

Fisiología y calidad postcosecha del aguacate cv. Hass infectado con el *Avocado sunblotch viroid* en Michoacán, México.

Moisés Roberto Vallejo Pérez, Daniel Téliz Ortiz, Daniel Nieto Ángel, Daniel Leobardo Ochoa Martínez, Guadalupe Valdovinos Ponce* (Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Fitopatología. 56230. Texcoco, México), *María Teresa Colinas León* (Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, México.), *Rodolfo De La Torre Almaraz* (FES-IZTACALA-UNAM. Unidad de Biotecnología y Prototipos. 54090. Avenida de los Barrios 1, Los Reyes, Iztacala, Tlalnepanitla, México). *Correspondencia: dteliz@hotmail.com

Resumen

El efecto del *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) en la fisiología y calidad postcosecha se determinó en frutos de aguacate cv. Hass sintomáticos y asintomáticos. La presencia del ASBVd se confirmó por RT-PCR e hibridación dot-blot en pulpa de frutos asintomáticos y con síntomas. El ASBVd en frutos con síntomas redujo del contenido de aceite en 30-34%, materia seca en 8-10 % y ocasionó maduración desuniforme debido a una reducción de 20-22 % en la tasa respiratoria y 49-54 % en la producción de etileno, que causó pérdidas de 33 % debido a senescencia prematura y 13 % por falta de maduración; el tamaño de los frutos sintomáticos se redujo en 8-10 %. Los frutos asintomáticos cumplieron con los estándares de calidad exigidos en mercados nacionales e internacionales y su fisiología, maduración y calidad no fueron afectados; además, fueron clasificados como calidad suprema (211-265 g) y primera (172-210 g) según las normas mexicanas NMX-FF-016-SCFI-2002 y NMX-FF-08. La calidad bromatológica de la pulpa de frutos con síntomas es aceptable y puede ser aprovechada en fresco o industrializada ya que supera los mínimos exigidos para su consumo.

Palabras clave: *Persea americana*, ASBVd, dot blot hibridación, RT-PCR

Summary

The effect of *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) on the physiology and postharvest quality was determined on symptomatic and asymptomatic fruits cv. Hass. The presence of ASBVd was RT-PCR and dot-blot hybridization detected in the flesh of asymptomatic and symptomatic fruits. ASBVd in symptomatic fruits reduced oil content in 30-34 %, dry matter in 8-10 % and caused irregular maturation due to a reduction of 49-54 % in ethylene production and 20-22% of carbon dioxide, which caused 33 % fruit losses due to early senescence and 13 % due to lack in maturity. Size of symptomatic fruits was 8-10 % reduced. Asymptomatic fruits kept the quality standards demanded in national and international markets and its physiology and quality were not affected; besides they were classified as "Calidad suprema" (211-265 g) and "Primera" according to Mexican norms NMX-FF-016-SCFI-2002 y NMX-FF-08. Bromatological quality of flesh from symptomatic fruits was acceptable for fresh or industrialized consumption.

Key words: *Persea americana*, ASBVd, dot blot hybridization, RT-PCR

Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill) es un cultivo tropical originario de Mesoamérica y actualmente está distribuido en todo el mundo (Galindo-Tovar *et al.*, 2008). México fue el principal productor mundial en el 2010 (SIACON, 2011). El fruto es muy apreciado por su alto contenido de aceites, hidratos de carbono, proteínas y vitaminas; además, tiene alto potencial agroindustrial (Forero *et al.*, 2007). La calidad del fruto en postcosecha puede ser afectada por factores bióticos y abióticos (Kader, 2002). Recientemente, en un huerto localizado en el municipio de Tingambato, Michoacán se reportó la presencia del *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) causando en frutos, brotes, ramas y hojas los síntomas típicos de la enfermedad (De La Torre-Almaraz *et al.*, 2009). El ASBVd es el único viroide de importancia económica en el aguacate, debido a que causa disminución del rendimiento, calidad y del tamaño de la fruta procedente de árboles infectados (Semancik, 2003). La cuantificación de los efectos del viroide en la calidad de los frutos en postcosecha no se ha estudiado, por lo que los objetivos del presente trabajo fueron cuantificar los efectos del ASBVd en la calidad y fisiología de la maduración de los frutos.

Materiales y Métodos

Cosecha de Frutos. Frutos de aguacate en madurez fisiológica se cosecharon de árboles infectados con el ASBVd de un huerto localizado a 19.43729° LN y 101.87207° LO y 1,631 msnm en

el municipio de Tingambato, Michoacán durante el 2009. La unidad experimental fue un árbol con tres repeticiones y de cada árbol se colectaron 60 frutos. Se cosecharon frutos sintomáticos (con grietas amarillas o rojizas) de árboles con vigor regular (S), frutos asintomáticos de árboles de vigor regular (AR) y frutos asintomáticos de árboles vigorosos (A). Los frutos se colocaron en cajas de cartón, se transportaron al Laboratorio de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo donde permanecieron bajo condiciones de laboratorio (23 ± 2 °C y 50 % de HR) hasta alcanzar su madurez de consumo.

Diagnóstico molecular. La extracción de RNA se hizo a partir de 5 frutos cosechados de cada árbol (A, AR y S) según la metodología propuesta por Mackenzie *et al.*, (1997) y Ling-Wen *et al.*, (2008), con las siguientes modificaciones: se maceraron 0.05 g de tejido del mesocarpio en mortero con 500 μ L de buffer de extracción (clorhidrato de guanidina 6 M, acetato de sodio 0.2 M, EDTA 25 mM, acetato de potasio 1 mM, PVP-40 al 2.5 %, β -mercaptoetanol al 1% (adicionado al momento), pH 5.7). La muestra se transfirió a un tubo Eppendorf y se adicionaron 100 μ L de n-lauril sarcosina al 10%. La muestra se incubó en baño María a 70 °C durante 10 min y en hielo por 5 min, posteriormente se centrifugó a 14,230 x g a 4 °C durante 10 min. Se transfirieron 300 μ L de la fase líquida intermedia a un tubo Eppendorf nuevo y se adicionaron 150 μ L de etanol absoluto frío (-20 °C), 300 μ L de yoduro de sodio (NaI 6 M, sulfito de sodio anhidro 0.166 M) y 50 μ L de sílica resuspendida (dióxido de silicón 1 g·mL⁻¹, pH 2). Posteriormente, las muestras se incubaron a temperatura ambiente (TA) durante 30 min en agitación y se centrifugaron a 3,575 x g durante 1 min a 24 °C y el sobrenadante se eliminó. La sílica se lavó tres veces con 1 mL de buffer de lavado (TRIS-HCl 10 mM, EDTA 0.5 mM, NaCl 50 mM, etanol al 50 %, pH 7.5), previa resuspensión y centrifugación por 1 min a 3,575 x g. La sílica se secó a TA, se resuspendió en 100 μ L de agua libre de nucleasas y los tubos se colocaron en baño María a 70 °C durante 4 min, finalmente se centrifugaron a 14,230 x g durante 3 min a TA y el sobrenadante se transfirió a un tubo Eppendorf nuevo. Las muestras de RNA se analizaron por RT-PCR según Schnell *et al.*, (1997) con algunas modificaciones, utilizando la SuperScript™ III One-Step RT-PCR (Invitrogen™). Los componentes por reacción de 5 μ L fueron: 2.5 μ L buffer de PCR 2X, 0.25 μ L de iniciador forward 10 μ M (5'-AAGTCGAAACTCAGAGTCGG-3'), 0.25 μ L de iniciador reverse 10 μ M (5'-GTGAGAGAAGGAGGAGT-3'), 0.5 μ L PVP-40 al 10%, 0.2 μ L SuperScript™ III RT/ Platinum® Taq Mix, 0.3 μ L RNA de muestra vegetal y 1 μ L de agua libre de nucleasas. Las condiciones del termociclador utilizadas fueron: retrotranscripción (50 °C 32 min, 94 °C 2 min), amplificación por PCR repetido 30 ciclos (94 °C 15 seg, 53 °C 15 seg y 68 °C 30 seg) y extensión (68 °C 5 min, 14 °C ∞). La verificación de los productos de PCR se realizó en gel de agarosa al 1 % en buffer TBE 0.5X a 100 volts y 80 mA durante 40 min. Los productos de PCR fueron purificados con el kit Wizard® (Promega) según el manual y los productos fueron secuenciados en la UBIPRO-UNAM-FES-Iztacala.

Respiración, producción de etileno y maduración. Bajo condiciones de laboratorio se evaluaron la velocidad de respiración (CO₂) y la producción de etileno (C₂H₄) durante el proceso de maduración de los frutos, según el método estático descrito por Alia-Tejacal *et al.* (2002). Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian Star 3400® equipado con detectores TCD (detector de conductividad térmica) para determinación de CO₂ y FID (detector de flama de ionización) para determinación de etileno, bajo las siguientes condiciones: columna 80 °C, detector TCD 170 °C, filamentos 210 °C, inyector 150 °C y detector FID 250 °C. El patrón de maduración se evaluó al tacto mediante una escala subjetiva de tres categorías: frutos de textura dura, frutos cambiantes y frutos suaves (López-López y Cajuste-Bontemps, 1999).

Variables físicas de calidad. La pérdida de peso se midió con una báscula electrónica OHAUS® (0.1-1500 gr). La firmeza en pulpa se determinó en ambos lados ecuatoriales de frutos durante su proceso de maduración y se utilizó un texturómetro Gauge MECMESIN® equipado con puntal cónico de 9.4 mm de diámetro aplicando una fuerza constante a una distancia de 5 mm. Los valores se registraron en newtons (N) (Watada, 1995). La materia seca se evaluó en frutos con madurez fisiológica; diez gramos de tejido del mesocarpio permanecieron en una cámara de secado a 75 °C durante 48 horas (AOAC, 1998) y el tamaño de frutos se registro utilizando un vernier.

Análisis bromatológico. El contenido de ácidos grasos totales (aceite) en pulpa se determinó por extracción con éter etílico anhidro, evaporación y cuantificación por peso (Stewart, 1989). El contenido proteínico se calculó obteniendo el nitrógeno orgánico total mediante el método de

digestión de Kjeldahl (Bremner, 1965) y multiplicando el porcentaje de nitrógeno por 6.25 (Stewart, 1989). La fibra cruda y contenido cenizas se cuantificaron con base en la metodología propuesta por la AOAC (1998). Los azúcares reductores totales por el método volumétrico de Lane-Eynon, según la metodología descrita por la AOAC (1998). El contenido energético (Kcal/100 gr) se calculó a partir del valor calórico aportado por proteínas, aceites y azúcares en cada muestra analizada, según el sistema Atwater modificado (Merrill y Watt, 1955).

Por cada unidad experimental las variables firmeza, materia seca y pérdida de peso, se analizaron utilizando 5 frutos (repeticiones) y para comparar tamaño se utilizaron 90 frutos (10/árbol). El contenido de aceite, proteínas, azúcares, fibra cruda y cenizas se determinó en una muestra compuesta por 5 frutos en madurez de consumo de cada árbol muestreado. La producción de CO₂ y C₂H₄ se analizó en una muestra compuesta de tres frutos de cada árbol S, AR y A. El análisis de la varianza y comparación de medias se realizó por la prueba de Tukey $p \leq 0.05$. El patrón de maduración se analizó utilizando 5 frutos por árbol y la separación de medias mediante la prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) $p \leq 0.05$, utilizando el paquete estadístico SAS[®]. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar.

Resultados y Discusión

Los síntomas del *Avocado sunblotch viroid (ASBVd)* en frutos se caracterizaron por la presencia de grietas y manchas deprimidas de color blanco-amarillento o púrpura sobre la superficie del exocarpio (cáscara); además, en ocasiones los síntomas pueden incluir necrosis epidérmicas y al madurar los frutos sintomáticos las lesiones se tornan rojizas; similares observaciones reportó De La Torre *et al.*, (2009) y Schnell *et al.*, (1997). Los síntomas pueden presentarse durante las diferentes etapas de desarrollo del fruto y pueden cubrir hasta el 90 % de la superficie del exocarpio causando deformaciones; sin embargo, es posible encontrar frutos sintomáticos y asintomáticos en el mismo árbol infectado. El análisis por RT-PCR y la secuenciación de los productos confirmó la presencia del *ASBVd* en el mesocarpio (pulpa) de los frutos sintomáticos y asintomáticos analizados. De La Torre *et al.* (2009) reportaron involucrada la variante asintomática (*ASBVd-Sc*) (GenBank accesos Nos. EU888588 y EU888590) asociada a frutos sintomáticos y asintomáticos, según la clasificación de Semancik y Szychowski (1994) que también mencionan las variantes *ASBVd-B* y *ASBVd-V* asociadas a tejidos sintomáticos, de las cuales De La Torre *et al.*, (2009) reportan principalmente la variante *ASBVd-Sc* (GenBank accesos Nos. EU888589, EU888591, EU888592, EU888593, EU888594, EU888595, EU888596 y EU888597) en los tejidos sintomáticos analizados. Markarian *et al.*, (2004) mencionan que en tejido de frutos sintomáticos existe mayor concentración de moléculas de RNA del viroide respecto a los frutos asintomáticos, situación que se observó durante la electroforesis de productos de PCR de pulpa procedente de frutos con síntomas los cuales manifestaron mayor intensidad de señal de las formas monoméricas (247 pb) y dimericas (494 pb) del viroide (Figura 1) y que posteriormente se verificó por hibridación donde el mesocarpio de frutos sintomáticos mostró la mayor señal de hibridación, respecto a los tejidos de frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos (Figura 2).

El aguacate posee una elevada tasa respiratoria (CO₂) y de producción de etileno (C₂H₄) que son características típicas de los frutos climatéricos (Kader, 2002). Los frutos de aguacate cosechados de árboles vigorosos (A) manifestaron los patrones típicos caracterizados por un incremento súbito en la producción de etileno que se correlaciona con el aumento de la tasa respiratoria; sin embargo, los frutos cosechados de árboles de vigor regular (AR y S) presentaron una reducción significativa ($Pr \leq 0.05$) de 20-22 % en su respiración y de 49-54 % en la producción de etileno, siendo mayor en frutos sintomáticos (S) (Figura 3). Las alteraciones ocurridas en la respiración y producción etileno afectaron el patrón de maduración principalmente en frutos sintomáticos, ya que 13 % de los frutos maduraron de manera precoz a los 4 días DDC (Figura 4 C) y 13 % no maduraron 10 DDC (Figura 4 A). Las pérdidas acumuladas a 10 DDC en frutos sintomáticos fueron de 46 % de las cuales 33 % fue por senescencia y 13 % por falta de maduración. Los frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular (AR) presentaron un retraso de 2-4 días en el inicio de la maduración (6 DDC) respecto a los frutos cosechados de árboles vigorosos (A) que ocurrió desde los 2-4 DDC (Figura 4 B); sin embargo el 100 % de los frutos (AR) maduraron y conservaron una calidad óptima (Figura 4 C).

La pérdida de agua en los frutos es considerada la causa principal del deterioro físico y pérdida de calidad (Kader, 2002). Los frutos sintomáticos (S) y asintomáticos de árboles vigorosos (A)

no mostraron diferencias en la velocidad de pérdida de peso fresco ($P \leq 0.05$) (Figura 5). La firmeza de los frutos analizados fue similar durante la madurez fisiológica y madurez de consumo; sin embargo, los frutos sintomáticos (S) manifestaron diferencias en firmeza a los 7 DDC (Figura 6) debido a la maduración desuniforme ocurrida. El tamaño de los frutos sintomáticos fue menor en 8-10 % respecto a asintomáticos (A y AR) ($P \leq 0.05$) (Figura 7) que coincidió con lo reportado por Semancik (2003). Los frutos asintomáticos (A y AR) fueron clasificados como Calidad Suprema y con calibre Extra (211-265 g) y Primera (172-210 g), según los estándares en las normas NMX-FF-016-SCFI-2002 y NMX-FF-08, respectivamente (Téliz y Mora, 2007).

La calidad bromatológica de los frutos sintomáticos (S) y asintomáticos (A y AR) no fue significativamente diferente ($P \leq 0.05$) en el contenido de proteínas, carbohidratos, fibra cruda y cenizas (Cuadro 1). Los frutos con síntomas del viroide (S) y frutos asintomáticos de árboles de vigor regular (AR) presentaron menor contenido de aceite y materia seca ($P \leq 0.05$) respecto a los frutos cosechados de árboles vigorosos (A) (Cuadro 1). Sin embargo, el contenido de materia seca y aceite en todos los frutos analizados (S, AR y A) superaron los mínimos exigidos en los estándares de calidad de México (22 % materia seca y 8 % aceite) (Téliz y Mora, 2007) y Estados Unidos (18.4-21.9 % de materia seca) (Kader, 2002) y superaron los valores mínimos considerados como índice de cosecha y los necesarios para desarrollar sabor aceptable en su madurez de consumo (Lee *et al.*, 1983). La disminución de 28-32 % en el contenido de aceite en pulpa afectó directamente el valor calórico aportado, respecto a frutos de árboles vigorosos (A) ($P \leq 0.05$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis nutrimental de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) 'Hass' infectados por el ASBVd, cosechados en un huerto en Tingambato, Michoacán durante 2009.

	Materia seca (%)	Aceite	Proteínas	Carbohidratos	Fibra cruda	Cenizas	Contenido Energético (Kcal/ 100 g)
	g/100g						
A	26.10 a	19.25 a	2.14 a	4.64 a	2.29 a	1.07 a	185.36 a
AR	23.96 b	13.56 b	2.20 a	2.92 a	2.35 a	1.05 a	131.59 b
S	23.54 b	12.75 b	2.43 a	2.85 a	2.67 a	0.93 a	127.17 b
CV	13.32	5.947	12.443	27.842	32.959	7.913	4.805

CV = Coeficiente de variación; A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S = Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Medias con letras iguales, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

La presencia del ASBVd se ha reportado en varios de países productores de aguacate como Estados Unidos, Costa Rica, Guatemala, Perú, Venezuela, Sudáfrica, Israel, España y Australia (Semancik, 2003), por lo que los frutos asintomáticos pueden ser comercializados sin inconveniente en el mercado nacional o internacional, ya que su fisiología, maduración y calidad no son afectadas. Los frutos sintomáticos son eliminados durante la cosecha en campo y durante la selección en empaque y los árboles sintomáticos son eliminados del huerto, para limitar la posibilidad de dispersión de la enfermedad y evitar mayores pérdidas económicas. Los frutos con síntomas del viroide generalmente son desechados, pero la pulpa posee calidad aceptable y puede ser procesada como puré congelado, pastas secas, guacamole, etc., donde la utilización de aditivos, tecnología de envasado y conservación (Forero *et al.*, 2007; Téliz y Mora, 2007) permitiría su aprovechamiento una vez uniformizada su maduración.

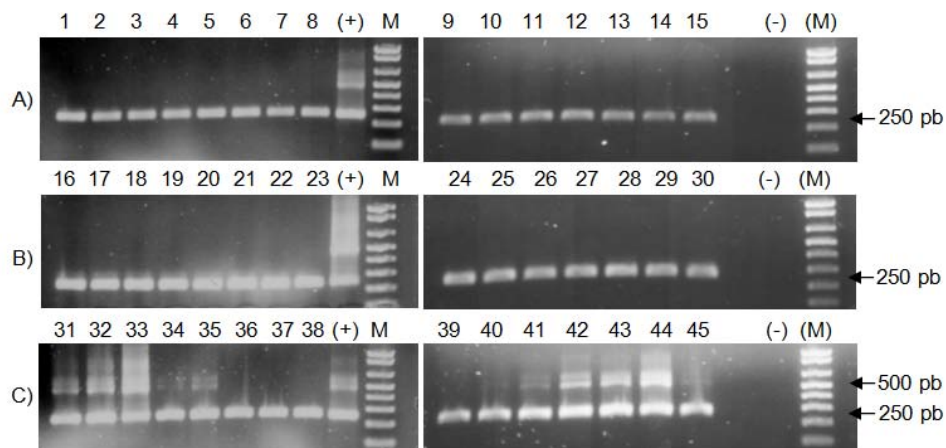


Figura 1. Ensayo de RT-PCR de muestras de RNA de pulpa de aguacate (*P. americana*) para detectar al ASBVd en sus formas monoméricas (≈ 250 pb) y diméricas (≈ 500 pb). A) Productos positivos provenientes de pulpa de frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos (carriles 1-15), B) productos positivos de pulpa de frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular (carriles 16-30) y C) productos positivos de pulpa de frutos sintomáticos de árboles de vigor regular (carriles 31-45), Control positivo-cascara infectada con ASBVd (+), Control negativo-RNA libre de viroide (-), Marcador de peso molecular (M) (1 Kb Plus DNA Leader).

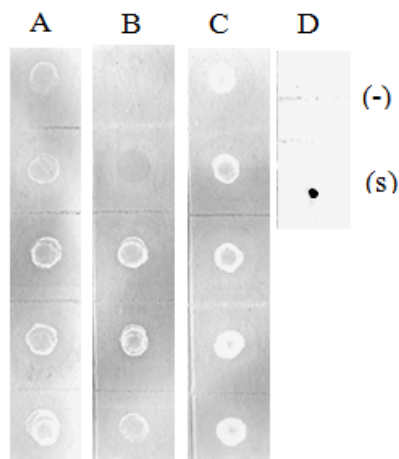


Figura 2. Detección del ASBVd en RNA extraído de pulpa de frutos por hibridación Dot-blot con ribosonda Dig-High Prime-UTP-T7 (Roche[®]) específica al ASBVd. A) Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular, B) Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular, C) Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos. D) Control negativo- RNA libre de viroide (-) y sonda (s).

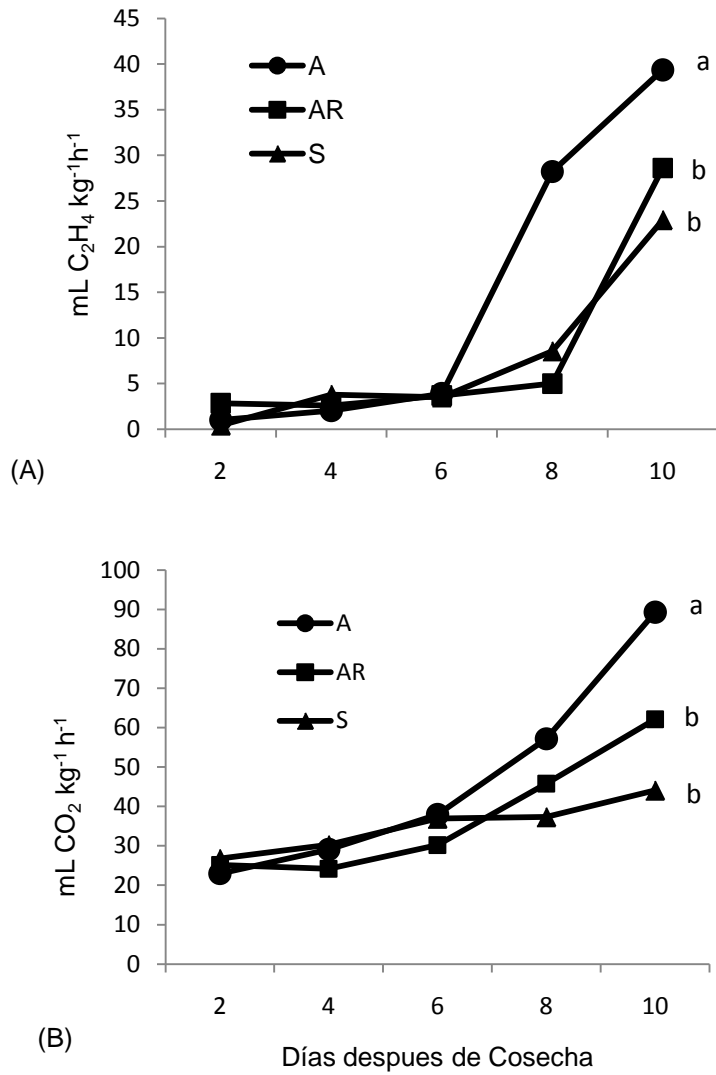


Figura 3. A) Producción de etileno (C₂H₄); B) producción de dióxido de carbono (CO₂). A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S= Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Las letras iguales sobre las líneas indican no diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

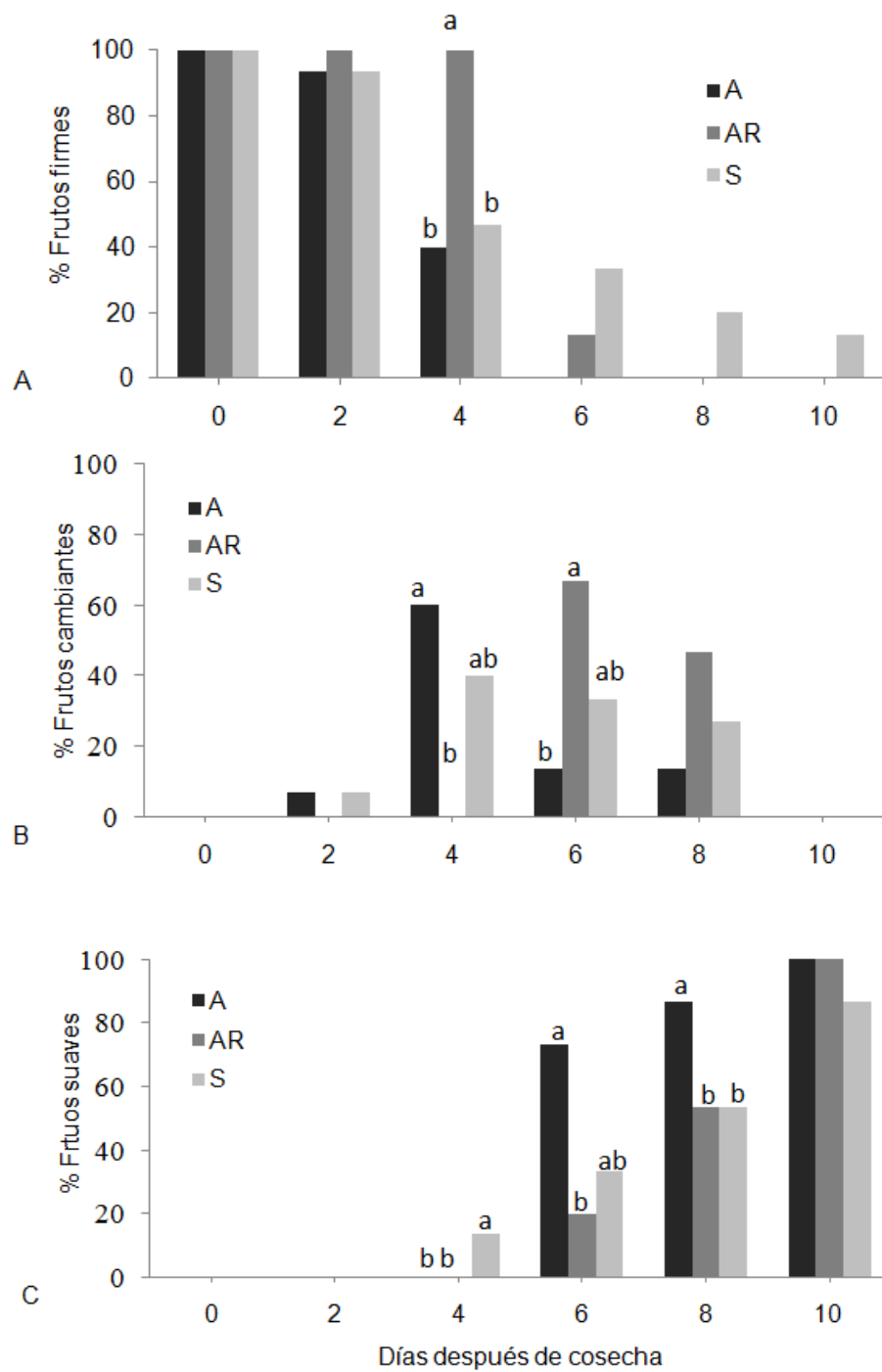


Figura 4. Patrón de maduración al tacto. A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S= Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Barras con letras iguales, no son estadísticamente diferentes (DMS, 0.05).

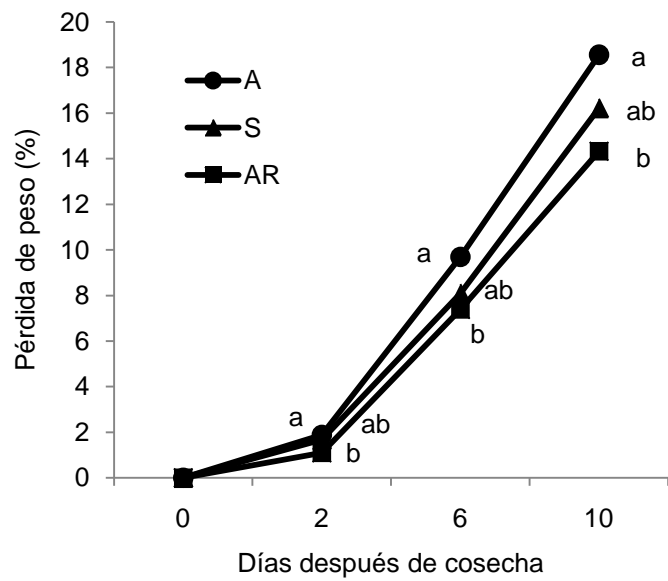


Figura 5. Velocidad de pérdida de peso durante la maduración. A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S= Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Las letras iguales sobre las líneas no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05)

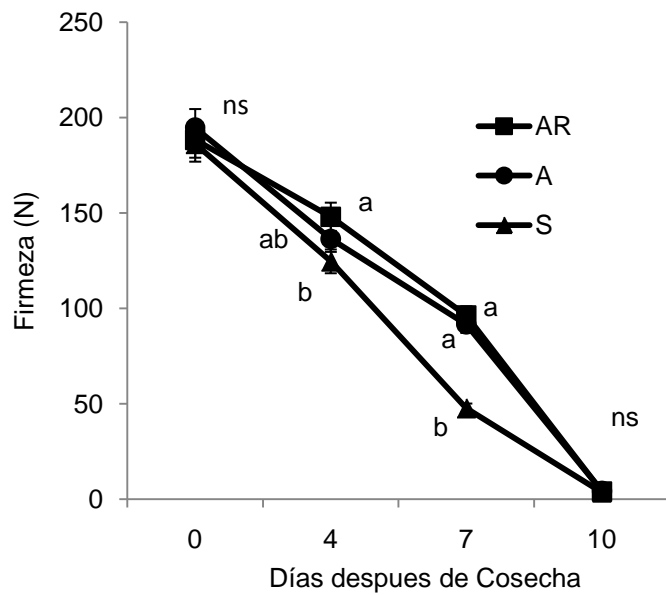


Figura 6. Firmeza en pulpa. A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S= Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Las letras iguales sobre las líneas no indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, 0.05).

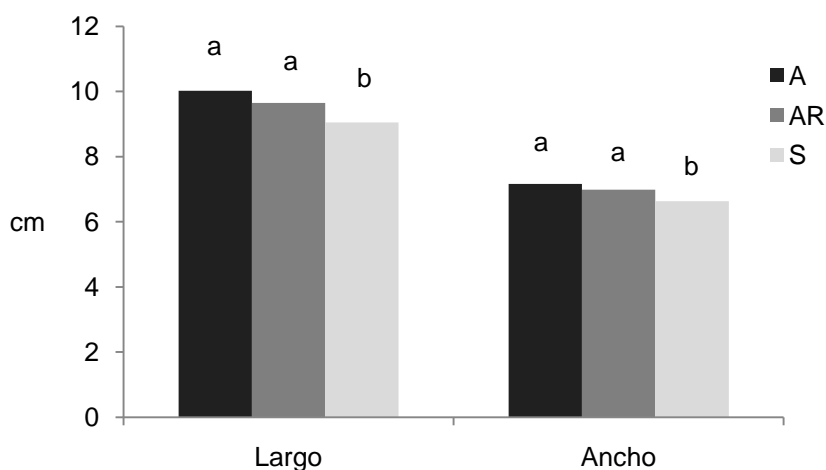


Figura 7. Tamaño de frutos de aguacate cultivar 'Hass' infectados por el ASBVd. A = Frutos asintomáticos cosechados de árboles vigorosos; AR = Frutos asintomáticos cosechados de árboles de vigor regular; S= Frutos sintomáticos cosechados de árboles de vigor regular. Barras con letras iguales, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Conclusiones

El diagnóstico molecular verificó la presencia del *Avocado sunblotch viroid (ASBVd)* en pulpa de los frutos de aguacate sintomáticos y asintomáticos procedentes del huerto estudiado. El *ASBVd* afectó la fisiología y calidad postcosecha del aguacate 'Hass' principalmente en frutos con síntomas los cuales aparentemente contienen mayor concentración del viroide y estos manifestaron disminución del contenido de aceite, materia seca y presentaron maduración desuniforme debido a alteraciones en el proceso respiratorio y producción de etileno, lo cual puede generar pérdidas potenciales de 46 % en frutos sintomáticos. Los frutos asintomáticos, a pesar de estar infectados con el viroide, cumplen con los estándares de calidad exigidos en mercados nacionales e internacionales y su fisiología, maduración, calidad física y contenido bromatológico no son afectados. La calidad medida mediante el análisis bromatológico de la pulpa de frutos con síntomas del viroide es aceptable y puede ser aprovechada en fresco o industrializada.

Reconocimientos

A la Asociación de Productores y Exportadores de Aguacate de Michoacán, A. C. (APEAM) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento de la investigación a través de los proyectos PM 09 40 42 y CP-SENASICA PM 05 41.

Referencias

Alia-Tejacal I, Colinas-León M T, Martínez-Damián M T & Soto-Hernández M R, 2002, Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. Moore & Stearn) durante postcosecha, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, no.8, pp. 263-281.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists, 1998, Official Methods of Analysis, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA.

Bremner J M, 1965, Total Nitrogen, In: Methods of Soil Analysis, American Society of Agronomy, Madison, WI.

De La Torre Almaraz R, Téliz Ortiz D, Pallás V & Sánchez-Navarro J A, 2009, First report of *Avocado sunblotch viroid* in avocado from Michoacán, México, *Plant Disease*, no. 93, pp. 202.

Forero F, García J & Cárdenas-Hernández J F, 2007, Situación y avances en la poscosecha y procesamiento del aguacate (*Persea americana* Mill.), *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, no. 1, pp.189-200.

Galindo Tovar M E, Ogata Aguilar N & Arzate Fernández A M, 2008, Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica, *Genetic Resources and Crop Evolution* no. 55, pp. 441-450.

Kader A A, 2002, Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3rd Edition, University of California Agriculture and Natural Resources, USA.

Lee S K, Young R E, Schiffman P M & Coggins C W, 1983, Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, no. 108, pp. 390-394.

Ling Wen D, Qiao Yang S, Zhao Yu W, Yong Bin S & Zeng Fu X, 2008, Using silica particles to isolate total RNA from plant tissues recalcitrant to extraction in guanidine thiocyanate, *Analytical Biochemistry*, no. 374, pp. 426-428.

López López L & Cajuste Bomtemps J F, 1999, Efecto del envase de cartón corrugado y embalaje en la conservación de la calidad de la fruta de aguacate cv. Hass, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, no. 5, pp.359-364.

MacKenzie D J, McLean M A, Mukerji S & Green M, 1997, Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, *Plant Disease*, no. 81, pp. 222-226.

Markarian N, Li H W, Ding S W & Semancik J S, 2004, RNA silencing as related to viroid induced symptom expression, *Archives of Virology*, no. 149, pp. 397-406.

Merrill A L & Watt B K, 1955, Energy value of foods basis and derivation (Revised 1973), United States Department of Agriculture, *Handbook* No. 74.

Schnell R J, Kuhn D N, Ronning C M & Harkins D, 1997, Application of RT-PCR for indexing Avocado sunblotch viroid, *Plant Disease*, no. 81, pp. 1023-1026.

Semancik J S, 2003, Avocado Sunblotch Viroid, In: Viroids, Hadidi A, Flores R, Randles J W, Semancik J S (eds), CSIRO, Collingwood.

Semancik J S & Szychowski J A, 1994, Avocado sunblotch disease: a persistent viroid infection in which variants are associated with differential symptoms, *Journal of General Virology*, no. 75, pp. 1543-1549.

SIACON, 2010. Obtenido: junio, 2011 de <http://www.siap.gob.mx>

Stewart E A, 1989, Chemical Analysis of Ecological Materials, 2nd edition, Blackwell Scientific Publications, Great Britain.

Téliz D & Mora A, 2007, El Aguacate y su Manejo Integrado, 2^a edición, Ediciones Mundi-Prensa, México.

Watada A E, 1995, Methods for determining quality of fruits and vegetables, *Acta Horticulturae*, no. 379, pp. 559-566.