

# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

## **EFFECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE FRUTOS EN AGUACATE DE MICHOACÁN**

**JOSÉ RAMÓN SAUCEDO CARABEZ**

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

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2013**

La presente tesis titulada: **“EFECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE FRUTOS EN AGUACATE DE MICHOACÁN”**, realizada por el alumno: **José Ramón Saucedo Carabez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



---

DR. DANIEL TÉLIZ ORTIZ

ASESOR



---

DR. SALVADOR OCHOA ASCENCIO

ASESOR



---

DR. DANIEL LEOBARDO OCHOA MARTINEZ

ASESOR



---

DR. MOISÉS ROBERTO VALLEJO PÉREZ

ASESOR



---

DR. HUGO BELTRÁN PEÑA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 10 de Junio 2013

## RESUMEN GENERAL

El *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) es una enfermedad considerada de importancia económica que se reportó en México en 2009. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del ASBVd en el rendimiento y calidad de frutos en aguacate de Michoacán debido a la importancia de la enfermedad y del cultivo. Cuatro árboles sanos fueron comparados con cuatro asintomáticos y cuatro sintomáticos del cultivar 'Hass' y de la selección 'Méndez' en 2 huertos con diferente manejo. En campo se registró el rendimiento total de los árboles. En cada árbol se midió el peso, diámetro ecuatorial (DE), diámetro polar (DP) de 100 frutos y la incidencia de frutos con síntomas. Frutos 'Hass' de cinco condiciones: Frutos sanos de árboles sanos (C1), frutos sanos de árboles asintomáticos (C2), frutos sanos de árboles sintomáticos (C3), frutos sintomáticos con severidad clase 1 (C4), frutos con severidad clase 2 (C5) se cosecharon en 2011 y 2012 para evaluar las variables de cambio de coloración, firmeza, pérdida de peso y el contenido mineral en etapa de madurez fisiológica y comercial. El peso total en frutos 'Hass' con síntomas fue reducido en más del 50 % y mayor al 75 % en 'Méndez' en ambos huertos, mientras que los asintomáticos hubo una reducción mayor en 'Méndez' con un 58 % y 30 % en 'Hass'. Las variables de peso en 100 frutos, DP y DE fueron estadísticamente menores en árboles sintomáticos con respecto a árboles sanos y asintomáticos. La incidencia de frutos 'Hass' con síntomas fue mayor a 45 % y mayor a 20 % en 'Méndez'. C1, C2 y C3 maduraron de manera uniforme y no mostraron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas, mientras que C4 y C5 presentaron una maduración irregular, relacionada a una firmeza y cambio de coloración más lento con una pérdida de peso menor. El contenido mineral no presentó ninguna diferencia significativa en ninguna de las dos etapas.

**Palabras clave:** ASBVd, efecto, rendimiento, calidad, pérdida, incidencia.

## GENERAL ABSTRACT

The effect of *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) was evaluated in four healthy, four asymptomatic (molecularly positive), and four symptomatic trees of cv. Hass (*Persea americana*) and Mendez in grove 1 in Uruapan County. Four healthy and four symptomatic trees were evaluated in grove 2 in Tingambato County. The total Hass fruit weight from symptomatic trees was significantly (75 %) reduced (213 vs 751 kg from healthy trees) in grove 1 and 52 % (124 vs 255 kg) in grove 2 (Tukey,  $p=0.05$ ). This reduction was more severe in Mendez, 83 % in grove 1 (183 vs 1,053 kg) and 76 % in grove 2 (82 vs 340 kg). Yield of asymptomatic trees was 58 % reduced in Mendez and 30 % in Hass. The average weight of 100 fruits was 13-28 % reduced in Hass and 20-27 % in Mendez in groves 2 and 1 respectively. The equatorial diameter of 100 symptomatic fruits was 8 % lower in Hass in both groves, and 20-28 % in Mendez. The polar diameter decreased by 8-10 % in Hass and 10-11 % in Mendez. The incidence of symptomatic fruits was 46-62 % in Hass and 20-28 % in Mendez. Yield of ASBVd symptomatic Hass and Mendez trees was significantly reduced and fruit morphology was negatively affected. Hass fruits (*Persea americana*) from five classes: healthy from healthy trees (C1), asymptomatic from asymptomatic trees (C2), asymptomatic from symptomatic trees (C3), symptomatic severity class 1 (C4), symptomatic severity class 2 (C5) were harvested in 2011 and 2012. ASBVd effect on postharvest quality was evaluated by measuring the firmness, colour, weight loss, dry matter, mineral and oil content. C4 and C5 were significantly different (Tukey,  $p=0.05$ ) in longer firmness, less dark coloration and less weight loss compared to C1, C2 and C3. Firmness in C4 and C5 was Ready To Eat (RTE) and not Soft (Soft) on the eighth day, while C1, C2 and C3 reached on the sixth day. Coloration in C1, C2 and C3 was black on the eighth day, whereas in C4 and C5 remained 75 % obscure. Weight loss in C4 and C5 was 1.4 g/day and C1, C2 and C3 was 2 g/day. Dry matter, mineral and oil content were similar in the five classes. ASBVd affected

postharvest quality of symptomatic fruits. Asymptomatic fruits satisfy the international quality standards.

**Keywords:** ASBVd, effect, yield, quality, loss, incidence.

## **DEDICATORIA**

**A Dios por su incomparable amor y dirección.**

**A mis padres: Javier Saucedo y Teresa Carabez por todo el apoyo brindado.**

**A Emma Oseguera por su comprensión, espera y apoyo invaluable.**

**A toda mi familia que estuvo conmigo en todo momento.**

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por el regalo de la vida y su asombroso amor inagotable.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante el periodo de mi maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

A la Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate en Michoacán (APEAM) por los recursos y financiamiento otorgado para el proyecto de investigación.

Al Dr. Daniel Téliz Ortiz por su amistad sincera, dirección en el proyecto y calidad como ser humano.

Al Dr. Salvador Ochoa Ascencio por su amistad, apoyo incondicional y enseñanzas para mi formación y desarrollo como ser humano, profesional y fitopatólogo.

Al Dr. Daniel Ochoa Martínez por sus enseñanzas y consejos acertados durante mi estancia.

Al Dr. Moisés Roberto Vallejo Pérez por su apoyo y recomendaciones en el proyecto.

Al Dr. Hugo Beltrán Peña por su apoyo en campo y en todas las etapas del proyecto.

Al Dr. Carlos De León y Dr. Cristian Nava Díaz por su formación en los principios de la Fitopatología.

Al M. C. Jorge Luis Flores Sánchez y M. C. Dagoberto Fierro Corrales por su amistad sincera y apoyo en todas las áreas de mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A Elvia Rosas por su amistad, apoyo y armonizar mi estancia en el laboratorio.

Al personal de los huertos por el acceso y facilidades proporcionadas para la realización de este trabajo.

A cada uno de los amigos y compañeros que hicieron agradable mi estancia en el Colegio de Postgraduados: en especial a Daniel López (Violento), Juan Manuel Tovar (El Flaco), Gildardo Olguín, Santiago Domínguez y Carlos Méndez.

## CONTENIDO

### CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. OBJETIVOS GENERALES.....	3
3. HIPÓTESIS GENERALES.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Historia.....	4
4.2 Origen y distribución.....	4
4.3 Importancia económica.....	5
4.4 Enfermedades importantes del aguacate.....	6
4.5 Pérdidas por enfermedades.....	7
4.6 Mancha de sol del aguacate.....	8
5. LITERATURA CITADA.....	10

### CAPÍTULO II

EFFECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL (ASBVd) EN EL RENDIMIENTO DE AGUACATE ( <i>Persea americana</i> Miller) DE MICHOACÁN.....	17
RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	18
1. INTRODUCCIÓN.....	19
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
2.1 Área de estudio y muestreo.....	21
2.2 Extracción de RNA.....	22
2.3 Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).....	23
2.4 Evaluación del rendimiento y características morfológicas en frutos.....	23
2.5 Incidencia y severidad de frutos sintomáticos en árboles infectados.....	24
3. RESULTADOS.....	25
3.1 Diagnóstico molecular.....	25
3.2 Evaluación del rendimiento y características morfológicas en frutos.....	25
3.3 Incidencia de frutos sintomáticos.....	28
4. DISCUSIÓN.....	30
5. CONCLUSIONES.....	31
6. LITERATURA CITADA.....	32

### **CAPÍTULO III**

EFFECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL (ASBVd) EN LA CALIDAD POSTCOSECHA DE AGUACATE ( <i>Persea americana</i> Miller) DE MICHOACÁN.....	36
RESUMEN.....	36
ABSTRACT.....	37
1. INTRODUCCIÓN.....	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
2.1 Ubicación del área de estudio y muestreo.....	39
2.2 Identificación molecular del ASBVd.....	39
2.3 Colecta de frutos.....	39
2.4 Contenido mineral de frutos.....	41
2.5 Evaluación de firmeza.....	41
2.6 Color del exocarpio.....	42
2.7 Pérdida de peso.....	42
2.8 Materia seca y contenido de aceite.....	42
3. RESULTADOS.....	44
3.1 Identificación molecular del ASBVd.....	44
3.2 Cambios de la coloración durante la maduración de frutos.....	44
3.3 Evaluación de firmeza.....	45
3.4 Velocidad de pérdida de peso.....	45
3.5 Contenido de materia seca y de aceite.....	47
3.6 Contenido nutrimental de frutos.....	48
4. DISCUSIÓN.....	49
5. CONCLUSIONES.....	51
6. LITERATURA CITADA.....	52

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1. Síntomas del ASBVd en hojas y frutos. Hendiduras de color amarillo (A) y rojizo con necrosis en fruto (B); variegado de color bronceado desde la nervadura central (C) y distorsión de la hoja con clorosis (D).....22
- Figura 2. Escala logarítmica diagramática de 4 clases para evaluar severidad de síntomas del ASBVd en frutos. Severidad 0 (S0) (asintomático), severidad 1 (S1) (0-7 % severidad), severidad 2 (S2) (8-24 % severidad) y severidad 3 (S3) (25-40 % severidad).....24
- Figura 3. Detección del ASBVd en árboles de aguacate mediante RT-PCR de punto final. Carriles 1 y 16 marcador molecular de 100 pb. Carriles 4, 5, 7, 8 y 9 amplificaron una banda de RNA de 247-250 pb que corresponde al ASBVd. Los carriles 3, 6, 10, 11, 13 y 14 no amplificaron la banda del ASBVd y se consideraron como sanos. El carril 12 se utilizó como control positivo y en el 15 agua como control negativo.....25

### CAPITULO III

- Figura 1. Escala diagramática de severidad de síntomas del ASBVd. Severidad 0 (asintomático), severidad 1 (0-7 % severidad), severidad 2 (8-24 % severidad) y severidad 3 (25-40 % severidad).....41
- Figura 2. Gel de agarosa con productos RT-PCR. Carriles 4, 5, 7, 8, 9 son productos positivos que amplificaron una banda de 247-250 pb que concuerdan con el ASBVd. Los carriles 3, 6, 10, 11, 13 y 14 son productos procedentes de árboles sanos. El carril 12 fue un control positivo y el 15 fue agua como control negativo. En los carriles 1 y 16 marcadores moleculares de 100 pb.....44

Figura 3. Media del cambio en coloración de la epidermis (A), firmeza (B), velocidad de pérdida de peso (C) de frutos ‘Hass’ durante la maduración de las 5 clases. Líneas con la misma letra no indican diferencia significativa (Tukey, p=0.05).....	46
Figura 4. Comparación de medias del porcentaje de MS y aceite de las 5 clases. Barras con letras iguales no muestran diferencia significativa (Tukey, p=0.05).....	47

## LISTA DE CUADROS

### CAPITULO II

Cuadro 1. Rendimiento total y media de las variables morfológicas en frutos ‘Hass’ y ‘Méndez’ de árboles sanos, asintomáticos y sintomáticos del ASBVd.....	27
Cuadro 2. Reducción (%) de las variables de rendimiento y morfológicas de frutos sanos, sintomáticos y asintomáticos ‘Hass’ y ‘Méndez’ en el “Huerto 1” y de sanos y sintomáticos en el “Huerto 2”.....	28
Cuadro 3. Número de frutos sintomáticos en árboles del “Huerto 1” y “Huerto 2” en ‘Hass’ y ‘Méndez’.....	29

### CAPITULO III

Cuadro 1. Condiciones de frutos para evaluación de las variables de calidad en postcosecha.....	40
Cuadro 2. Porcentaje (%) y partes por millón (ppm) de los minerales evaluados en las 5 condiciones de frutos ‘Hass’ durante las etapas de madurez fisiológica y comercial.....	48

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El aguacate (*Persea americana* Miller) es un fruto que tiene su origen en Mesoamérica y es uno de los frutales de mayor importancia económica (Téliz y Mora, 2007). México es el primer productor mundial con una superficie de 142,146.10 ha, y una producción anual de 1'264,141.46 t (SIAP, 2011). Michoacán es el principal productor en México con el 90 % de la producción nacional con 1'092,344.21 t anuales y un rendimiento de 10.42 t/ha. Su cultivo y comercialización generan 47 mil empleos directos y 70 mil empleos estacionales, equivalente a 10.5 millones de jornales anuales y 187 mil empleos indirectos permanentes (Téliz y Mora, 2007) con un valor de la de producción de 18'136,404.25 miles de pesos (SIAP, 2013). El cultivo de aguacate es afectado por varios factores ambientales, deficiencias nutrimentales, plagas y enfermedades que limitan la producción y disminuyen su rendimiento de manera significativa. Las enfermedades de las plantas son importantes por el potencial de destruir las cosechas y reducir de manera crónica el rendimiento en la mayoría de los cultivos y afectar la calidad y durabilidad de los productos cosechados (Macías *et al.*, 2006). La pérdida en rendimiento se define como la diferencia entre el rendimiento actual obtenido y el rendimiento potencial alcanzable (Nutter *et al.*, 1993). La pérdida también se define como la reducción medible en cantidad, calidad, o en ambos atributos del rendimiento (Madden *et al.*, 1981). Aunque es conocido que las enfermedades de las plantas reducen los rendimientos de los cultivos en comparación con los rendimientos que se podrían esperar en ausencia de la enfermedad, por lo general es difícil obtener información precisa de las estimaciones cuantitativas en las reducciones del rendimiento causadas por enfermedades específicas (Brown y Keane, 1997). La estimación confiable de pérdidas por enfermedades es un elemento indispensable para el desarrollo eficiente de un programa de investigación agrícola que considere la protección vegetal como un componente del manejo del cultivo, facilite la

identificación de la importancia de las enfermedades y genere información detallada sobre pérdidas, para fijar umbrales que ayuden a decidir cuando aplicar medidas de control (Yang *et al.*, 1991; Campbell y Madden, 1990). El viroide de la mancha de sol (ASBVd) esta reportado en varios países productores de aguacate como Estados Unidos (Coit, 1928), Costa Rica, Guatemala, Perú (Vargas *et al.*, 1991), Venezuela (Rondón y Figuera, 1976), Sudáfrica (Da Graca y Moon, 1983), Israel (Spiegel *et al.*, 1984), España (López-Herrera *et al.*, 1987) y Australia (Dale y Allen, 1979). En México, el ASBVd se reportó por primera vez en Michoacán en 2007 (De La Torre-Almaraz *et al.*, 2009), con síntomas de hendiduras blancas, amarillas, rojizas, púrpuras o necróticas sobre los frutos de aguacate, algunos brotes y ramas verdes muestran en la base franjas superficiales, hundidas o aplanadas de color amarillo. Algunas hojas muestran manchas amarillas o blancas, se deforman y se reduce la lámina foliar (GIIIA, 2013). El *Avocado sunblotch viroid* es el viroide de importancia económica reportado en aguacate, debido a que está asociado a los bajos estándares de calidad y tamaño de la fruta, lo cual reduce su comercialización (Semancik, 2003). La importancia de esta enfermedad radica en la pérdida de producción (Luttig y Manicom, 1999), reducción de la calidad de la fruta y del vigor de los árboles (Rondón y Figueroa, 1970). Todos los cultivares son afectados por el viroide de la mancha de sol (Wallace y Drake, 1962; Horne y Parker, 1931; Stevens y Piper, 1941). El peso de frutos del cv. ‘Fuerte’ con ASBVd se redujo en un 14 % en Sudáfrica (Da Graca, *et al.*, 1983). El cv. ‘Edranol’ es afectado en el rendimiento en un 80 % (Da Graca, 1985), y portadores asintomáticos del ASBVd una reducción del 95 % en las variedades ‘Caliente’ y ‘Reed’ (Desjardins, 1987). Sin embargo no existe ninguna evaluación exhaustiva del impacto económico del ASBVd en la producción de aguacate (Semancik, 2003). Por lo anterior, y con la falta de antecedentes en México es necesario realizar un estudio que permita conocer el impacto económico y la estimación de pérdidas en rendimiento para implementar medidas fitosanitarias y evitar la diseminación del ASBVd.

## **2. OBJETIVOS GENERALES**

- a) Evaluar el efecto del viroide de la mancha de sol en el rendimiento de frutos en aguacate de Michoacán.
- b) Determinar el porcentaje y severidad de frutos sintomáticos en árboles infectados.
- c) Verificar el efecto del viroide en la calidad postcosecha en frutos de aguacate.

## **3. HIPÓTESIS GENERALES**

- a) El viroide de la mancha de sol afecta el rendimiento de frutos en aguacate de Michoacán.
- b) La calidad postcosecha en frutos de aguacate es afectada por el viroide de la mancha de sol.

## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Historia

*Ahuacatl*, significa aguacate (testículo) o árbol de aguacate, de acuerdo con el diccionario de aztequismos y la lengua náhuatl de los aztecas, y *cupanda* significa árbol del aguacatero en la lengua purépecha nativa de Michoacán. Esto se encuentra escrito en el códice Mendocino (Echeagaray, 1979), respaldado por Don Antonio de Mendoza, primer virrey de la Nueva España y escrito por el tlacuílo Francisco Gualpuyogualcal en 1547. Poco después de la invasión española (Storey *et al.*, 1986 y Barrientos *et al.*, 2006). En el códice Florentino se mencionan 3 tipos de aguacate: “aoacaquauitl” que podría tratarse de *Persea americana* var. *drymifolia* (raza Mexicana), “tlacacoloacatl” a *Persea americana* var. *americana* (raza Antillana) y “quillaoacatl” a *Persea americana* var. *guatemalensis* (raza Guatemalteca) (Sánchez *et al.*, 2001). La evidencia más antigua del consumo de esta fruta data de 10,000 años A. C. y fue encontrada en una cueva localizada en Coxcatlán, Puebla (Smith, 1966). También existe evidencia directa de la domesticación del aguacate en el periodo clásico Maya, lo que está sustentado por restos de planta en el contexto arqueológico y lingüístico que dan validez (Turner y Miksicek, 1984). El aguacate cultivado en México fue llevado a España por los conquistadores en el año 1600, para distribuirse posteriormente a otras partes del mundo (Ochse *et al.*, 1961).

### 4.2 Origen y distribución

México es considerado el centro de origen del aguacate (Sánchez *et al.*, 2001). El árbol se originó en las partes altas del centro y este de México, y partes altas de Guatemala, región conocida como Mesoamérica y considerada como el área donde se llevó a cabo la domesticación del aguacate (William, 1977). La distribución del aguacate se realizó en Mesoamérica con el intercambio comercial entre las civilizaciones nativas, el aguacate se distribuyó y adaptó a Centroamérica y se extendió hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y

Perú. El aguacate fue llevado aparentemente a la isla de Jamaica por los españoles antes de 1655 y en la época colonial los españoles introdujeron el aguacate a otros países americanos y a Europa, posteriormente comenzó la distribución del aguacate a nivel mundial (Smith *et al.*, 1992). El primer registro del aguacate en África es de 1750 en Ghana. En 1908, el aguacate llegó a Israel y en 1932 a Turquía. En 1809 llegó a Brasil, a Florida en 1833, a California en 1848 y a Chile en 1850. El aguacate ingresó a Australia en 1850 y en 1910 en Nueva Zelanda. En Asia se registró en Singapur en 1830, a Filipinas en 1890 y en India en 1890. De esta manera fue como se distribuyó el aguacate en los cinco continentes. Estados Unidos tiene un papel importante en la historia del aguacate moderno. El cultivar ‘Fuerte’ proveniente de Atlixco, Puebla, México, se plantó con otras colecciones en California y resistió una fuerte helada en 1913, por eso se le dio el nombre de ‘Fuerte’. Posteriormente, el cultivar ‘Hass’ se seleccionó por su calidad y producción por Rudolph Hass en California. Estos 2 cultivares anteriores constituyen las bases fundamentales de la industria del aguacate en el mundo (Téliz y Mora, 2007).

#### **4.3 Importancia económica**

El aguacate es la especie frutal de mayor importancia económica dentro de la familia Lauraceae (Litz *et al.*, 2007). La producción mundial de aguacate fue aproximadamente de 4'119,487 t para el 2011, con la mayor producción en México con 1'419, 487 t, seguido de Chile (368,568 t) Indonesia (275,953 t), Republica Dominicana (295,081 t), Colombia (215,322 t), Perú (212,857 t), Estados Unidos (205,432 t), Kenia (201,478 t) y Brasil (160,376) (FAO-STAT, 2013). En México, Michoacán es el principal productor del país con el 90 % de la producción, seguido de Jalisco, Nayarit, Estado de México y Morelos. A nivel municipal, Tancítaro fue el principal productor del estado, seguido de Tacámbaro, Peribán, Uruapan, Salvador Escalante y Ario de Rosales (SIAP, 2013). La producción de aguacate en México destinó 547,345 t al mercado de exportación (Infohass, 2013). La temporada de

exportación 2012 de aguacate de Michoacán significó una derrama económica por más de 1,200 millones de dólares a la industria (APEAM, 2013). Por lo anterior, el aguacate es de suma importancia para México por ser el principal productor a nivel mundial y el gran número de divisas por la exportación a destinos como Norteamérica, Centroamérica, Asia y Europa. Además de los miles de empleos directos e indirectos generados.

#### **4.4 Enfermedades importantes del aguacate**

Las enfermedades son uno de los obstáculos más importantes para la producción de aguacate en todo el mundo (Ploetz *et al.*, 2011; Menge y Ploetz, 2003). La enfermedad de mayor importancia, la pudrición de raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*, es el factor limitante en muchas regiones productoras de aguacate, y existen muchas otras enfermedades que pueden tener un impacto significativo en este cultivo. Otra enfermedad de raíz, causada por *Armillaria* spp. afecta al aguacate con el cambio del uso de suelo de bosque de pino, encino y especies forestales por plantaciones comerciales de aguacate y agresivamente provoca la muerte de los árboles (Téliz y Mora, 2007). Por el contrario, otras enfermedades del aguacate tienen una distribución geográfica restringida o sólo recientemente han emergido como problemas en este cultivo. Por ejemplo, la marchitez del laurel causada por *Raffaelea lauricola*, sólo se conoce en Florida (Ploetz *et al.*, 2011), y la quemadura de la hoja causada por *Xylella fastidiosa*, únicamente reportada en Costa Rica (Montero *et al.*, 2008). Algunas enfermedades, como canchales causados por *Phytophthora*, pudrición del pedúnculo y pudriciones postcosecha, tienen múltiples agentes causales y solo algunos están ampliamente distribuidos. Otras enfermedades no se encuentran en todas las principales áreas de producción. Por ejemplo, la roña, no está presente en Australia o Nueva Zelanda (Everett *et al.*, 2007), y la mancha de sol, causada por el viroide de la mancha de sol (ASBVd) ha sido exitosamente restringida en algunas áreas después de una efectiva campaña de erradicación (Geering, 2011; Schnell *et al.*, 1997). En general, pocos de los patógenos que afectan al

aguacate se encuentran en la mayoría de las zonas donde se encuentra este cultivo. A pesar de su distribución limitada, éstas últimas enfermedades pueden tener graves impactos sobre la producción.

#### **4.5 Pérdidas por enfermedades**

Los patógenos de plantas pueden causar enfermedades en los cultivos. Sus efectos pueden ser síntomas leves hasta catástrofes en las que grandes áreas sembradas de cultivos son destruidas (Strange y Scott, 2005). Las enfermedades de las plantas fueron inicialmente estudiadas debido a las pérdidas que causan, aún hoy en día es paradójico que solo existan pocas estimaciones confiables de pérdidas por enfermedades (James, 1974). En 1918, Lyman declaró, “¿Cómo podemos esperar que el hombre práctico sea debidamente impresionado con la importancia de nuestro trabajo y aportar grandes sumas de dinero para su apoyo cuando en el lugar de los hechos solo tenemos vagas suposiciones para darles y no nos tomamos la molestia de hacer estimaciones cuidadosas?” (Lyman, 1918). La estimación de pérdidas ocasionadas por enfermedades es un prerrequisito para el desarrollo racional de cualquier programa de investigación en la agricultura que tiene como componente la protección del cultivo (Campbell y Madden, 1990). Estimaciones confiables de pérdidas facilita la identificación objetiva de la importancia de las enfermedades bióticas (Carlson, 1971). La información exacta concerniente a las pérdidas es también necesaria para los productores y especialistas en protección de cultivos para desarrollar umbrales de decisión y determinar cuando las medidas de control costo-efectivo deben ser desplegadas (James y Teng, 1979). La cantidad de enfermedad es medida con la incidencia, que se define como la proporción de plantas, ramas u hojas infectadas respecto al total de la población del órgano contabilizado, y con la severidad, que se define como la proporción del área de una planta u órgano de la planta que está afectado (Brown y Keane, 1997). Las evaluaciones de la enfermedad y pérdidas en cultivos son necesarias antes de que el impacto económico de una enfermedad y

el beneficio de estrategias de control puedan ser determinadas. La evaluación cualitativa de una enfermedad provee datos inexactos y con frecuencia errónea, mientras que la cuantitativa se basa en gran medida en las comparaciones entre los rendimientos obtenidos a partir de cultivos enfermos o dañados y los obtenidos a partir de cultivos sanos o no dañados. Las comparaciones se pueden realizar entre plantas enfermas y sanas en el mismo cultivo, o entre plantas enfermas y sanas que crecen en diferentes lugares a condición de los lugares tengan las condiciones ambientales similares (Brown y Keane, 1997).

#### **4.6 Mancha de sol del aguacate**

La mancha de sol del aguacate, causada por el *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd), consiste en una molécula de ácido ribonucleico de cadena sencilla y circular de 247 nucleótidos (Symons, 1981) que se replica en los cloroplastos usando ribozimas que se encuentran en su propia secuencia (Suarez, *et al.*, 2005), presenta estructuras ribozimáticas en forma de cabeza de martillo y carece de una región central conservada (Fadda, *et al.*, 2003; Molina *et al.*, 2007). Su primer reporte fue en California (Horne y Parker, 1932) y subsecuentemente ha sido reportado en muchas áreas productoras de aguacate. Es posible que el ASBVd se haya dispersado debido a que los síntomas varían y los portadores asintomáticos son comunes (Schnell *et al.*, 2001). Los síntomas típicos del ASBVd en fruto consisten hendiduras de color blanco, amarillo y rojizo, las cuales en ocasiones desarrollan necrosis epidermales (Vallejo *et al.*, 2011). En brotes y ramas verdes se observan franjas o hendiduras amarillas y blancas (Horne y Parker, 1931; Wallace, 1958; Desjardins, 1987). En hojas se observa una distorsión, variegado o blanqueado que inicia en la vena central y progresa hacia la lámina hasta deformar la hoja (Ploetz, *et al.*, 1998). La corteza puede agrietarse en el tronco y ramas con un patrón rectangular con la apariencia de piel de cocodrilo (Pegg *et al.*, 2002). Los árboles infectados pueden reducir su rendimiento en 27 % y 52 % de frutos no comerciables debido a los frutos sintomáticos que demeritan su valor comercial por su mal aspecto (Da Graca *et al.*,

1983). El impacto económico consiste en la pérdida de la producción, el costo de seleccionar portainjertos y variedades libres del viroide asociado con la erradicación de árboles infectados (Semancik, 2003), el cual ha sido el único medio de control disponible para evitar su diseminación (Suarez, *et al.*, 2005). El ASBVd se transmite a través de semilla, injerto y herramienta contaminada, hasta la fecha se desconoce la existencia de algún vector (Matthews, *et al.*, 1997). No existen tratamiento curativo ni variedades resistentes al ASBVd, por lo tanto, el mejor control es preventivo con el uso de plántulas sanas, certificadas y provenientes de viveros confiables (Téliz y Mora, 2007). La desinfestación de herramientas de injerto, poda y cosecha con hipoclorito de sodio al 20 % o peróxido de hidrógeno al 6 % son las mejores técnicas para evitar la diseminación del ASBVd (Desjardins *et al.*, 1987).

## 5. LITERATURA CITADA

1. Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de México (APEAM). 2012. URL: [www.apeamac.com](http://www.apeamac.com). Consulta realizada en abril de 2013.
2. Barrientos, P. A. F., Muñoz, P. R. B., Reyes, A. J. C., Borys, M. W., Martínez, D. M. T. 2006. Taxonomía, cultivares y portainjertos. In: *El Aguacate y su Manejo Integrado*, Téliz, O. D., Mora, A. A. (Eds). Pp. 31-62 (Mundi-Prensa, México).
3. Brown, J. F., Keane, P. 1997. Assessment of disease and effects on yield. In: *Plant Pathogens and Plant Diseases*, Brown, J. F., Ogle, H. J. Australasian Plant Pathology Society. Pp. 315-329.
4. Campbell, C. L., Madden, L. V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Wiley, New York, NY, USA. 532 p.
5. Carlson, G. A. 1971. Economic aspects of crop loss control at the farm level. Crop Loss Assessment Methods. Pp 2.3/I-2.3/6. L. Chiarappa, ed. FAO, Rome.
6. Coit, J. E. 1928. Sunblotch of the avocado, a serious physiological disease. California Avocado Society Yearbook 20: 27-32.
7. Da Graca, J. V., Moon, T. E. 1983. Detection of avocado sunblotch viroid in flower buds by polyacrylamide gel electrophoresis. *Phytopathol. Z.* 108: 262-266.
8. Da Graca J. V., Mason, T. E., Antel, H. J. 1983. Effect of avocado sunblotch disease on fruit yield. South Africa Avocado Growers' Association Yearbook 6: 86-87.
9. Da Graca, J. V. 1985. Sunblotch associated reduction in fruit yield in both symptomatic and symptomless carrier trees. South Africa Avocado Growers' Association Yearbook 8: 59.
10. Dale, J. L., Allen, R. N. 1979. Avocado affected by sunblotch disease contains low molecular weight ribonucleic acid. *Australasian Plant Pathology* 8: 3-4.

11. Desjardins, P. R., Saski, P. J., Drake, R. J. 1987. Chemical inactivation of avocado sunblotch viroid on pruning and propagation tools. California Avocado Society Yearbook 71: 259-262.
12. Echeagaray, J. I. 1979. Códice Mendocino o Colección de Mendoza. México. San Ángel Ediciones, S. A.
13. Everett, K., Manning, M., Fullerton, B., Rees, G.J., Hartill,, B. 2007. Avocado scab not present in New Zealand. Avoscene 30-31.
14. Fadda, Z., Daròs, J. A., Fagoaga, C., Flores, R., Duran, V. N. 2003. Eggplant latent viroid, the candidate type species for a new genus within the family Avsunviroidae (Hammerhead Viroids). Journal of Virology 77: 6528-6532.
15. Food and Agricultural Organization-Statisticals (FAO-STAT). 2011. Food and Agricultural commodities production. URL: [www.faostat.org](http://www.faostat.org). Consulta realizada en abril de 2013.
16. Geering, A. D. W. 2011. Investigation of the distribution and incidence of *Avocado Sunblotch Viroid* in Australia. Final Report (Horticulture Australia). AV07001. 29 p.
17. Grupo Interdisciplinario e Interinstitucional de Investigación en Aguacate (GIIIA). (2013). La Mancha de Sol del Aguacate p 40-42. In: *El Aguacate en Michoacán: Plagas y Enfermedades*. Morevallado ed. Morelia, Michoacán, México. 56 p.
18. Horne, W. T., Parker, E. R. 1931. The avocado disease called sunblotch. *Phytopathology* 21: 235-238.
19. Infohass. 2012. Estadísticas Mercados Internacionales. URL: [www.infohass.net](http://www.infohass.net). Consulta realizada en abril de 2013.

20. James, W. C. 1974. Assessment of plant diseases and losses. *Annual Review of Phytopathology* 12: 27-48.
21. James, W. C., Teng, P. S. 1979. The quantification of production constraints associated with plant diseases. In: *Applied Biology*, Coakey, T. H. (Ed.) Vol. 4. Academic Press, New York. Pp. 201-267.
22. Litz, R. E., Raharjo, S. H. T., Gómez, L. M. A. 2007. Avocado. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 60. *Transgenic Crops V* (ed. by Pua, E. C., Davery, M. R.)
23. López-Herrera, C., Pliego, F., Flores, R. 1987. Detection of avocado sunblotch viroid in Spain by double polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Phytopathology* 119: 184-189.
24. Luttig, M., Manicom, B. Q. 1999. Application of highly sensitive avocado sunblotch viroid indexing method. *South Africa Avocado Grower's Association Research* 22: 55-60.
25. Lyman, G. R. 1918. The relation of phytopathologists to plant disease survey work. *American Phytopathological Society. Phytopathology* 8: 219-228.
26. Macías, F. O. L., Delgado, C. Y., Peña, M. E., León, B. R., Barreto, R. E. 2006. Técnicas para el diagnóstico y determinación de la variabilidad genética de fitopatógenos.
27. Madden, L. V., Pennypacker, S. P., Antle, C. E., Kingsolver, C. H. 1981. A loss model for crops. *Phytopathology* 71: 685-689.

28. Matthews, D. M., Herck, J. A., Dodds, J. A. 1997. Detection of avocado sunblotch viroid by polymerase chain reaction (PCR). *California Avocado Society Yearbook* 81: 91-96.
29. Menge, J. A., Ploetz, R. C. 2003. Diseases of avocado. In *Diseases of Tropical Crops*, Ploetz, R. C. (Ed.) (CABI Publishing: Wallingford, UK). Pp. 35-71.
30. Molina, S. D., Suay, L., Salvador, M. L., Flores, R., Daròs, J. A. 2007. Processing of RNAs of the family Avsunviroidae in *Chlamidomonas reinhardtii* chloroplast. *Journal of Virology* 81: 4363-4366.
31. Montero, A. M., Saborio, R. G., Chacon, D. C., Garita, L., Villalobos, W., Moreira, L., Hartung, J. S., Rivera, C. 2008. First report of *Xylella fastidiosa* in avocado in Costa Rica. *Plant Disease* 92: 976.
32. Nutter, F. W., Teng, P. S., Royer, M. H. 1993. Terms and concepts for yield, crop losses, and diseases thresholds. *Plant Disease* 77: 211-215.
33. Ochse, J. J., Soule, M. J., Dijman, M. J. Wehlburg, C. 1961. *Tropical and Subtropical Agriculture*. Vol. 1. Mcmillan, New York. Pp 760.
34. Pegg, K. G., Coates, L. M., Korsten, L., Harding, R. M. 2002. Foliar, fruit and soilborne disease. In: *The avocado: Botany, production and uses*, Whaley, A. W., Schaffer, B., Wolstenholme, B. N. (Eds.) (CABI Publishing: Oxon, UK). Pp. 299-358.
35. Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, R. T., Rohrbach, K. G., Ohr, D. 1998. *Compendium of tropical fruit diseases*. APS Press. Minnesota, USA. 88 p.
36. Ploetz, R. C., Dann, E., Pegg, K., Eskalen, A., Ochoa, S., Campbell, A. 2011. Pathogen exclusion: Options and implementation. *Conference Proceedings. 7th World Avocado Congress*, Cairns, Queensland, Australia.
37. Rondón, A., Figueroa, M. 1976. Mancha de sol (sunblotch) de los aguacates (*Persea americana*) en Venezuela. *Agronomía Tropical* 26: 463-466.

38. Sánchez, C. S., Mijares, O. P., López, L. L., Barrientos, P. A. F. 2001. Historia del aguacate en México. *Journals CICTAMEX*. Pp. 171-187.
39. Schnell, R. J., Kuhn, D. N., Ronning, C. M., Harkins, D. 1997. Application of RT-PCR for indexing avocado sunblotch viroid. *Plant Disease* 81: 1023-1026.
40. Schnell, R. J., Kuhn, D. N., Olano, C. T., Quintanilla, W. E. 2001. Sequence diversity among avocado sunblotch viroids isolated from single avocado trees. *Phytoparasitica* 29: 451-460.
41. Semancik, J. S., 2003. Avocado viroids: Avocado Sunblotch viroid. In: *The Viroids*, Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W. and Semancik, J. S. (Eds.) (Australia: CSIRO Publishing). Pp. 171-177.
42. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2011. Anuario estadístico de la producción agrícola. SAGARPA. URL: [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx). Consulta realizada en abril de 2013.
43. Smith, C. E. 1966. Archeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany* 20: 169-175.
44. Smith, N. J., Williams, J., Plunkett, D. L., Talbot, J. P. 1992. *Tropical Forest and their Crops*. Comstock Publishin Associates, Cornell University Press. New York. USA. Pp 568.
45. Spiegel, S., Alper, M., Allen , R. N. 1984. Evaluation of biochemical methods for the diagnosis of the avocado sunblotch viroid in Israel. *Phytoparasitica* 12: 37-43.
46. Stevens, H. E., Piper, R. B. 1941. Sunblotch in avocado disease in Florida. USDA. Washington DC, Pp. 40-46.
47. Storey, W., Bergh, B. O., Zentmyer, G. A. 1986. The origin indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Yearbook* 70: 132-133.

48. Strange, N. R., Scott, P. R. 2005. Plant disease: A threat to global food security. Annual reviews Phytopathology 43: 83-116.
49. Suarez, I. E., Litz, R. E., Schnell, R. J., Kuhn, D. N. 2005. El viroide de la mancha de sol (ASBVd) es persistente en cultivos nucelares de aguacate (*Persea Americana* Miller). Revista Colombiana de Biotecnología 7: 10-18.
50. Symons, R. H. 1981. Avocado sunblotch viroid: primary sequence and proposed secondary structure. Nucleic Acids Research 9: 339-348.
51. Téliz, O. D., Mora, A. A. 2007. El aguacate y su manejo integrado. 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. México. 321 p.
52. Turner, B. L., Miksicek. 1984. Economic plant species associated with prehistoric agricultura in the Maya lowlands. Economic Botany 38: 179-173.
53. Vargas, C. O., Querci, M., Salazar, L. F. 1991. Identificación y estado de diseminación del viroide del manchado solar del palto (*Persea americana* L.) en el Perú y la existencia de otros viroides en palto. Fitopatología 26: 23-27.
54. Vallejo, P. M. R., Téliz O. D., Nieto, A. D., Ochoa, M. D. L., Valdovinos, P. G., Colinas, L. M. T., De La Torre, A. R. 2011. Physiology and postharvest quality of avocado cv. Hass infected with the avocado sunblotch viroid in Michoacán, México. Proceedings VII World Avocado Congress 2011. Cairns, Australia. 5-9 September 2011. WAC 7, section 02.
55. Wallace, J. M. 1958. The sunblotch disease of avocados. California Avocado Society Yearbook 42: 86-89.
56. Wallace, J. M., Drake, R. J. 1962. A high rate of seed transmission of avocado sunblotch from symptomless trees and origin of such trees. Phytopathology 52: 237-241.

57. William, L. O. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, Subg. *Persea*.  
Economic Botany 31: 315-320.
58. Yang, X. B., Tschanz, A. T., Dowler, W. M., Wang, T. C. 1991. Development of  
yield loss models in relation to reductions of components of soybean infected with  
*Phakopsora pachyrhizi*. Phytopathology 81: 1420-1426.

**CAPITULO II**  
**EFEECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL (ASBVd) EN EL**  
**RENDIMIENTO DE AGUACATE (*Persea americana* Miller) DE MICHOACÁN**

**José Ramón Saucedo Carabez, MC**  
**Colegio de Postgraduados, 2013**

**RESUMEN**

El efecto del *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) se evaluó en cuatro árboles sanos, cuatro asintomáticos (positivos molecularmente), y cuatro sintomáticos del cultivar ‘Hass’ y de la selección ‘Méndez’ en el “Huerto-1” municipio de Uruapan. Cuatro árboles sanos y cuatro sintomáticos se evaluaron en el “Huerto-2” municipio de Tingambato. El peso total de frutos ‘Hass’ sintomáticos se redujo significativamente en 75 % (213 vs 751 kg sanos) en el “Huerto-1” y 52 % (124 vs 255 kg) en el “Huerto-2” (Tukey,  $p=0.05$ ). Esta reducción fue mayor en ‘Méndez’ 83 % en “Huerto 1” (1,053 vs 183 kg) y 76 % en “Huerto-2” (340 vs 82 kg). El rendimiento de árboles asintomáticos se redujo en 58 % en ‘Méndez’ y 30 % en ‘Hass’. El peso medio de 100 frutos ‘Hass’ se redujo del 13 al 28 % y del 20 al 27 % en ‘Méndez’ en los huertos 2 y 1 respectivamente. El diámetro ecuatorial de 100 frutos ‘Hass’ sintomáticos fue 8 % menor en los dos huertos, y en ‘Méndez’ del 5 al 7 %. El diámetro polar disminuyó en 8-10 % en ‘Hass’ y 10-11 % en ‘Méndez’. La incidencia de frutos ‘Hass’ sintomáticos fue de 46-62 % y en ‘Méndez’ del 20-28 %. En conclusión, el viroide redujo significativamente el rendimiento y afectó la morfología de los frutos en árboles infectados del cv. ‘Hass’ y del segregante ‘Méndez’.

**Palabras clave:** enfermedad de aguacate, evaluación de pérdidas, calidad de fruta, árboles asintomáticos, incidencia.

**EFFECT OF *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) ON AVOCADO YIELD IN  
MICHOACAN**

**José Ramón Saucedo Carabez, MC  
Colegio de Postgraduados, 2013**

**ABSTRACT**

The effect of *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) was evaluated in four healthy, four asymptomatic (molecularly positive), and four symptomatic trees of cv. Hass and Mendez in grove 1 in Uruapan County. Four healthy and four symptomatic trees were evaluated in grove 2 in Tingambato County. The total Hass fruit weight from symptomatic trees was significantly (75 %) reduced (213 vs 751 kg from healthy trees) in grove 1 and 52 % (124 vs 255 kg) in grove 2 (Tukey,  $p=0.05$ ). This reduction was more severe in Mendez, 83 % in grove 1 (183 vs 1,053 kg) and 76 % in grove 2 (82 vs 340 kg). Yield of asymptomatic trees was 58 % reduced in Mendez and 30 % in Hass. The average weight of 100 fruits was 13-28 % reduced in Hass and 20-27 % in Mendez in groves 2 and 1 respectively. The equatorial diameter of 100 symptomatic fruits was 8 % lower in Hass in both groves, and 20-28 % in Mendez. The polar diameter decreased by 8-10 % in Hass and 10-11 % in Mendez. The incidence of symptomatic fruits was 46-62 % in Hass and 20-28 % in Mendez. Yield of ASBVd symptomatic Hass and Mendez trees was significantly reduced and fruit morphology was negatively affected.

**Keywords:** avocado disease, loss assessment, fruit quality, asymptomatic trees, incidence.

## 1. INTRODUCCIÓN

La “mancha de sol del aguacate” es una enfermedad de importancia económica del cultivo de aguacate (*Persea americana* Miller) y es causada por el *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) (Palukaitis *et al.*, 1971). La enfermedad se reportó por primera vez en California y se describió inicialmente como un desorden fisiológico (Coit, 1928) o genético (Horne, 1929). En 2009 De la Torre *et al.*, confirmaron la presencia del ASBVd en Tingambato, Michoacán, México. El ASBVd es una molécula circular de RNA de 246-249 nucleótidos (Symons, 1981). La enfermedad afecta a todos los cultivares de aguacate, se transmite a través de semilla, material propagativo, herramientas contaminadas y probablemente por polen. Para el manejo de la enfermedad, la erradicación de plantas infectadas es el medio más efectivo para prevenir su diseminación (Wallace y Drake, 1962; Horne y Parker, 1931; Desjardins *et al.*, 1980; Stevens y Piper, 1941). El uso de material propagativo libre del ASBVd y proveniente de viveros certificados sería el primer paso para iniciar huertos sanos y rendimientos altos (GIIIA, 2013). Los síntomas de la mancha de sol varían considerablemente y son influenciados por el cultivar, el medio ambiente y la variante del viroide que predomina en el árbol (Dale *et al.*, 1982; Desjardins *et al.*, 1987; Schnell *et al.*, 2001; Semancik, 2003; Semancik y Szychowski, 1994). El síntoma típico se presenta en frutos, los cuales muestran hendiduras blancas, amarillas o rosas y que pueden terminar en hendiduras necróticas. Otro síntoma, aunque no consistente, es la presencia de bandas estrechas de color blanco, amarillo o rosa en ramas o tallos jóvenes (Horne y Parker, 1931; Wallace, 1958; Desjardins, 1987). Los síntomas foliares son poco comunes en campo y su asociación con el viroide debe corroborarse. En las hojas se presentan áreas decoloradas o cloróticas y pueden formarse alrededor de las venas y progresar hasta abarcar la totalidad de la lámina foliar y en ocasiones deformar la hoja (Whitsell, 1952; Wallace, 1958). Otro síntoma inconsistente y pendiente de verificar su asociación con el viroide es la corteza en el tronco y ramas de varios años de edad

que pueden tener un aspecto agrietado rectangular, a menudo referido como “piel de cocodrilo” (Ploetz *et al.*, 1998). Los síntomas de la enfermedad pueden distribuirse irregularmente en el árbol infectado. Árboles severamente afectados presentan achaparramiento y follaje escaso; pero algunos árboles con síntomas pueden revertirlos a una condición asintomática (Ploetz *et al.*, 2011). En Michoacán los síntomas típicos se observan en frutos con grietas amarillas (lo más frecuente), blancas, rojizas, púrpuras o negras. Algunos brotes vegetativos y ramas verdes pueden mostrar franjas superficiales o hundidas de color amarillo. Algunas hojas pueden mostrar manchas amarillas o blancas, deformarse y la lámina foliar se reduce (GIIIA, 2013). Otro efecto importante de las infecciones del ASBVd en árboles de aguacate, es su asociación con la reducción del rendimiento de los árboles enfermos, lo cual afecta la economía de los productores (Luttig y Manicom, 1999); la calidad de la fruta (Vallejo *et al.*, 2011) y el vigor de los árboles se reduce (Rondón y Figueroa, 1976). El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto del ASBVd en el rendimiento de aguacate ‘Hass’ y ‘Méendez’ y la incidencia de frutos sintomáticos en dos huertos de Michoacán.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Área de estudio y muestreo

El presente trabajo se realizó en dos huertos de aguacate del cultivar ‘Hass’ y la selección ‘Méndez’ en el estado de Michoacán. El “Huerto 1” con Manejo Integrado del Aguacate (MIA) (Téliz y Mora, 2007) se localizó en el municipio de Uruapan a una altitud de 1503 msnm en las coordenadas geográficas 19° 20’ 51.095” latitud norte y 102° 5’ 14.107” longitud oeste. El “Huerto 2” (sin Manejo Integrado del Aguacate) (SMIA) en el municipio de Tingambato a 1610 msnm en las coordenadas 19° 26’ 29” de latitud norte y 101° 52’ 10” de longitud oeste.

Árboles del cultivar ‘Hass’ y la selección ‘Méndez’ se diferenciaron considerando tipo de floración, forma de la semilla y dinámica de los brotes vegetativos posteriores a cada floración. Se realizó un muestreo dirigido en árboles de los dos cultivares para identificar en cada huerto aquellos con los síntomas causados por el ASBVd que incluyeron grietas de color amarillo o rojizo en frutos y variegado en hojas (clorosis o bronceado de la nervadura central hacia los márgenes) (Figura 1). La presencia o ausencia del ASBVd se determinó en 50 árboles de 25-35 años de edad, similares en vigor. Dos hojas en cada punto cardinal y de cada árbol seleccionado por huerto se colectaron para su verificación molecular mediante RT-PCR.



**Figura 1. Síntomas de la mancha de sol en hojas y frutos. Hendiduras de color amarillo (A) y rojizo con necrosis en fruto (B); variegado de color bronceado desde la nervadura central (C) y distorsión de la hoja con clorosis (D).**

## **2.2 Extracción de RNA**

La extracción de RNA total se realizó según lo descrito por MacKenzie *et al.*, (1997) un molino macerador MM 400® (Retsch, Haan, Alemania). La integridad del RNA obtenido se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, tenido con bromuro de etidio (0.4  $\mu$ l) utilizando 5  $\mu$ l de RNA total mezclados con 1  $\mu$ l de amortiguador de carga 6X. El gel fue sometido a 100 V por 30 minutos en tampón TBE 1X y se visualizó en un foto-documentador Infinity 1000/26MX Xpress® (Vilber Lourmat, Valle del Marne, Francia).

### **2.3 Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR)**

La RT-PCR se realizó con el kit Superscript™ III One-Step RT-PCR System que incluye la enzima Platinum *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen™, Carlsbad, CA). La mezcla de reacción para cada muestra estuvo compuesta por 2.5 µL de buffer 2X, 0.25 µL de iniciador sentido 10 µM (5'-AAGTCGAAACTCAGAGTCGG-3'), 0.25 µL de iniciador antisentido 10 µM (5'-GTGAGAGAAGGAGGAGT-3'), 0.5 de PVP 40 (10 %), 1 µL de agua libre de nucleasas, 0.2 µL de enzima SuperScript™ III RT/ Platinum® *Taq* Mix\* y 0.3 µL del RNA total. La RT-PCR se realizó en un termociclador ABI 2720 (Applied Biosystems, USA) con las siguientes condiciones: retrotranscripción (50 °C 32 min, 94 °C 2 min), amplificación por PCR repetido en 30 ciclos (94 °C 15 s, 53 °C 15 s y 68 °C 15 s) con una extensión final (68 °C 5 min). La integridad de los productos de la RT-PCR se verificaron en un gel de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio en un fotodocumentador Infinity 1000/26MX Xpress® (Vilber Lourmat, Valle del Marne, Francia).

### **2.4 Evaluación del rendimiento y características morfológicas en frutos**

El rendimiento y características morfológicas de las fructificaciones desarrolladas en 4 árboles sanos, 4 asintomáticos y 4 sintomáticos se evaluaron de noviembre de 2011 a diciembre de 2012 en el “Huerto 1” (12 ‘Hass’ y 12 ‘Méndez’). En el “Huerto 2” fueron 16 árboles (8 ‘Hass’ y 8 ‘Méndez’) en un diseño experimental en bloques al azar. El peso del total de fruta producida por árbol se registró en campo. Adicionalmente el peso promedio de 100 frutos de los cuatro árboles de cada categoría se determinó en una balanza analítica. Las variables morfológicas de diámetro polar (DP) y diámetro ecuatorial (DE) se midieron con un vernier digital Truper®. El análisis de varianza y comparación de medias se realizó por la prueba de Tukey utilizando el paquete estadístico SAS®V9.0.

## 2.5 Incidencia y severidad de frutos sintomáticos en árboles infectados

La incidencia de frutos sintomáticos (proporción respecto al total de frutos producidos por árbol) y la severidad de la enfermedad en frutos se evaluó utilizando una escala logarítmica diagramática de 4 clases (Beltrán, 2008) (Figura 2) ajustada según Horsfall y Barratt (1945) mediante el programa 2LOG v.1.0 (Mora *et al.*, 2003).

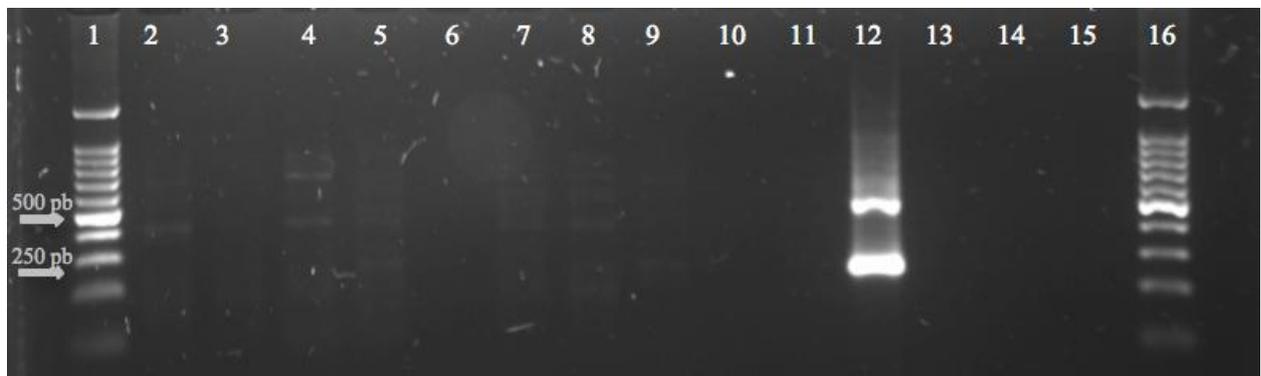


**Figura 2.** Escala logarítmica diagramática de 4 clases para evaluar severidad de síntomas del ASBVd en frutos. Severidad 0 (asintomático), severidad 1 (0-7 % severidad), severidad 2 (8-24 % severidad) y severidad 3 (25-40 % severidad).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Diagnóstico molecular

El análisis por RT-PCR confirmó la presencia o ausencia del ASBVd en los árboles analizados. En el “Huerto 1” se seleccionaron cuatro de 15 árboles positivos asintomáticos y cuatro de 37 árboles negativos al viroide, y 4 árboles con síntomas de la mancha de sol. En el “Huerto 2” se seleccionaron cuatro árboles con síntomas de mancha de sol y cuatro de 23 árboles negativos; únicamente se detectó un árbol positivo asintomático por lo que se omitió esta categoría (Figura 3).



**Figura 3. Detección del ASBVd en árboles de aguacate mediante RT-PCR de punto final. Carriles 1 y 16 marcador molecular de 100 pb. Carriles 4, 5, 7, 8 y 9 amplificaron una banda de RNA de 247-250 pb que corresponde al ASBVd. Los carriles 3, 6, 10, 11, 13 y 14 no amplificaron la banda del ASBVd y se consideraron como sanos. El carril 12 se utilizó como control positivo y en el 15 agua como control negativo.**

#### 3.2 Evaluación del rendimiento y características morfológicas en frutos

El peso total de frutos de los cuatro árboles en cada categoría (sanos, sintomáticos y asintomáticos), peso promedio de 100 frutos de cada categoría, DP y DE fueron estadísticamente mayores (Tukey,  $p=0.05$ ) en árboles sanos de ‘Hass’ y ‘Méndez’ comparados con árboles sintomáticos (Cuadro 1). En árboles ‘Hass’ sintomáticos el

rendimiento total se redujo en 76-67 % (194/799 y 232/704 kg de árboles sanos en las dos evaluaciones) en el “Huerto 1”. El rendimiento de árboles asintomáticos se redujo en 15 al 30 % (680 y 495 kg en las dos evaluaciones). El rendimiento total de los cuatro árboles ‘Méndez’ sintomáticos se redujo en 83 % (183/1053 kg) respecto a árboles sanos en el “Huerto 1”. Los asintomáticos presentaron una reducción mayor que ‘Hass’ con 58 % (438/1053 kg). El rendimiento total de todas las categorías de árboles fue menor en el “Huerto 2” en comparación con el “Huerto 1”. El rendimiento total de los cuatro árboles ‘Méndez’ sintomáticos en el “Huerto 2” se redujo 76 % (82/340 kg).

El peso medio de 100 frutos ‘Hass’ sintomáticos se redujo de 16-40 % (174/208 g en frutos sanos y 151/250 g) durante las dos evaluaciones en el “Huerto 1”; en asintomáticos 0 % (210/208 g) en la primer evaluación y 10 % (225/250 g) en la segunda. ‘Méndez’ mostró una reducción del 27 % (164/226 g) en sintomáticos y 10 % (204/226 g) en asintomáticos en el “Huerto 1”. El peso de 100 frutos ‘Hass’ sintomáticos tuvo una reducción de 13 % (144/165 g) y en ‘Méndez’ 20 % (150/199 g) en el “Huerto 2”.

El DP se redujo en frutos ‘Hass’ sintomáticos en 6-14 % (89/95 mm y 83/97 mm) en las dos evaluaciones y 0 % (96/95 mm y 97/98 mm) en asintomáticos en el “Huerto 1”. En frutos ‘Méndez’ sintomáticos se redujo un 11 % (78/88 mm) y en asintomáticos 1 % (87/88 mm). El DP de frutos ‘Hass’ sintomáticos en el “Huerto 2” se redujo en 8 % (78/85 mm) y en ‘Méndez’ 10 % (76/86 mm).

El DE en frutos ‘Hass’ sintomáticos se redujo 6-9 % (63/67 mm y 64/70 mm) en las dos evaluaciones y 1-4 % (66/67 mm y 67/70 mm) en árboles asintomáticos del “Huerto 1”. En ‘Méndez’ el DE de frutos sintomáticos se redujo 7 % (64/69 mm) y 1 % (68/69 mm) para árboles asintomáticos. El DE en frutos ‘Hass’ sintomáticos se redujo 8 % (59/64 mm) y en ‘Méndez’ 5 % (63/66 mm) en el “Huerto 2” (Cuadro 2).

**Cuadro 1. Rendimiento total y media de las variables morfológicas en frutos ‘Hass’ y ‘Méndez’ de árboles sanos, asintomáticos y sintomáticos del ASBVd.**

	Peso Total (kg)	Peso 100 frutos (g)	Diámetro Polar (mm)	Diámetro Ecuatorial (mm)
<b>“Huerto 1”</b>				
‘Hass’ (noviembre 2011)				
Sanos	799 a	208 a	95 b	67 a
Sintomáticos	194 b	174 b	89 c	63 c
Asintomáticos	680 ab	210 a	96 a	66 b
‘Hass’ (noviembre 2012)				
Sanos	704 a	250 a	97 a	70 a
Sintomáticos	232 c	151 c	83 b	64 c
Asintomáticos	495 b	225 b	98 a	67 b
‘Méndez’ (agosto 2012)				
Sanos	1053 a	226 a	88 a	69 a
Sintomáticos	183 c	164 c	78 b	64 c
Asintomáticos	438 b	204 b	87 a	68 b
<b>“Huerto 2”</b>				
‘Hass’ (diciembre 2012)				
Sanos	255 a	165 a	85 a	64 a
Sintomáticos	124 b	144 b	78 b	59 b
‘Méndez’ (agosto 2012)				
Sanos	340 a	199 a	86 a	66 a
Sintomáticos	82 b	159 b	76 b	63 b

Valores con las misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, p=0.05).

**Cuadro 2. Reducción (%) de las variables de rendimiento y morfológicas de frutos sanos, sintomáticos y asintomáticos ‘Hass’ y ‘Méndez’ en el “Huerto 1” y de sanos y sintomáticos en el “Huerto 2”.**

	Reducción (%)*			
	Peso Total	Peso 100 frutos	Diámetro Polar	Diámetro Ecuatorial
<b>“Huerto 1”</b>				
‘Hass’ (Noviembre 2011)				
Sintomáticos	76	16	6	6
Asintomáticos	15	0	0	1
‘Hass’ (Noviembre 2012)				
Sintomáticos	67	40	14	9
Asintomáticos	30	10	0	4
‘Méndez’ (Agosto 2012)				
Sintomáticos	83	27	11	7
Asintomáticos	58	10	1	1
<b>“Huerto 2”</b>				
‘Hass’ (Diciembre 2012)				
Sintomáticos	51	13	8	8
‘Méndez’ (Agosto 2012)				
Sintomáticos	76	20	10	5

\*El porcentaje se calculó con la diferencia en kg de fruta y la media de las variables morfológicas en frutos de árboles sintomáticos y asintomáticos (“Huerto 1”) y de árboles sintomáticos (“Huerto 2”) comparado con frutos de árboles sanos.

### 3.3 Incidencia de frutos sintomáticos

El número de frutos con síntomas del ASBVd en árboles enfermos fue mayor en los cuatro árboles ‘Hass’ comparada con los cuatro árboles ‘Méndez’ de ambos huertos (Cuadro 3). La incidencia de frutos sintomáticos fue mayor en ‘Hass’ durante las 2 evaluaciones (52-62 %) que en ‘Méndez’ (28 %) en el “Huerto 1”. En el “Huerto 2”, ‘Hass’ también presentó mayor incidencia de frutos sintomáticos con 46 % y con mayor severidad y ‘Méndez’ un 20 %.

**Cuadro 3. Número de frutos sintomáticos en árboles del “Huerto 1” y “Huerto 2” en ‘Hass’ y ‘Méndez’.**

	*Severidad				Suma sintomáticos	**% Incidencia
	S0	S1	S2	S3		
<b>“Huerto 1”</b>						
‘Hass’ (Noviembre 2011)						
Árbol 1	49	129	32	15	176	78
Árbol 2	144	135	152	26	313	68
Árbol 3	48	51	9	0	60	55
Árbol 4	320	21	12	0	33	9
Media 4 árboles	140	84	15	10	145	<b>52</b>
‘Hass’ (Noviembre 2012)						
Árbol 1	11	22	23	33	78	88
Árbol 2	190	272	339	249	860	82
Árbol 3	23	19	15	3	37	62
Árbol 4	122	21	0	0	21	15
Media 4 árboles	86	83	16	71	249	<b>62</b>
‘Méndez’ (Agosto 2012)						
Árbol 1	350	178	50	4	232	39
Árbol 2	73	26	11	5	42	36
Árbol 3	28	6	2	3	11	28
Árbol 4	97	6	2	0	8	7
Media 4 árboles	137	54	16	3	73	<b>28</b>
<b>“Huerto 2”</b>						
‘Hass’ (Diciembre 2012)						
Árbol 1	0	2	12	14	28	100
Árbol 2	281	92	173	72	337	55
Árbol 3	36	4	3	3	10	22
Árbol 4	94	0	4	2	6	6
Media 4 árboles	102	24	9	22	95	<b>46</b>
‘Méndez’ (Agosto 2012)						
Árbol 1	38	11	19	16	46	55
Árbol 2	65	6	2	0	8	11
Árbol 3	91	6	2	1	9	9
Árbol 4	63	2	2	0	4	6
Media 4 árboles	64	6	6	4	16	<b>20</b>

\*Cantidad de frutos producidos con diferente escala de severidad.

\*\*El porcentaje se calculó con la proporción de frutos con síntomas en relación con el total de frutos producidos.

#### 4. DISCUSIÓN

La pérdida en rendimiento se define como la diferencia entre el rendimiento actual obtenido y el rendimiento potencial alcanzable (Nutter *et al.*, 1993). La pérdida también se define como la reducción en cantidad, calidad, o en ambos atributos del rendimiento (Madden *et al.*, 1981). El ASBVd causó significantes pérdidas en rendimiento de árboles ‘Hass’ y ‘Méndez’ en este ensayo; además redujo el tamaño y peso de los frutos. El rendimiento total de ‘Hass’ en ambos huertos se redujo de 51 a 76 % durante las 2 evaluaciones. Da Graca *et al* (1983) registró 14 % de pérdidas en rendimiento en árboles sintomáticos del cv. ‘Fuerte’ en Sudáfrica y 80 % en frutos asintomáticos procedentes de árboles sintomáticos del cv. ‘Edranol’ (Da Graca, 1985). ‘Méndez’ presentó una reducción de 83 % en el rendimiento total de frutos en el “Huerto 1”. La reducción de tamaño de frutos fue de 6-14 % en ‘Hass’ y 5-7 % en ‘Méndez’; Da Graca *et al* (1983) mencionó reducción en tamaño de frutos ‘Fuerte’ aunque no la cuantificó.

Desjardins registró en 1987 una reducción en rendimiento del 95 % de árboles asintomáticos de las variedades ‘Caliente’ y ‘Reed’ en California. Wallace (1958) y Bergh (1974) mencionaron que los árboles asintomáticos y sintomáticos son pobres en rendimiento. Luttig y Manicom (1999) consignaron una reducción del 72 % del rendimiento en árboles asintomáticos en Sudáfrica. Los árboles infectados pueden identificarse por su bajo rendimiento (Marais, 2004). Los frutos sintomáticos no deberían ser comercializados para evitar la diseminación de la enfermedad, lo que aumentaría las pérdidas económicas asociadas con el ASBVd.

## 5. CONCLUSIONES

El rendimiento total en árboles ‘Méndez’ con síntomas asociados al ASBVd se redujo en 83 % y en 58 % en ‘Hass’, comparado con árboles sanos, durante las 2 evaluaciones en el “Huerto 1” con manejo integrado (MIA). En el “Huerto 2”, sin manejo integrado (SMIA), el rendimiento de árboles ‘Méndez’ se redujo en 76 % y en 51 % en ‘Hass’. La reducción en rendimiento fue similar con y sin manejo integrado.

La reducción del rendimiento de árboles ‘Méndez’ asintomáticos fue del 58 % comparado con árboles sanos; la reducción en ‘Hass’ fue del 30 %. El peso de 100 frutos ‘Hass’ de árboles sintomáticos se redujo en 16-40 % y de 0-10 % en asintomáticos en el “Huerto 1”. Árboles ‘Hass’ del “Huerto 2” una reducción del 13 % y mayor en ‘Méndez’ con un 20 %. La reducción en ‘Méndez’ fue del 20 % y en ‘Hass’ del 13 % en el “Huerto 2”. Aparentemente ‘Méndez’ es más susceptible que ‘Hass’ por lo cual es necesario realizar más evaluaciones.

El tamaño de los frutos sintomáticos se redujo comparado con los frutos sanos en ambos cultivares en los dos huertos. La incidencia de frutos sintomáticos y la severidad de síntomas fue mayor en ‘Hass’ que en ‘Méndez’ en ambos huertos, sin que el manejo del huerto haya influido en la incidencia y severidad.

El rendimiento de árboles sintomáticos de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ se redujo considerablemente. Este es el primer reporte del efecto en rendimiento de frutos sintomáticos del ASBVd en aguacate en dos huertos de Michoacán.

## 6. LITERATURA CITADA

1. Beltrán, P. H. 2008. El viroide de la mancha de sol en Michoacán: Etiología y distribución local. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
2. Bergh, B. O. 1974. Avocado research in Israel. California Avocado Society Yearbook 58: 103-126.
3. Coit, J. E. 1928. Sunblotch of the avocado. California Avocado Society Yearbook 20: 27-32
4. Da Graca J. V., Mason, T. E., Antel, H. J. 1983. Effect of avocado sunblotch disease on fruit yield. South Africa Avocado Growers' Association Yearbook 6: 86-87.
5. Da Graca, J. V. 1985. Sunblotch associated reduction in fruit yield in both symptomatic and symptomless carrier trees. South Africa Avocado Growers' Association Yearbook 8: 59.
6. Dale, J. L., Symons, R. H., Allen, R. N. 1982. Avocado sunblotch viroid. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses 254.
7. De La Torre-Almaraz, R., Téliz, O. D., Pallás, V., Sánchez, N. J. A. 2009. First Report of Avocado sunblotch viroid in avocado from Michoacán, México. Plant Disease 93: 202.
8. Desjardins, P. R., Drake, R. J., Swiecki, S. A. 1980. Infectivity studies of avocado sunblotch disease causal agent, possibly a viroid rather than a virus. Plant Disease 64: 313-315.
9. Desjardins, P. R., Sasaki, P. J., Drake, R. J. 1987. Chemical inactivation of avocado sunblotch viroid on pruning and propagation tools. California Avocado Society Yearbook 71: 259-262.

10. Desjardins, P. R. 1987. Avocado sunblotch viroid. In: *The Viroids*. Diener, T. O. (Ed). Plenum Press. New York. Pp. 299-313.
11. Grupo Interdisciplinario e Interinstitucional de Investigación en Aguacate (GIIIA). (2013). La Mancha de Sol del Aguacate p 40-42. In: *El Aguacate en Michoacán: Plagas y Enfermedades*. Morevallado ed. Morelia, Michoacán, México. 56 p.
12. Horne, W. T. 1929. Progress in the study of certain disease of avocado. *Phytopathology* 19: 1144.
13. Horne, W. T., Parker, E. R. 1931. The avocado disease called sunblotch. *Phytopathology* 21: 235-238.
14. Horsfall, J. G., Barratt, R. W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 655.
15. Luttig, M., Manicom, B. Q. 1999. Application of highly sensitive avocado sunblotch viroid indexing method. South Africa Avocado Grower's Association Research Report 22: 55-60.
16. MacKenzie, D. J., McLean, M. A., Mukerji, S. and Green, M. 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Plant Disease*. 81: 222-226.
17. Madden, L. V., Pennypacker, S. P., Antle, C. E., Kingsolver, C. H. 1981. A loss model for crops. *Phytopathology* 71: 685-689.
18. Marais, L. J. 2004. Diseases of fruits and vegetables. Volume II, 1-36, Pp. 1-36
19. Mora, A. G., Rivas, V. P., Góngora, C. C., Továs, S. A., Cristóbal, A. J., Loeza, K. E., Michereff, S., Marinelli, A., Osada, V. K. 2003. Sistemas computarizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas

- logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola 15-12 octubre, Puerto Vallarta, Jalisco, México. 2-22 p.
20. Nutter, F. W., Teng, P. S., Royer, M. H. 1993. Terms and concepts for yield, crop losses, and diseases thresholds. *Plant Disease* 77: 211-215.
  21. Palukaitis, P., Hatta, T., Alexander, D., Symons, R. 1971. Characterization of a viroid associated with avocado sunblotch disease. *Virology* 99: 145-151.
  22. Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, R. T., Rohrbach, K. G., Ohr, D. 1998. *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. APS PRESS. Minnesota, USA. 88 p.
  23. Ploetz, R. C., Dann, E., Pegg, K., Eskalen, A., Ochoa, S., Campbell, A. 2011. Quarantine threats: What happens when new and old diseases move. Conference Proceedings. 7th World Avocado Congress, Cairns, Queensland, Australia.
  24. Rondón, A., Figueroa, M. 1976. Mancha de sol (Sunblotch) de los aguacates (*Persea americana*) en Venezuela. *Agronomía Tropical*. 26: 463-466.
  25. Schnell, R. J. Kuhn, D. N., Olano, C. T., Quintanilla, W. E. 2001. Sequence diversity among avocado sunblotch viroids isolated from single avocado trees. *Phytoparasitica* 29: 451-460.
  26. Semancik, J. S., 2003. Avocado viroids: Avocado Sunblotch viroid. In: *The Viroids*, A. Hadidi, R. Flores, J. W. Randles, and J. S. Semancik (Eds (Australia: CSIRO Publishing). Pp. 171-177.
  27. 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* 75: 1543-1549.

28. Stevens, H. E., Piper, R. B. 1941. Sunblotch in avocado disease in Florida. USDA. Washington DC, Pp. 40-46.
29. Symons, R. H. 1981. Avocado sunblotch viroid: primary sequence and proposed secondary structure. *Nucleic Acids Research* 9: 6527-6537.
30. Téliz, O. D. y Mora, A. A. 2007. El aguacate y su manejo integrado. 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. México. 321 p.
31. Vallejo, P. M. R., Téliz, O. D., Nieto, A. D., Ochoa, M. D. L., Valdovinos, P. G., Colinas, L. M. T., De La Torre, A. R. (2011). Physiology and postharvest quality of avocado cv. Hass infected with the avocado sunblotch viroid in Michoacán, México. *Proceedings VII World Avocado Congress*. Cairns, Australia. 5-9 September 2011. WAC 7, section 02.
32. Wallace, J. M. 1958. The sunblotch disease of avocado. *Journal Rio Grande Valley Horticultural Society* 12: 69-74.
33. Wallace, J. M., Drake, R. J. 1962. A high rate of seed transmission of avocado sunblotch from symptomless trees and origin of such trees. *Phytopathology* 52: 237-241.
34. Whitsell, R. 1952. Sunblotch disease of avocados. *California Avocado Society Yearbook* 37: 215-240.

### CAPITULO III

## EFFECTO DEL VIROIDE DE LA MANCHA DE SOL (ASBVd) EN LA CALIDAD POSTCOSECHA DE AGUACATE (*Persea americana* Miller) DE MICHOACÁN

José Ramón Saucedo Carabez, MC

Colegio de Postgraduados, 2013

### RESUMEN

Frutos ‘Hass’ de cinco clases: sanos de árboles sanos (C1), sanos de árboles asintomáticos (C2), sanos de árboles sintomáticos (C3), sintomáticos con severidad clase 1 (C4), sintomáticos con severidad clase 2 (C5) fueron cosechados en 2011 y 2012. El efecto del ASBVd en la calidad postcosecha se evaluó midiendo la firmeza, color, pérdida de peso, materia seca, contenido de aceite y mineral. C4 y C5 fueron significativamente diferentes (Tukey,  $p=0.05$ ) con respecto a C1, C2 y C3 en firmeza más prolongada, coloración menos oscura y menor pérdida de peso. La firmeza en C4 y C5 fue Listo Para Comer (Ready To Eat, RTE) y no Suave (Soft) al octavo día, mientras que C1, C2 y C3 lo alcanzaron al sexto día. La coloración en C1, C2 y C3 al octavo día fue negra, mientras que en C4 y C5 permaneció 75 % oscura. La pérdida de peso en C4 y C5 fue de 1.4 g/día y en C1, C2 y C3 fue de 2 g/día. El contenido de materia seca, de aceite y mineral fue similar en las 5 clases. El ASBVd afectó la calidad postcosecha de frutos sintomáticos. Los frutos asintomáticos cumplieron los estándares internacionales de calidad.

**Palabras clave:** ‘Hass’, clases, sintomáticos, asintomáticos.

**EFFECT OF *Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) ON POSTHARVEST QUALITY ON  
AVOCADO FROM MICHOACAN**

**José Ramón Saucedo Carabez, MC**

**Colegio de Postgraduados, 2013**

**ABSTRACT**

Hass fruits (*Persea americana*) from five classes: healthy from healthy trees (C1), asymptomatic from asymptomatic trees (C2), asymptomatic from symptomatic trees (C3), symptomatic severity class 1 (C4), symptomatic severity class 2 (C5) were harvested in 2011 and 2012. ASBVd effect of on postharvest quality was evaluated by measuring the firmness, colour, weight loss, dry matter, mineral and oil content. C4 and C5 were significantly different (Tukey,  $p=0.05$ ) in longer firmness, less dark coloration and less weight loss compared to C1, C2 and C3. Firmness in C4 and C5 was Ready To Eat (RTE) and not Soft (Soft) on the eighth day, while C1, C2 and C3 reached on the sixth day. Coloration in C1, C2 and C3 was black on the eighth day, whereas in C4 and C5 remained 75 % obscure. Weight loss in C4 and C5 was 1.4 g/day and C1, C2 and C3 was 2 g/day. Dry matter, mineral and oil content were similar in the five classes. ASBVd affected postharvest quality of symptomatic fruits. Asymptomatic fruits satisfy the international quality standards.

**Keywords:** Hass, classes, symptomatic, asymptomatic.

## 1. INTRODUCCIÓN

El aguacate es un fruto tropical originario de México y América Central, y considerado como uno de los frutales de mayor importancia económica en México (Téliz y Mora, 2007). Su alto valor nutritivo, así como sus propiedades dietéticas lo convierten en uno de los frutos más atractivo para los consumidores en todo el mundo (Ochoa, 2009). Es un fruto muy apreciado en el mercado mundial por su consistencia, exquisito sabor y alto valor nutritivo (Forero *et al.*, 2007). El comercio internacional de aguacate, requiere la producción de frutos de alta calidad para alcanzar precios aceptables en el mercado y que las características de calidad se preserven hasta llegar al consumidor final (Ochoa, 2009). La calidad del fruto en postcosecha puede ser afectada por factores bióticos y abióticos (Kader, 2002). El viroide de la mancha de sol del aguacate (ASBVd) se reportó en Michoacán en 2009 causando síntomas de hendiduras blancas, amarillas, rojas o necróticas sobre los frutos de aguacate (De La Torre *et al.*, 2009), lo cual reduce su calidad y comercialización. La presencia del ASBVd se ha reportado en varios países productores de aguacate como Estados Unidos, Costa Rica, Guatemala, Perú, Venezuela, Sudáfrica, Israel, España y Australia (Semancik, 2003). El ASBVd afecta la fisiología y calidad postcosecha del aguacate principalmente en frutos con síntomas (Vallejo *et al.*, 2011). Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue conocer el efecto del ASBVd en la calidad postcosecha en frutos de aguacate ‘Hass’ de Michoacán.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Ubicación del área de estudio y muestreo

El experimento se estableció en un huerto de aguacate ‘Hass’, ubicado a los 19° 20’ 17” de latitud norte y 102° 4’ 42” de longitud oeste, a 1503 msnm, en el municipio de Uruapan. Se seleccionaron 50 árboles de edad y vigor similar; y durante noviembre del 2011 se colectaron muestras de follaje, de las cuales cada muestra estuvo compuesta de 2 hojas de cada punto cardinal para formar una muestra compuesta por árbol. Las muestras fueron colocadas y etiquetadas en bolsas de plástico y trasladadas al laboratorio de fitopatología del Colegio de Postgraduados y se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento y análisis molecular para detectar la presencia o ausencia del ASBVd.

### 2.2 Identificación molecular del ASBVd

La extracción de RNA se realizó mediante el protocolo de extracción de ácidos nucleicos con silica (MacKenzie *et al.*, 1997). Las muestras de RNA fueron analizadas por RT-PCR para determinar la presencia o ausencia del ASBVd, se realizó con el kit Superscript™ III One-Step RT-PCR System y la enzima Platinum *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen™, Carlsbad, CA) con iniciadores específicos para el ASBVd (Schnell *et al.*, 1997). El producto de la RT-PCR se verificó en un gel de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio en un fotodocumentador Infinity 1000/26MX Xpress® (Vilber Lourmat, Valle del Marne, Francia).

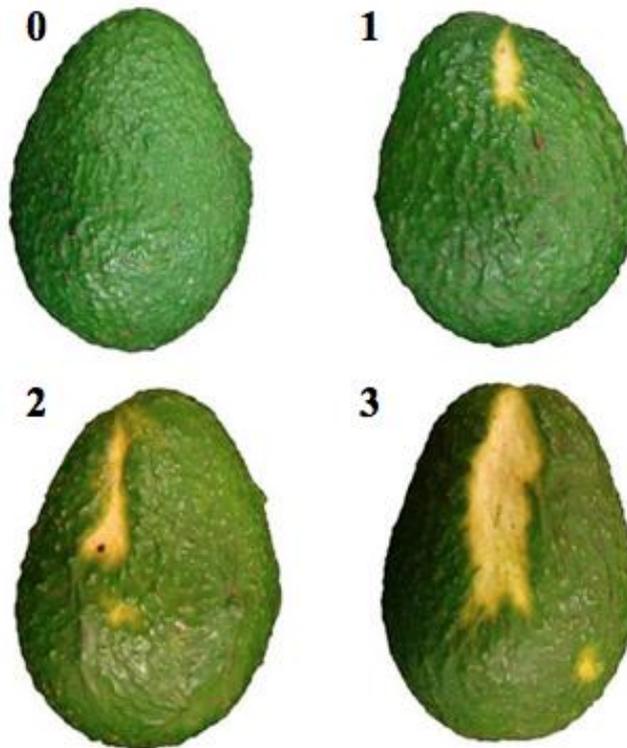
### 2.3 Colecta de frutos

Frutos de aguacate con madurez fisiológica se cosecharon en cada árbol seleccionado durante diciembre de 2011 y 2012. Se colectaron 20 frutos considerando 5 clases (Cuadro 1) a partir de la identificación molecular de los árboles de cada categoría (sano, asintomático y sintomático). Las clases correspondientes de los frutos sintomáticos se determinaron conforme a una escala diagramática (Figura 1) (Beltrán, 2008) modificada con el programa

2LOG v.1.0 por el método Horsfall y Barratt (Mora *et al.*, 2003). Los frutos cosechados se trasladaron al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agrobiología en Uruapan, Michoacán donde se procesaron. Las variables de firmeza, peso y color se evaluaron 24 horas después de cosechados, y posteriormente cada 24 horas hasta que los frutos alcanzaron la madurez de consumo. Los frutos permanecieron bajo condiciones de laboratorio a  $23\pm 2$  °C.

**Cuadro 1. Condiciones de frutos para evaluación de las variables de calidad en postcosecha.**

<b>Condición</b>	<b>Categoría de árbol</b>	<b>Categoría de frutos</b>
C1	Sano	Sano
C2	Asintomático	Asintomático
C3	Sintomático	Severidad 0
C4	Sintomático	Severidad 1
C5	Sintomático	Severidad 2



**Figura 1. Escala diagramática de severidad de síntomas del ASBVd. Severidad 0 (asintomático), severidad 1 (0-7 % severidad), severidad 2 (8-24 % severidad) y severidad 3 (25-40 % severidad).**

#### **2.4 Contenido mineral de frutos**

En una mezcla compuesta de cinco frutos se evaluó el contenido de N, P, K, Ca, Mg, Na, Zn y Mn mediante el procedimiento de digestión en tubos con ácido sulfúrico, ácido salicílico, peróxido y selenio según la metodología de Walinga *et al.*, (1995). Los análisis se realizaron en frutos clasificados según las 5 clases mencionadas anteriormente. Los frutos fueron procesados en el laboratorio de Nutrición Mineral del Colegio de Postgraduados durante la etapa de madurez fisiológica y madurez de consumo.

#### **2.5 Evaluación de firmeza**

La firmeza fue medida de forma no destructiva en 20 frutos de cada clase mediante un analizador de textura Fruit Texture Analyser Model GS-14 (Güss, Sudáfrica) equipado con

una punta semiesférica de 8 mm. Se aplicó una fuerza constante sobre cada fruto hasta generar 2 mm de deformación en 3 puntos equidistantes de la región ecuatorial. Las unidades de medida se registraron en Newtons y se consideraron las siguientes 4 categorías: 1. Dura (Hard), 2. Listo para comprar (Ready To Buy, RTB), 3. Listo para comer (Ready To Eat, RTE) y 4. Suave (Soft) (Ochoa *et al.*, 2009).

## **2.6 Color del exocarpio**

El cambio de coloración de la epidermis fue evaluado visualmente cada 24 horas mediante el uso de la siguiente escala: 1. Verde esmeralda, 2. Verde bosque, 3. 25 % coloración oscura, 4. 75 % coloración oscura, 5. Morado y 6. Negro (White *et al.*, 2009). La variabilidad de color fue evaluada alrededor de todo el fruto. Se capturaron fotos digitales con la ayuda de una cámara Coolpix P510 (Nikon®).

## **2.7 Pérdida de peso**

La velocidad de pérdida de peso se midió con una báscula electrónica EB15 (OHAUS®, 0.1-15,000 g), para lo cual se consideraron 20 frutos y se registró su peso cada 24 horas.

## **2.8 Materia seca y contenido de aceite**

Frutos de las 5 clases se colectaron y procesaron para determinar el contenido de materia seca (MS) y aceite mediante el procedimiento indicado en la Norma Mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006 (AOAC, 1990), que consiste en pesar una sección de papel filtro de 15 x 10 cm, al cual se agregaron 10 g de pulpa (peso húmedo) en rebanadas delgadas longitudinales, las muestras se deshidrataron durante 30 s con una potencia de 9 en un horno de microondas MS1140SL (LG®, 120V~60Hz 650W). Posteriormente se pesó el tejido de cada muestra en una balanza electrónica EB15 (OHAUS®, 0.1-15,000 g) y se colocaron las muestras nuevamente durante 3.5 min con potencia 6 en el microondas. Transcurrido el tiempo las muestras se pesaron y nuevamente se colocaron en el microondas durante 2 min a potencia 4

hasta obtener un peso estable (peso seco). El porcentaje de MS se determinó mediante la siguiente operación:

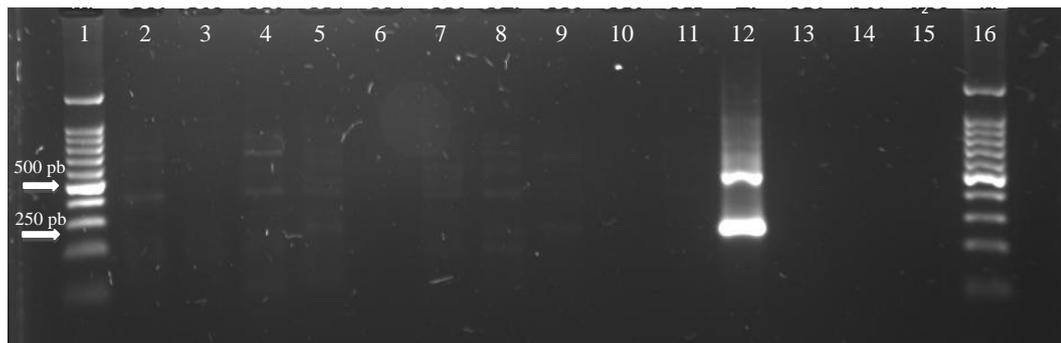
$$MS = \frac{\text{Peso seco} - \text{Peso del papel} \times 100}{\text{peso húmedo}}$$

El análisis de varianza y comparación de medias se realizó por la prueba de Tukey utilizando el paquete estadístico SAS®V9.0.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Identificación molecular del ASBVd

El diagnóstico molecular por RT-PCR permitió discriminar la presencia o ausencia del ASBVd en los árboles seleccionados (Figura 2). Por lo que fue posible diferenciar las categorías sanos, asintomáticos y sintomáticos para la colecta de frutos.



**Figura 2. Gel de agarosa con productos RT-PCR. Carriles 4, 5, 7, 8, 9 son productos positivos que amplificaron una banda de 247-250 pb que concuerdan con el ASBVd. Los carriles 3, 6, 10, 11, 13 y 14 son productos procedentes de árboles sanos. El carril 12 fue un control positivo y el 15 fue agua como control negativo. En los carriles 1 y 16 marcadores moleculares de 100 pb.**

#### 3.2 Cambios de la coloración durante la maduración de frutos

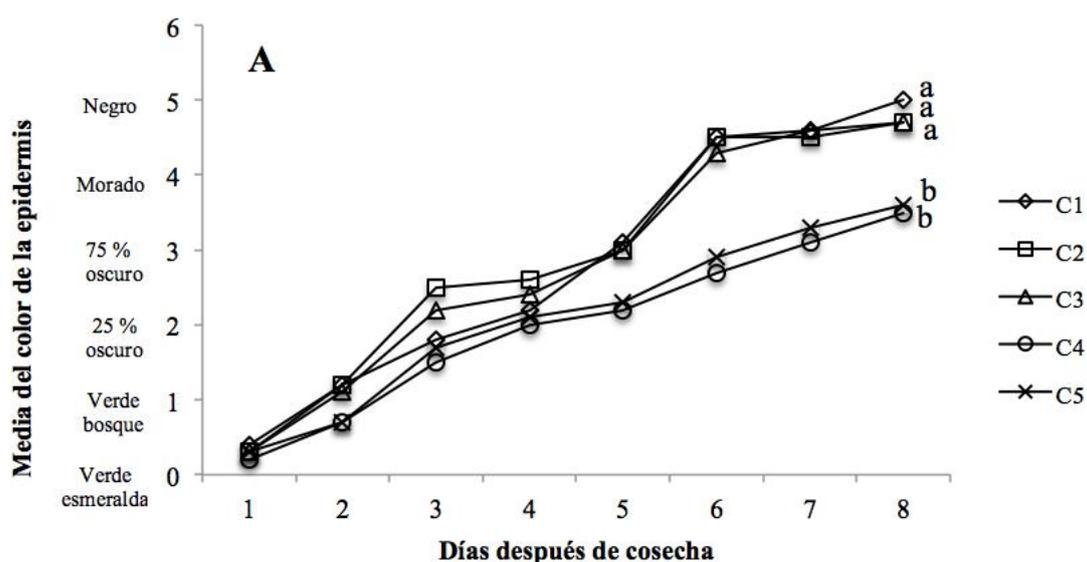
Dos días después de la cosecha (DDC) los frutos de color verde esmeralda se tornaron a color verde bosque y 4 DDC a color negro a diferencia de los sintomáticos que permanecieron con una coloración 25 % oscura y con una coloración atípica en las zonas con síntomas de color rosa y rojizo. Los cambios de coloración en C1, C2 y C3 fueron similares, con un color Negro al octavo día. Sin embargo, frutos de C4 y C5 fueron significativamente (Tukey,  $p=0.05$ ) más lentos en el cambio de color y no alcanzaron la coloración totalmente Negro, aún considerados maduros en firmeza (Figura 3A).

### 3.3 Evaluación de firmeza

En la variable de firmeza se observaron diferencias estadísticas (Tukey,  $p=0.05$ ) en C4 y C5 correspondientes a frutos con síntomas de 8-24 % de cubrimiento del fruto en comparación con las demás clases que no manifestaron los síntomas ocasionados por el viroide. En el sexto día frutos sintomáticos (C4 y C5) desarrollaron la categoría de RTB, a diferencia que los frutos sanos y asintomáticos (C1, C2 y C3) que obtuvieron la categoría de RTE. C4 y C5 no alcanzaron la categoría de Suave al octavo día, mientras que los frutos sanos y asintomáticos (C1, C2 y C3) adquirieron la categoría de Suave al octavo día debido a su maduración uniforme (Figura 3B).

### 3.4 Velocidad de pérdida de peso

Los frutos de clase C4 y C5 mostraron diferencia significativa en la velocidad de pérdida de peso con 1.4 g/día comparadas con C1 y C2 que su maduración fue regular con una pérdida en promedio de 2 g/día. C3 tuvo una maduración regular y no mostró diferencia significativa (Figura 3C). La apariencia física en C4 y C5 se vio deteriorada a pesar de mostrar menos pérdida de peso asociada a una coloración y firmeza desuniforme.



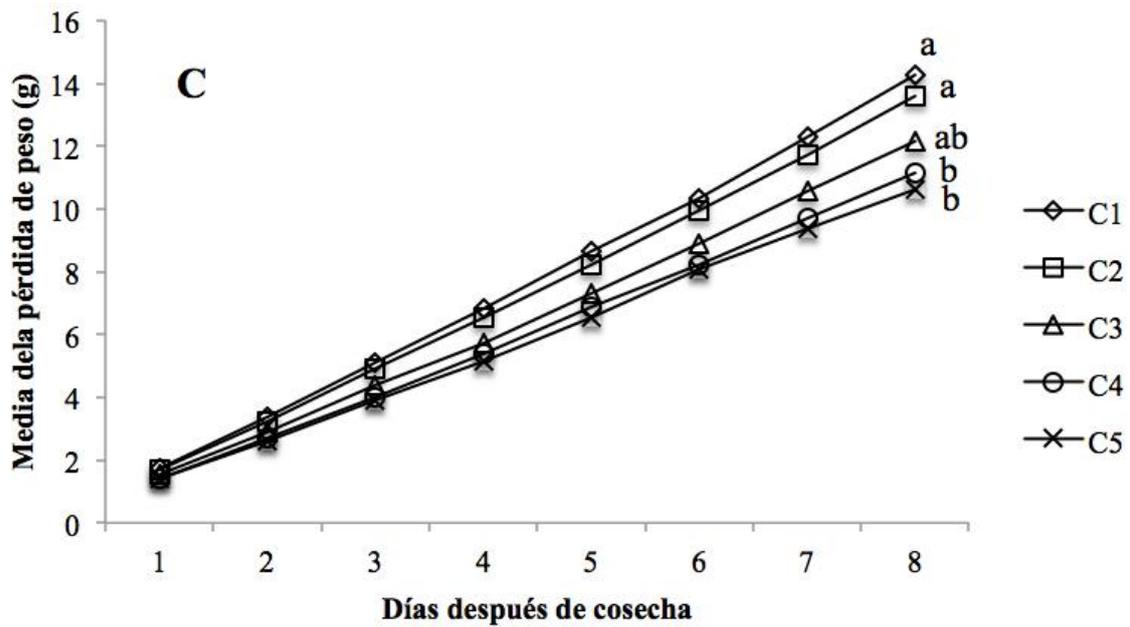
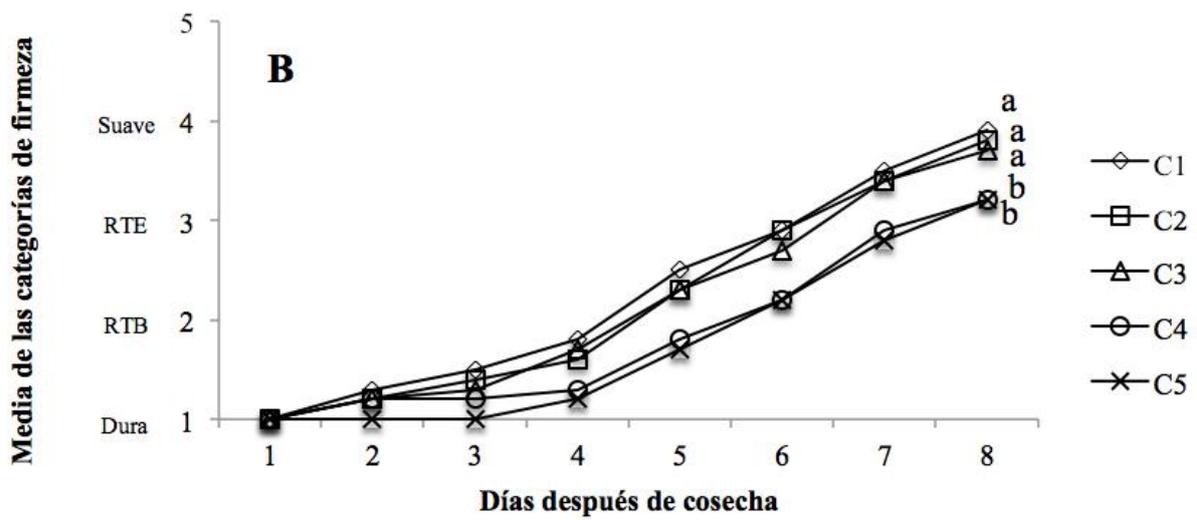
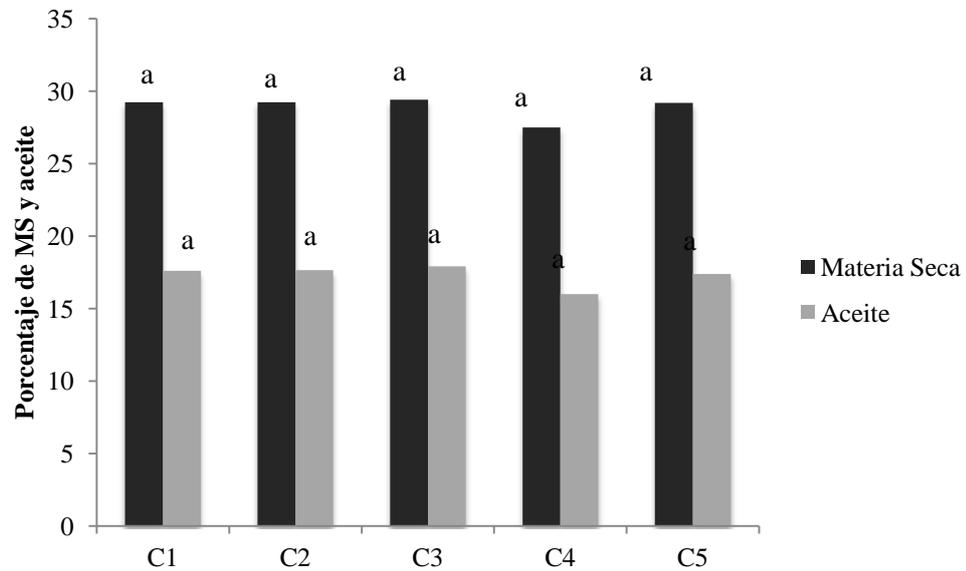


Figura 3. Media del cambio en coloración de la epidermis (A), firmeza (B), velocidad de pérdida de peso (C) de frutos ‘Hass’ durante la maduración de las 5 clases. Líneas con la misma letra no indican diferencia significativa (Tukey,  $p=0.05$ ).

### 3.5 Contenido de materia seca y de aceite

Las variables de MS y contenido de aceite no mostraron diferencia significativa (Tukey,  $p=0.05$ ) en ninguna de las clases aún en frutos sintomáticos (Figura 4).



**Figura 4. Comparación de medias del porcentaje de MS y aceite de las 5 clases. Barras con letras iguales no muestran diferencia significativa (Tukey,  $p=0.05$ ).**

### 3.6 Contenido nutrimental de frutos

El análisis del contenido mineral no mostró diferencias significativas (Tukey,  $p=0.05$ ) en ninguna de las 5 clases ni en las 2 etapas de madurez (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Porcentaje (%) y partes por millón (ppm) de los minerales evaluados en las 5 condiciones de frutos ‘Hass’ durante las etapas de madurez fisiológica y comercial.**

	N	P	K	Ca	Mg	Na	Zn	Mn
<b>Madurez Fisiológica</b>								
C1	0.99	0.18	1.15	0.20	0.13	0.04	12	6
C2	0.92	0.16	1.43	0.32	0.12	0.01	17	4
C3	0.80	0.15	1.25	0.24	0.13	0.03	10	6
C4	0.87	0.17	1.50	0.29	0.15	0.02	17	6
C5	0.99	0.16	1.13	0.17	0.12	0.01	9	4
<b>Madurez Comercial</b>								
C1	0.96	0.16	1.43	0.15	0.16	0.02	11	4
C2	1.32	0.21	1.91	0.25	0.20	0.02	14	8
C3	0.98	0.17	1.73	0.18	0.12	0.01	12	6
C4	0.99	0.18	1.55	0.26	0.10	0.08	12	5
C5	1.25	0.19	1.70	0.13	0.10	0.02	8	4

\* El porcentaje se calculó con la media entre las 5 condiciones durante las 2 evaluaciones.

#### 4. DISCUSIÓN

En las clases C4 y C5 que correspondieron a los frutos con síntomas del ASBVd se observó que hubo un efecto de maduración irregular en todas las variables evaluadas. Estas irregularidades en la maduración se debe a alteraciones en el proceso respiratorio (Vallejo *et al.*, 2011) probablemente ocasionadas por el ASBVd. Después de la cosecha, al tercer y cuarto día el cambio de coloración comenzó a declinar, mientras que en la mayoría de frutos sintomáticos la coloración permaneció en verde bosque. La coloración de la epidermis en frutos sintomáticos no desarrolló el color negro típico de madurez comercial y su cambio de coloración fue más lenta que frutos sanos y asintomáticos aún cuando los índices de madurez como la MS y el contenido de aceite fueron similares, lo que sugiere que los cambios iniciales de color en aguacate ‘Hass’ puede ser debido a la degradación de clorofila (Cox *et al.*, 2004), el efecto de la replicación del viroide en los cloroplastos, en la respiración (Vallejo, *et al.*, 2011) y en el cambio de coloración del fruto.

La firmeza como característica importante y el método más confiable para determinar si un fruto está maduro y listo para comer (White *et al.*, 1999) permaneció regular y similar en C1, C2 y C3; sin embargo, C4 y C5 no desarrolló una firmeza homogénea en el 8º día después de la cosecha debido a la maduración desuniforme. La pérdida de agua en frutos es considerada la principal causa de deterioro físico y pérdida de calidad (Kader, 2002). C4 y C5 desarrolló menor pérdida de peso; mientras que C1, C2 y C3 presentó una pérdida de peso regular, estos resultados indican un efecto del ASBVd en frutos sintomáticos durante su proceso de maduración y pérdida de peso (Vallejo *et al.*, 2011).

El porcentaje de MS es un indicador de madurez ampliamente aceptado (Arpaia *et al.*, 2001) y está fuertemente relacionado con el contenido de aceite y con la calidad de frutos de aguacate (Lee *et al.*, 1983; Brown, 1984; Ranney, 1991). El contenido de MS fue similar en todas las clases evaluadas sin mostrar ninguna diferencia significativa y superaron

considerablemente los valores mínimos exigidos como estándares de calidad para México (22 % MS y 8 % aceite) (Téliz y Mora, 2007) y Estados Unidos (18.4-21.9 % MS) (Kader, 2002). Además superaron los valores mínimos considerados como indicadores de cosecha y los necesarios para obtener un sabor aceptable en su madurez de consumo (Lee *et al.*, 1983). El contenido de aceite no presentó ninguna diferencia significativa, por lo tanto también cumple con las propiedades y recomendaciones nutricionales (Pérez, *et al.*, 2005). El contenido mineral no presentó diferencias significativas, y los minerales encontrados en los frutos fueron los niveles estándares reportados por Salazar (2002), aún en frutos sintomáticos.

## 5. CONCLUSIONES

El ASBVd afectó la calidad postcosecha en frutos sintomáticos con diferente severidad. La categoría de frutos asintomáticos infectados con el viroide procedentes de árboles sintomáticos y asintomáticos no mostró ningún efecto en las variables evaluadas y desarrollaron una condición similar a los frutos sanos procedentes de árboles sanos, por lo tanto cumple con los estándares de calidad exigidos en los mercados nacionales e internacionales ya que su calidad postcosecha no se ve afectada. Frutos sintomáticos desarrollaron una maduración desuniforme en la firmeza, color de la epidermis y pérdida de peso debido a alteraciones en su proceso de respiración, características que lo hacen indeseables, pero su calidad es aceptable y puede aprovecharse en fresco o en industria.

El contenido de MS y aceite de las 5 clases de frutos cumplen con los mínimos requerimientos exigidos como indicadores de madurez. El análisis mineral de frutos sintomáticos no desarrolló ningún efecto en el contenido de la pulpa, por lo que se puede aprovechar en la industrialización y contiene el mismo valor nutricional además de que garantiza la ingesta total del contenido de sus nutrientes.

## 6. LITERATURA CITADA

1. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (AOAC). 1990. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., USA. Pp. 1067 .
2. Arpaia, M. L., Boreham, D., Hofshi, R. 2001. Development of a new method for measuring minimum maturity of avocados. California Avocado Society Yearbook 85: 153-178.
3. Beltrán, P. H. 2008. El viroide de la mancha de sol en Michoacán: Etiología y distribución local. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
4. Brown, B. 1984. Markey maturity indices and sensory properties of avocados grown in Queensland. Food Technology in Australia 37: 474-476.
5. Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., Woolf, A. B. 2004. Skin colour pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. Postharvest Biology and Technology 31: 287-294.
6. De La Torre-Almaraz, R., Téliz, O. D., Pallás, V., Sánchez N. J. A., 2009. First Report of Avocado sunblotch viroid in Avocado from Michoacán, México. Plant Disease 93: 202-202.
7. Forero, F. G. J., Cárdenas, H. J. F. 2007. Situación y avances en la postcosecha y procesamiento del aguacate (*Persea americana* Mill.). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 1: 189-200.
8. Kader, A. A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3rd Edition, University of California Agriculture and Natural Resources, USA. 535 p.

9. Lee, S., Young, R., Schiffman, P., Coggins, C. 1983. Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight. *American Society Horticulture Science* 108: 390-394.
10. MacKenzie, D. J., McLean, M. A., Mukerji, S. and Green, M. 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Plant Disease* 81: 222-226.
11. Mora, A. G., Rivas, V. P., Góngora, C. C., Tovas, S. A., Cristóbal, A. J., Loeza, K. E., Michereff, S., Marinelli, A., Osada, V. K. 2003. Sistemas computarizados en la epidemiología: I. 2-LOG ver 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas.
12. NMX-FF-016-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para uso humano. Fruta fresca, Aguacate (*Persea Americana* Mill) Especificaciones.
13. Ochoa, A. S. 2009. Calidad y manejo postcosecha del fruto de aguacate. Memorias III Congreso Latinoamericano del Aguacate. Medellin, Colombia. 11-12 Noviembre 2009.
14. Ochoa, A. S., Maarten, L. A. T. M. H., Nicolai, M. B. 2009. Modelling the transient effect of 1-MCP on 'Hass' avocado softening: A Mexican comparative study. *Postharvest, Biology and Technology* 51: 62-72.
15. Pérez, R. R., Villanueva, R. S., Cosío, R. R. 2005. El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. *e-Gnosis* 3:10.
16. Ranney, C. 1991. Relationship between physiological maturity and percent dry matter of avocados. *California Avocado Society Yearbook* 75: 71-85.

17. Salazar, G. S. 2002. Nutrición del aguacate, principios y aplicaciones. INPOFOS, INIFAP. Querétaro, México.
18. Schnell, R. J., Kuhn, D. N., Ronning, C. M., Harkins, D. 1997. Application of RT-PCR for indexing avocado sunblotch viroid. *Plant Disease* 81: 1023-1026.
19. Semancik, J. S., 2003. Avocado viroids: Avocado Sunblotch viroid. In *Viroids*, A. Hadidi, R. Flores, J. W. Randles, and J. S. Semancik (Eds (Australia: CSIRO Publishing). Pp. 171-177.
20. Téliz, O. D., Mora, A. A. 2007. El aguacate y su manejo integrado. 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. México. 321 p.
21. Vallejo, P. M. R., Téliz O. D., Nieto, A. D., Ochoa, M. D. L., Valdovinos, P. G., Colinas, L. M. T., De La Torre, A. R. 2011. Physiology and postharvest quality of avocado cv. Hass infected with the avocado sunblotch viroid in Michoacán, México. *Proceedings VII World Avocado Congress 2011*. Cairns, Australia. 5-9 September 2011. WAC 7, section 02.
22. Walinga, I., Van Der Lee, J. J., Houba, V. J. G., Van Vark, W., Novozamsky, I. 1995. *Plant Analysis manual*. Kluwer Academic Publishers. Pp. 133.
23. White, A., Woolf, A., Harker, R., Davy, M. 1999. Measuring avocado firmness: Assessment of various methods. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 389-392.
24. White, A., Woolf, A., Hofman, P., Arpaia, M. L. 2009. *The International Avocado Quality Manual*. Institute for Plant and Food Research Limited. New Zealand. Pp. 70.