede ser responsable de su actividad
206 larvicida. Algunos ácidos grasos también presentan actividad antimicrobiana y esta acción está
207 relacionada con la presencia y posición de un enlace doble o triple, así como la longitud de la cadena de
208 ácidos grasos (> C₁₄) (Kabara *et al.*, 1997). En el presente estudio, los extractos de metanol mostraron
209 presencia de compuestos fenólicos como los flavonoides y antocianinas, para los cuales se han
210 reportado actividad antimicrobiana, así como alcaloides con varias aplicaciones (antivirus, anti malaricos
211 y antiamebianos) (Henriques, 2004).

212

213 CONCLUSIONES

214
215 Los extractos de ácidos grasos a partir de ideoblastos de aguacate tienen acción biológica sobre *S.*
216 *frugiperda*.

217 Se observaron efectos en el desarrollo de las larvas después de que se expusieron a siete días de
218 incubación; sin embargo, la selección de los mejores extractos crudos se hizo en función de la toxicidad
219 letal que causaron.

220
221 Los extractos crudos de ideoblastos de pulpa de aguacate Méndez (hexánico y clorofórmico), registraron
222 el mayor porcentaje de mortalidad en larvas neonatas de *S. frugiperda* (96.87% y 93.7%,
223 respectivamente).

224
225 Los ácidos grasos presentes en las fracciones activas de los extractos, causan toxicidad letal, efecto en
226 el peso y no el ciclo biológico de las larvas tratadas.

227
228 Existe una variación en la actividad de los compuestos bioactivos presentes en los ideoblastos de
229 aguacate, por lo que estos presentan potencial como insecticidas naturales.

230

231

232 **AGRADECIMIENTOS**

233 Se agradece en forma especial a la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Investigación en
234 Frutales de la Dirección de Investigación y Posgrado, por el apoyo brindado para la realización de este
235 trabajo.
236

237 **LITERATURA CITADA**

238 ALDANA LLANOS, L., R. ARZAFFI Y M. E. VALDÉS. 2000. Efecto antialimentario del polvo de semilla de
239 Guamuchil *Pithecellobium dulce* sobre el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*. Memorias del VI
240 Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Acapulco,
241 Guerrero, México.

242 BOREMBAUM, M.R. 1989. What is synergy? *Pharmacological Reviews* 41: 93-141.

243
244 COLOM O.A; NESKE, A; POPICH, S; BARDÓN, A. 2007. Toxic effects of annonaceous acetogenins from
245 *Annona chirimolla* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:
246 Noctuidae). *J. Pest. Sci.* 80:63-67.

247
248 CRUZ-CASTILLO, J. G; O. A. DEL ÁNGEL-CORONEL; J. DE LA CRUZ-MEDINA; JOAQUÍN-MARTÍNEZ.
249 2007. Características Morfológicas Y Bioquímicas De Frutos De Chinene (*Persea schiedeana*
250 Nees.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 13(2): 141-147.

251 CURTIS, C., BARNES, K. M., SMALLEY, P. M., KIRK, K. KINDSCHER, HILLARY L. Y DOUGLAS M. S.
252 2003. Characterization of an antituberculosis resin glycoside from the prairie medicinal plant
253 *Ipomoea leptophylla*. *Journal of Natural Products* 66(11): 1457-1462.

254 GIFFONI, L. J.J; SALLES, B. E.H; AGUIAR, C.R; BRILHANTE, N.R.S; COSTA, S.J.J; MEDEIROS, B. L;
255 DE MORAIS, M.S; GADELHA, F.R.M. 2009. Chemical composition, toxicity and larvicidal and
256 antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts *Revista da Sociedade Brasileira*
257 *de Medicina Tropical* 42(2):110-113.

258
259 HENRIQUES, A.T; LIMBERGER, R,P; KEBER, V.A; MORENO, P.R.H. 2004. Alcalóides: generalidades e
260 aspectos básicos. *In: Simões, C.M.O; Schenkel, E,P; Gosmann, G; Mello, J.C.P; Mentz, L.A;*
261 *Petrovick, P.R (eds) Farmacognosia: da planta ao medicamento, 5nd edition, UFSC,*
262 *Florianópolis, p.765-793.*

263
264 HERNÁNDEZ, R. 2000. Propiedades plaguicidas del epazote *Teloxys mbrosioides* (Chenopodiaceae).
265 Memorias del VI Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de
266 Plagas. Acapulco, Guerrero, México.

267 INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. 2008 COI/T20/Doc. No. 24.

268 KABARA, J.J, VRABLE, R; LIE, K. J. M. 1977. Antimicrobial lipids: Natural and synthetic fatty acids and
269 monoglycerides. *Lipids* 12: 753-759.

270
271 Leora Software. 2002. POLO-PC, Probit and logist analysis, user's guide. LeOra Software, Berkeley. C.A.

272 OBERLIES, N.H; ROGERS, L.L; MARTIN, J.M; MCLAUGHLIN, J.L. 1998. Cytotoxic and Insecticidal
273 Constituents of the Unripe Fruit of *Persea americana*. *Journal of Natural Products* 61: 781-785.

274
275 PANTOJA G. L.E. 2010. Productos naturales de *Ipomea pausiflora* con actividad Biológica sobre Insectos
276 (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Doctorado. Centro de Investigación en Biotecnología.
277 Universidad Autónoma de Morelos. 95 p.

- 278
279 RAMOS-JERZ M. R. 2007. Phytochemical analysis of avocado seeds (*Persea americana* Mill., c.v.
280 Hass). Cuvilier Gottingen. Berlin. Alemania. 318 p.
281
282 SAS Institute. 2008. SAS Systems for Linear Models, Statistics User's Manual. SAS Institute, Inc., Cary,
283 NC.
- 284 PLATT-ALOIA, K.A. AND W. W. THOMSON. 1983. Freeze fracture of intact plant tissue. *Stain Technol.*
285 57:327-334.
286
287 PLATT, K.A AND W. W. THOMSON. 1992. Idioblast oil cells of avocado: Distribution, isolation,
288 ultrastructure, histochemistry and biochemistry. *Int. J. Plant Sci.*, 153(3):301-310.
- 289 OLAETA, J. 1990. Industrialización de palta, pp. 1-6. In: Producción, Postcosecha y Comercialización de
290 Paltas. Red de Cooperación Técnica en Procesamiento de Frutos Tropicales. Viña del Mar 2-5
291 octubre.
- 292 ROTH I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Germany.
- 293 RODRIGUEZ-SAONA L. E; M. M. GIUSTI AND R. E. WROLSTAD. 1998. Anthocyanin pigment
294 composition of red-fleshed potatoes. *J Food Sci.* 63:458-465.
- 295 RODRÍGUEZ-SAONA C AND J. T. TRUMBLE. 2000. Biologically active aliphatic acetogeninas from
296 specialized idioblast oil cells. *Current Organic Chem.*, 4:1249-1260.
- 297 SOTO NIETO R. M., B. I. JUÁREZ F. AND Y. JASSO P. 2000. Evaluación insecticida de *Parthenium*
298 *incanum* y de *Zinnia* spp. en *Sitophilus zeamais*. Memorias del VI Simposio Nacional sobre
299 Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Acapulco, Guerrero, México.