



**UNIVERSIDAD MICHUACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**Facultad de Químico  
Farmacobiología**

**Efecto del 1-metilciclopropeno sobre la actividad de  
la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa,  
poligalacturonasa y la acumulación de dienos y  
trienos de *Persea americana* Mill. var. 'Hass'**

**T E S I S**

para obtener el grado de:

**Químico Farmacobiólogo**

Presenta:

**Daniel Soto Rangel**

Asesor:

**D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco**

Morelia, Michoacán, Noviembre 2010





## DEDICATORIA

### A DIOS

*Que me da la oportunidad de despertar cada mañana y tener a mi lado a las personas que amo.*

### A MIS PADRES

*Que son el pilar de mi crecimiento como ser humano.*

*Catalina Rangel Román, por enseñarme a ser dedicado, constante y responsable; por el apoyo moral y espiritual a lo largo de toda mi vida. Gracias.*

*José Guadalupe Soto Valencia, por ser el mejor ejemplo de vida y tu incesante interés por la superación, por tu valioso apoyo moral y económico para realización de esta etapa de mi vida. Gracias.*

### A MI ABUELA

*Rosalina Valencia Ochoa, por brindarme su incesante apoyo moral y económico.*

### A MI HERMANO

*Uriel Alejandro, por ser un ejemplo de valentía, capacidad y superación.*

### A MI SOBRINO

*Kevin Alejandro, por darle esperanza y fe a mi vida.*

*“No estudio por saber más, sino por ignorar menos”*

*Sor Juana Inés de la Cruz*





## AGRADECIMIENTOS

### INSTITUCIONALES

*A la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por darme las herramientas necesarias en mi formación profesional.*

*Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas por brindarme la oportunidad y los medios para realizar este trabajo, culminar una etapa de mi formación profesional y despertar en mí el interés por la investigación.*

### PERSONALES

*Al D.C Mauro Manuel Martínez Pacheco por considerarme parte de su equipo de trabajo, por su paciencia, dirección y asesoría. Por motivar en mí el interés en este mundo apasionante de la investigación.*

*Al M.C. Alberto García Flores por su valioso apoyo en los análisis estadísticos y al M.C. César Bonifacio Ramírez López por la revisión minuciosa de este trabajo, pero sobre todo por lo amistad de ambos.*

*A mis amigos incondicionales: Marlen, Santa Teresita, Omar, Julio César y Jorge Arturo.*

*A mis compañeros y amigos de laboratorio: D.C. David, M.C. María Eugenia, M.C. Alejandra, M.C. Edgar, QFB José Luis, QFB Rosa María, QFB Teresa, QFB Luz María, QFB Mateo, IBQ Claudia Adriana, Teresita, Yaremi, Claudia Esmeralda, Eduardo, Maura, Erandy, Ixchel, Sergio Pablo, Arturo, Nalleli, César Dennis, María de los Ángeles, Anahí, José Luis y Jesús.*

*A Mariana Elizabeth con amor.*





## RESUMEN

El fruto de aguacate (*Persea americana* Mill.) cultivar 'Hass' es un fruto de gran demanda a nivel mundial por su valor nutritivo. Las pérdidas durante su transporte, almacenamiento y distribución limitan la exportación del fruto. Se postula que la pectinmetilesterasa (PME), poligalacturonasa (PG),  $\alpha$ - y  $\beta$ -galactosidasa ( $\alpha$ -Gal y  $\beta$ -Gal) son algunas enzimas hidrolíticas responsables del proceso de maduración, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), los compuestos antifúngicos como los dienos y trienos son relacionados directamente con el proceso de defensa del fruto ante agentes patógenos bióticos. La producción de etileno en aguacate, al igual que en otros frutos climatéricos como plátano, mango y papaya, estimula la expresión y acumulación de estos compuestos, que modifican componentes de la pared celular, provocando un rápido ablandamiento del fruto y la pérdida de su firmeza, lo cual tiene un efecto determinante sobre la calidad y la vida de anaquel del fruto. El 1- metilciclopropeno (1-MCP), es un gas inocuo que inhibe la acción del etileno, de tal manera que su aplicación en frutos climatéricos se ha considerado como una alternativa biotecnológica para el retraso de su maduración y prolongación de su vida postcosecha. En el presente trabajo se evaluó el efecto del 1-MCP sobre la actividad de la G6PDH, PG, acumulación de dienos y trienos los cuales participan en la maduración y defensa contra patógenos de aguacate cultivar 'Hass'. Frutos cosechados en estado verde fueron tratados con 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP y almacenados en cámara de frío a  $5 \pm 1$  °C y un porcentaje de humedad relativa de  $85 \pm 5$  durante 22 días. Se determinó la actividad de la G6PDH, PG, la concentración de dienos y trienos. La aplicación de 1-MCP disminuyó significativamente la actividad de las enzimas, también redujo la acumulación de dienos y trienos en comparación con los frutos control. El 1-MCP disminuye la actividad de la hidrolasa de pared celular y de la deshidrogenasa así como la concentración de dienos y trienos retardando así la maduración del fruto de aguacate y alargando su vida poscosecha.





## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES.....	3
	i. Descripción del fruto.....	3
	ii. Producción y distribución nacional.....	4
	iii. Proceso y maduración del aguacate.....	6
	iv. Ablandamiento del fruto y composición de la pared celular.....	7
	v. Respiración del fruto de aguacate.....	11
	vi. Efecto del etileno sobre la maduración.....	12
	vii. Desórdenes fisiológicos.....	15
	viii. Compuestos inhibidores de la acción del etileno.....	22
	ix. 1-metilciclopropeno.....	23
III.	JUSTIFICACIÓN.....	27
IV.	HIPÓTESIS.....	27
V.	OBJETIVOS.....	27
	i. Objetivo general.....	27
	ii. Objetivos particulares.....	27
VI.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	28





i.	Estrategia experimental.....	28
ii.	Material biológico.....	29
iii.	Tratamientos con 1-MCP y diseño experimental.....	29
iv.	Aplicación del 1-MCP.....	30
v.	Almacenamiento y maduración.....	31
vi.	Mediciones después del almacenamiento.....	31
	a) Determinación de la actividad de la PG.....	31
	i. Obtención de la pulpa.....	31
	ii. Preparación del extracto libre de células.....	32
	iii. Actividad de la PG.....	32
	b) Determinación de la actividad de la G6PDH.....	32
	i. Obtención de la pulpa.....	33
	ii. Liofilización de las muestras.....	34
	iii. Preparación del extracto del extracto de G6PDH.....	34
	iv. Preparación de la curva de calibración por el Método de Lowry.....	35
	v. Actividad de la G6PDH.....	37
	c) Extracción y cuantificación de dienos y trienos.....	38
vii.	Análisis estadístico.....	39



---

VII.	RESULTADOS.....	40
i.	Cuantificación de la proteína.....	40
ii.	Actividad de la G6PDH.....	43
iii.	Actividad de la PG.....	47
iv.	Efecto del 1-MCP sobre la concentración de dienos y trienos....	49
VIII.	DISCUSIÓN.....	50
IX.	CONCLUSIÓN.....	52
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	53





## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Anatomía del fruto.....	3
2. Estados productores de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill. cv. 'Hass') en México.....	4
3. Municipios productores de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill. cv. 'Hass') en el estado de Michoacán.....	5
4. Maduración del fruto de aguacate.....	6
5. Estructura química de la pectina y enzimas que participan en su degradación.....	8
6. Estructura química de la celulosa y su unión mediante enlaces $\beta$ -1,4 y puentes de hidrógeno.....	8
7. Cambios ocurridos en la pared celular durante el ablandamiento del fruto de aguacate.....	9
8. Estructura química de la lignina.....	10
9. Reacción general del proceso de respiración.....	11
10. Figura ilustrativa de aguacates en condiciones idóneas de exportación.....	12
11. Síntesis de etileno.....	13
12. Enfermedades del aguacate.....	14
13. Decoloración del mesocarpio.....	15
14. Aspecto del mesocarpio de aguacate.....	16



15. Mecanismo propuesto para la oxidación enzimática de o-difenoles y monofenoles, mediante la participación de la enzima PPO.....	18
16. Reacciones de evolución de las o-quinonas producidas por la tirosina o polifenol oxidasa.....	18
17. Reacción de la respiración anaeróbica.....	19
18. Diagrama de cintas de ACC sintetasa monoméricas.....	20
19. Modelo helicoidal del etileno en relación a la proteína ERT1.....	21
20. Mecanismo de acción del etileno y su receptor.....	22
21. Estructura química del 1-MCP.....	23
22. Efecto del 1-MCP en aguacate Hass.....	24
23. Estrategia experimental.....	28
24. División anatómica del fruto.....	33
25. División anatómica de las partes internas del fruto.....	33
26. Preparación del extracto de G6PDH.....	35
27. Curva de calibración de albúmina sérica.....	37
28. Reacción de la vía de las pentosas fosfato.....	38
29. Curso temporal del contenido proteico en frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' después del almacenamiento en frío.....	41



30. Contenido proteico de frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' por parte anatómica después del almacenamiento en frío.....	42
31. Comportamiento de la G6FDH por curso temporal de frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' después del almacenamiento en frío.....	44
32. Comportamiento de la G6FDH de frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' por parte anatómica después del almacenamiento en frío.....	45
33. Efecto del 1-MCP sobre la G6PDH en frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' a las 72 horas en anaquel a 22 °C.	46
34. Efecto del 1-MCP en la actividad de la PG de frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C.....	47
35. Curso temporal de poligalacturonasa de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C tratados con 1-MCP, utilizando como sustrato ácido poligalacturónico.....	48
36. Cuantificación de azúcares reductores con ácido poligalacturónico.....	48
37. Efecto del 1-MCP en la acumulación de dienos y trienos de frutos de aguacate ( <i>P. americana</i> Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C ...	49

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Valores de concentración de albúmina sérica bovina para realizar la curva de calibración.....	36
---	----





## ABREVIATURAS

<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>1-MCP</b>	1-metilciclopropeno
<b>A.C.</b>	Asociación Civil
<b>ACC</b>	Ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxilo
<b>Ado Met</b>	Adenosil metionina
<b>ADP</b>	Adenosín monofosfato
<b>AM</b>	Atmósfera controlada
<b>APEAM</b>	Asociación Productora Exportadora de Aguacate de Michoacán
<b>Asp</b>	Asparagina
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>c.v.</b>	Cultivar
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	Ión calcio
<b>CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub></b>	Etileno
<b>CH<sub>3</sub></b>	Metilo
<b>CI</b>	Daño por frío
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>CTR1</b>	Copper transporter 1
<b>Cys</b>	Cisteína
<b>DACP</b>	Diazociclopentadieno
<b>EC.</b>	Ecuación
<b>EE.UU.</b>	Estados Unidos de Norteamérica
<b>EIN2</b>	Ethylene insensitive 2



<b>EIN3</b>	Ethylene insensitive 3
<b>et al.</b>	y otros
<b>ETR1</b>	Ethylene response 1
<b>g</b>	Gramos
<b>G6P</b>	Glucosa-6-fosfato
<b>G6PDH</b>	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
<b>h</b>	Horas
<b>ha</b>	Hectáreas
<b>His</b>	Histidina
<b>HR</b>	Humedad relativa
<b>L</b>	Litros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>NBD</b>	2,5-norbonadieno
<b>nL</b>	Nanolitros
<b>P</b>	Fosfato
<b>PG</b>	Poligalacturonasa
<b>PME</b>	Pectinmetilesterasa
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PPO</b>	Polifenol oxidasa
<b>ssp</b>	Especie
<b>Temp.</b>	Temperatura
<b>ton</b>	Toneladas
<b>V</b>	Volts



## I. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass' es un fruto que se caracteriza por su carne nutritiva, contiene un excepcional contenido de aceite insaturado (20 a 30 % en peso fresco) y es el único fruto de semilla grande (Biale y Young, 1971; Davenport y Ellis, 1959; Whiley y Schaffer, 1994; Wolstenholme, 1986). Es una baya que deriva de un gineceo unicarpelar y que contiene una sola semilla. El pericarpio consiste de tres capas (**figura 1**): el exocarpio que comprende la cáscara, el mesocarpio pulposo que es la porción comestible de la fruta y una capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla que corresponde al endocarpio (Cummings y Schroeder, 1942).

Las condiciones agroambientales prevalecientes en la región productora de aguacate de Michoacán propician el desarrollo del árbol y la obtención de fruto en prácticamente todo el año, así como un traslape continuo de las diferentes fases fenológicas del árbol, ello principalmente determinado por el estrato altitudinal así como el arreglo topológico de las plantaciones con respecto a su exposición al sol, la pendiente y la dirección prevaleciente del viento (Anguiano *et al.*, 2007).

Pueden ser identificados cuatro tipos de climas a lo largo del cinturón aguacatero: a) semi-cálido húmedo con altas lluvias en verano, b) semi-cálido semi-húmedo con lluvias en verano, c) templado húmedo con altas lluvias en verano y d) templado sub-húmedo con altas lluvias en verano (Aguilera y Salazar, 1991). Estas condiciones han propiciado un gran avance del aguacate con un desplazamiento de áreas de vocación forestal en el 20 % de la superficie, cifra que plasma el crecimiento que ha tenido la franja aguacatera en perjuicio de los recursos naturales de la región. Existen ocho tipos de suelos en este cinturón (FAO, 2007), los más importantes son: andosol, regosol, litosol y luvisol (INEGI 1985). El 86 % de la región aguacatera lo comprende el tipo andosol (Anguiano *et al.*, 2007).



Las densidades de siembra en los huertos de aguacate cubren un amplio rango de 69 a 204 árboles·ha<sup>-1</sup>, lo que pone de manifiesto el hacinamiento de árboles. El sistema de riego se lleva a cabo llenando las cuencas con diques alrededor de los árboles durante los meses de Noviembre a Mayo (Aguilera y Salazar, 1991).

La presencia de plagas están ligadas directamente a factores climáticos como precipitación, humedad relativa, temperatura y a la fenología del cultivo (Anguiano *et al.*, 2007). El control de plagas y enfermedades requieren de un 15 a 38 % de la inversión para la gestión de los huertos. Aguilera y Salazar, 1991, reportan que dentro de las principales plagas se encuentra la araña roja (*Olygonychus* spp) y thrips (*Heliiothrips* spp) y las enfermedades poscosecha de origen biótico que con mayor frecuencia se presentan en frutos de aguacate son la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y la pudrición de pedúnculo o *stem-end rot* (*Phomopsis viticola*). Son frecuentes también desordenes fisiológicos asociados a la sensibilidad del fruto de aguacate al frío y al etileno (Ochoa, 2007).

La mayor cantidad del fruto se digiere en el mercado nacional. Menos del 5 % se exporta principalmente a Canadá, Europa y Japón. Los estándares actuales de productividad se encuentran en un promedio de 9.8 toneladas de fruto por hectárea y alrededor de un 26 % en la calidad para los mercados foráneos internacionales de Estados Unidos de Norteamérica, Japón, Europa y Canadá (Anguiano *et al.*, 2007, APEAM, 2008).

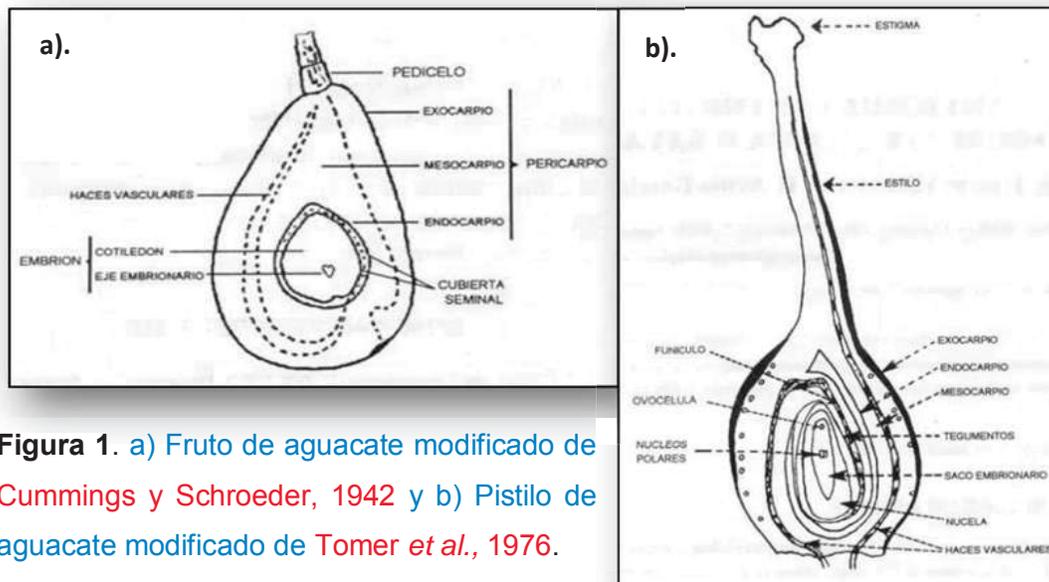




## II. ANTECEDENTES

### i. DESCRIPCIÓN DEL FRUTO.

El fruto del aguacate ha sido considerado por algunos autores como una drupa (Ruiz, 1912; Cañizares, 1973). De acuerdo con Roth (1977) el fruto del aguacatero algunas veces es incorrectamente llamado drupa. Esto es debido a que en la envoltura de la semilla se encuentra un estrato de esclerénquima que se confunde frecuentemente con el endocarpio y que corresponde a la testa, por lo que el aguacate es una baya monosperma. Por otra parte, Schroeder (1985) indicó que algunos investigadores han interpretado la morfología del fruto de aguacate como una drupa; sin embargo, la naturaleza frágil del endocarpio y el hecho de que el fruto sigue una curva de crecimiento simple sigmoide (Schroeder, 1953 y 1958; Blumenfeld y Gazit, 1974) y no la doble sigmoide común de las drupas, sugieren que el aguacate debe ser considerado como una baya. En la **figura 1** se representan las diferentes partes del fruto, así como un esquema de un pistilo para poder entender más sobre el origen de las diferentes partes del fruto.



**Figura 1.** a) Fruto de aguacate modificado de Cummings y Schroeder, 1942 y b) Pistilo de aguacate modificado de Tomer *et al.*, 1976.



## ii. PRODUCCIÓN Y DISTRIBUCIÓN NACIONAL.

En México se cultiva 94, 904 ha de aguacate siendo el estado de Michoacán el principal productor con 82.7 % del total de la superficie; le siguen en menor escala los estados de Nayarit, Puebla, Morelos y Estado de México (SIACON, 2010). Durante las dos últimas décadas el cultivo de aguacate 'Hass' en el estado de Michoacán, primer productor a escala mundial del fruto antes mencionado, ha experimentado un espectacular crecimiento en los grandes volúmenes de producción, comercialización e industrialización (Ortega, 2003).

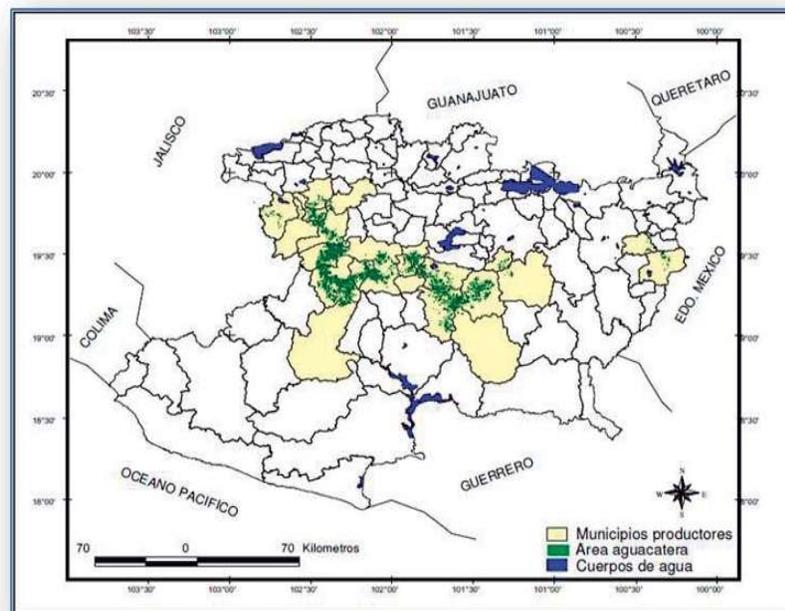
Existen 27 estados que producen aguacate en México. Los estados productores son Yucatán, Campeche, Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Jalisco, Hidalgo, Guanajuato, Tamaulipas y Nuevo León, siendo los principales: Nayarit, Estado de México, Morelos y Puebla; destacando con un mayor porcentaje en producción de aguacate el estado de Michoacán, tal y como logra apreciarse en la figura 2.



**Figura 2.** Estados productores de Aguacate (*Persea americana* Mill. cv. 'Hass') en México. Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de Michoacán A.C., 2008.



En la **figura 3** se observa que el aguacate se cultiva en una zona geográfica limitada que cruza el estado de Michoacán de oeste a este. Este cinturón está situado en 1 300 a 2 300 metros sobre el nivel del mar. El área de superficie plantada con aguacate es de aproximadamente 80 000 ha, la mayor región productora de aguacate en el mundo. El setenta por ciento de la superficie sembrada de aguacate se cultiva bajo sistema de riego. La temporada de cosecha es de septiembre a febrero y el rendimiento promedio es de 7 ton·ha<sup>-1</sup> (Aguilera y Salazar, 1991).



**Figura 3.** Municipios productores de Aguacate (*Persea americana* Mill. cv. 'Hass') en el estado de Michoacán. Programa de Levantamiento y Verificación de Productores, Predios y Lotes del Cultivo del Aguacate en Michoacán, 2003-2005.

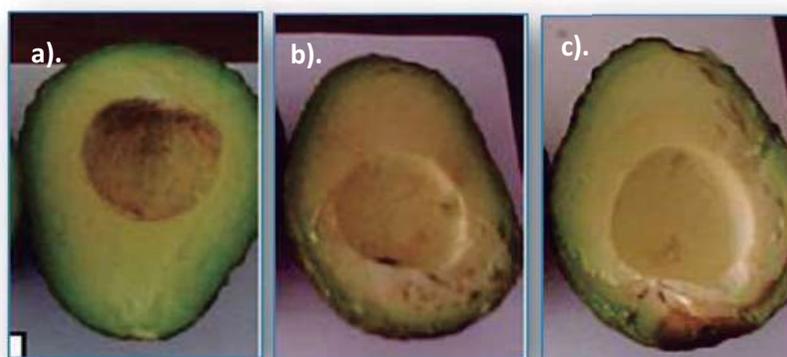
En Michoacán hay 25 municipios con plantaciones de aguacate, de los cuales tres tienen hasta 50 ha, estos son: Tangancícuaro, Hidalgo y Chilchota; de 51 a 750 ha están Acuitzio, Cotija, Apatzingán, Taretan, Madero, Tuxpan y Tocumbo; menos de 751 a 1,450 ha se encuentran Ziracuaretiro, Zitácuaro,



Turicato y Tangamandapio; de 2,000 a 6,000 ha, lo representan Salvador Escalante, Nuevo Parangaricutiro, Tingüindín y Tingambato; y los municipios con mayor área son Tancítaro, Uruapan, Tacámbaro, Ario y Peribán, con superficies de 7,000 a más de 18,000 hectáreas (Programa de Levantamiento y Verificación de Productores, Predios y Lotes del Cultivo del Aguacate en Michoacán, 2003-2005). Uruapan, Peribán y Tacámbaro contribuyen con el 86.5 % del total de la producción del estado (Anguiano *et al.*, 2007).

### iii. PROCESO DE MADURACIÓN DEL AGUACATE.

Los frutos carnosos son una parte esencial de la dieta humana proporcionando las vitaminas esenciales, minerales y otros compuestos que promueven la salud. La textura de la fruta madura tiene un efecto significativo sobre la calidad e influye en la aceptación del consumidor, la vida útil, la resistencia y la transportabilidad de los frutos (Seymour *et al.*, 2002). El desarrollo de nuevas tecnologías para mejorar la textura y la vida útil de frutos depende de la comprensión de la base biológica y de la maduración del fruto así como el ablandamiento excesivo que es el principal factor que limita la vida útil y almacenamiento de los frutos (Brummell y Harspter, 2001).



**Figura 4.** Maduración del fruto de aguacate. a) Inicio del almacenamiento, b) 12 días expuesto a condiciones ambientales ( $22 \pm 2$  °C;  $75 \pm 10$  % HR) y c) 6 días en refrigeración ( $6 \pm 0.5$  °C;  $90 \pm 5$  % HR) + 9 días en condiciones ambientales (Osuna *et al.*, 2005).



La modificación de la pared celular, se cree que es la base de los cambios en la firmeza y la textura durante la maduración de los frutos (**figura 4**). Las pectinas (Fischer y Bennett, 1991) y hemicelulasos (Wakabayashi, 2000) relacionadas con la pared celular sufren solubilización y despolimerización (Brummell *et al.*, 2004), la cual ocasiona la pérdida de la pared celular (Hiwasa *et al.*, 2004) y trae como consecuencia el ablandamiento de los frutos.

El fruto de aguacate madura sólo después que ha sido cosechado y muestra una rápida transición de una consistencia dura a una suave. Este cambio está íntimamente relacionado con la actividad de las enzimas degradadoras de la pared celular (Awad y Young, 1980) siendo la pectinmetilesterasa (PME) la responsable de la desesterificación de pectina requerida, antes la poligalacturonasa inicia la despolimerización de pectinas asociados con el ablandamiento de los frutos (Jansen *et al.*, 1945). La actividad de la PME de aguacate se ve rápidamente disminuida después de la cosecha del fruto (Barmore *et al.*, 1976, Gertman *et al.*, 1974, Zauberman *et al.*, 1972).

#### **iv. ABLANDAMIENTO DEL FRUTO Y COMPOSICIÓN DE LA PARED CELULAR.**

El ablandamiento es el cambio más característico de la maduración con cambios en la composición y estructura de las paredes y membranas celulares. Las pectinas son removidas de la pared hasta que la laminilla media desaparece después del climaterio (Platt-Aloia *et al.*, 1980; Dallman *et al.*, 1989).

La pared celular es una capa adicional que las plantas tienen fuera de la membrana la cual delimita cada célula. La pared da la rigidez de la célula vegetal y las funciones de apoyo, dicha estructura funciona como una protección contra el ataque de patógenos (Hall *et al.*, 1974). En general, las paredes celulares de las plantas se componen principalmente de cuatro estructuras poliméricas que se identifican por su solubilidad: pectinas que son solubles en agua y álcali diluido,





hemicelulosas que se puede solubilizar con álcali concentrado, celulosa y lignina, que son insolubles en álcali (Northcote, 1963)..

Las pectinas están formadas por largas cadenas de ácido galacturónico, arabinosa, galactosa como se aprecia en la **figura 5**; mientras que las hemicelulosas son polímeros de xilosa, azúcares arabinosa, ramnosa entre otros. Por otra parte, la celulosa está compuesta por largas cadenas de monómeros de glucosa unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,4 (van Duren, 1979), **figura 6**. La lignina es una sustancia muy compleja, no se encuentran comúnmente en los frutos; en la **figura 8** se aprecia su estructura química.

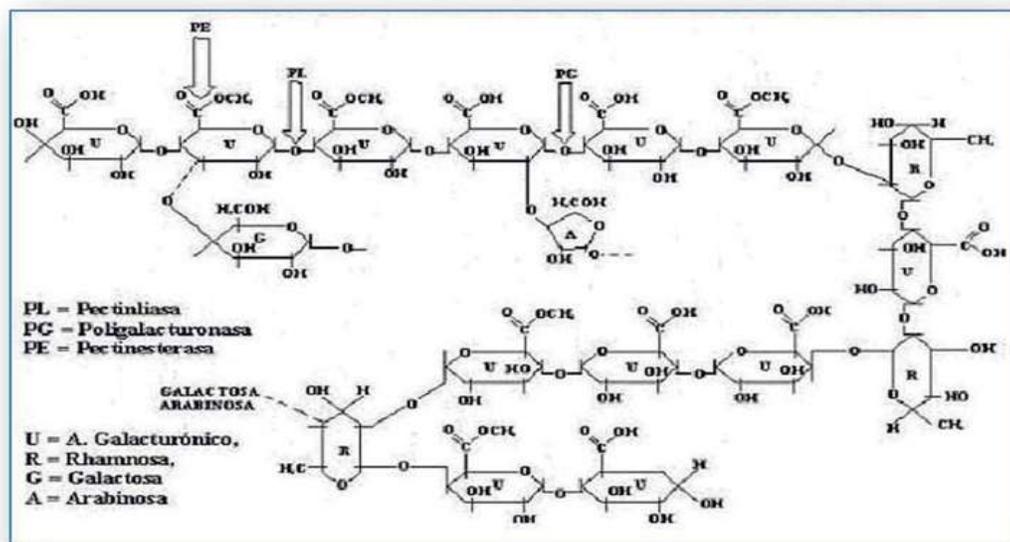


Figura 5. Estructura química de la pectina y enzimas que participan en su degradación.

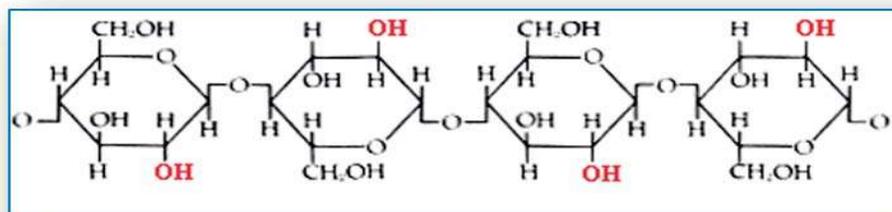
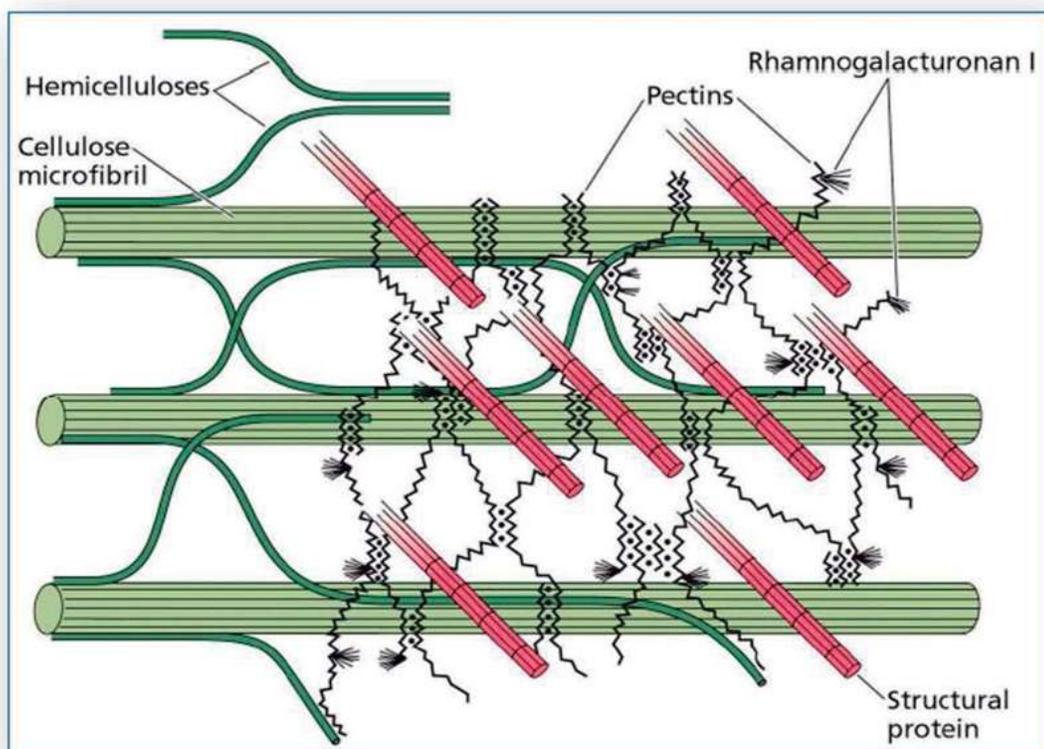


Figura 6. Estructura química de la celulosa y su unión mediante enlaces  $\beta$ -1,4 y puentes de hidrógeno.

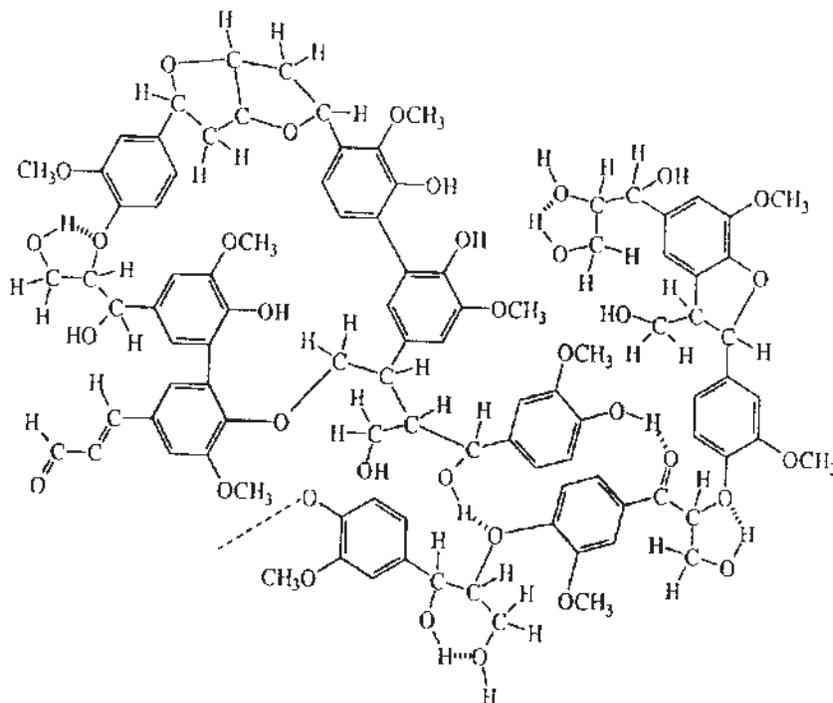


Awad y Young, 1979 encontraron que la poligalacturonasa, la enzima que hidroliza parcialmente la pectina en ácido galacturónico, es muy activa durante la última parte del proceso de maduración, tal y como se observa en la figura 6. La actividad de otra enzima la carboximetilcelulosa (celulasas) muestra una ligera actividad en aguacates recién cosechados, aumenta notablemente al igual que el ablandamiento progresa y alcanza la mayor actividad observada por una celulasa de la planta en la etapa más madura del fruto (Young *et al.*, 1981).

En la siguiente figura se representan los cambios ocurridos en la pared celular durante el proceso de maduración de los frutos de aguacate (Pesis *et al.* 2009).



**Figura 7.** Cambios ocurridos en la pared celular durante el ablandamiento del fruto de aguacate. PLANT PHYSIOLOGY. Third Edition, Figure 15.4 © 2002 Sinauer Associates, Inc.



**Figura 8.** Estructura química de la lignina.

<http://www.ugr.es/~quiored/qoamb/Lignina.gif>

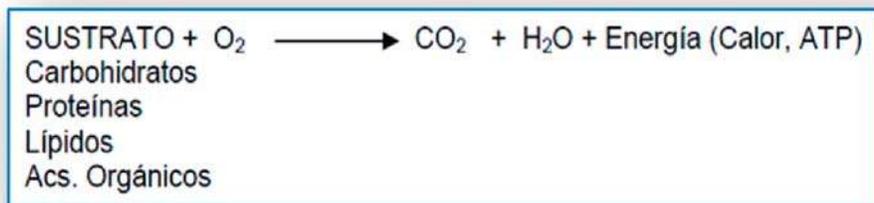
En tomate, hay un desorden fisiológico conocido como "manchas del fruto", que se ha relacionado con alteraciones en el metabolismo de la pared celular (Hobson, 1963). Algunas áreas dentro del fruto no suavizan normalmente trayendo como resultado partes duras en el fruto maduro. Esta reducción en la calidad del fruto a menudo resulta ser un rechazo del producto en el mercado. Un trastorno similar ha sido reportado en el fruto de aguacate. A fin de reducir éstas anomalías debemos aprender más acerca de los cambios de la pared celular que tienen lugar durante el proceso de ablandamiento normal (Oppenheimer, 1960).





## v. RESPIRACIÓN DEL FRUTO DE AGUACATE.

La respiración es uno de los procesos básicos de la vida, ya que por medio de ella los organismos vivos convierten la materia en energía para vivir; la actividad respiratoria involucra la oxidación enzimática de compuestos orgánicos en las células, principalmente azúcares, pero también de ácidos orgánicos, proteínas y lípidos (Bosquez, 1992a), como se representa en la **figura 9**. Los frutos llevan a cabo este proceso fisiológico aún después de haber sido separados de las plantas que les dieron origen (Bosquez, 1992b).



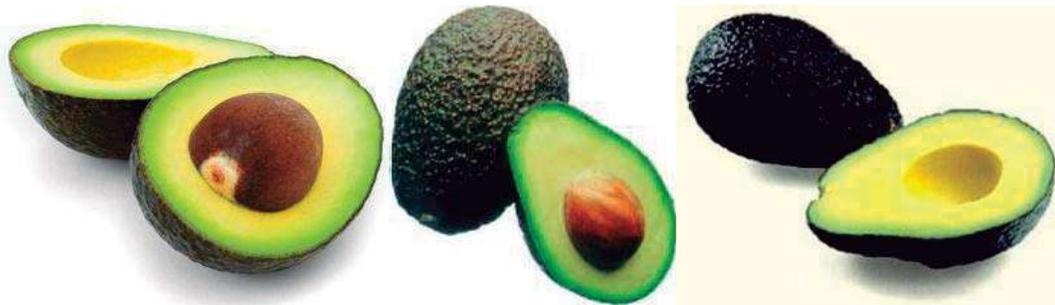
**Figura 9.** Reacción general del proceso de respiración.

El fruto de aguacate se caracteriza por una alta tasa de respiración durante el crecimiento y también durante la maduración post-cosecha (Blanke y Whiley, 1995; Bower y Cutting, 1988; Whiley et al., 1992). Los carbohidratos de reserva son un fuente de energía para las vías respiratorias del fruto durante los procesos de almacenamiento y maduración (Kozlowski, 1992). El principal sustrato para la respiración lo constituyen azúcares provenientes del almidón (Blanke, 1991) degradado por las enzimas  $\alpha$ - y  $\beta$ -amilasa (Pesis et al., 1978), aunque también se degradan ácidos grasos por  $\beta$ -oxidación. La variación de las temperaturas de almacenamiento puede dar lugar a diferentes cambios en el almacenamiento y uso de los hidratos de carbono y afectar la calidad de la fruta (Eaks, 1990; Luza et al., 1990; Spalding, 1976).





A 15 °C el aguacate cv. 'Hass' inicia el climaterio 13 días después de la cosecha. Sin embargo a 25 °C o más existe una maduración irregular en los frutos con un rápido ablandamiento; se producen depresiones en la pulpa, se desarrollan olores y sabores extraños y se incrementa la incidencia de hongos fitopatógenos oportunistas que deterioran la fruta (Lee y Young, 1984) y por encima de 40 °C se inhibe la maduración (Eaks, 1978).



**Figura 10.** Figura ilustrativa de aguacates en condiciones idóneas de exportación

La respiración está influenciada fuertemente por los niveles de oxígeno y dióxido de carbono en el ambiente. Niveles de oxígeno por debajo del 10% retrasan el inicio del climaterio y reducen la tasa máxima respiratoria (Baile, 1946). Niveles de dióxido de carbono de hasta 5%, producen un retraso corto del inicio del climaterio pero un retraso notable del clímax, con una fuerte disminución de la tasa respiratoria (Young *et al.*, 1962).

#### vi. EFECTO DEL ETILENO SOBRE LA MADURACIÓN.

El etileno es una hormona vegetal que controla muchas de las respuestas de las plantas: el crecimiento, la senescencia, la maduración, abscisión y la germinación de las semillas (Abeles *et al.*, 1992). La hormona es un producto natural del metabolismo de las plantas y responde a etileno exógeno y endógeno (Abeles *et al.*, 1992). Las respuestas de etileno pueden ser controladas por la





regulación de su producción o la acción y el conocer la ruta de su síntesis, como se observa en la **figura 11**, permite controlar o acelerar el proceso.

La importancia del etileno en la maduración del aguacate ha sido establecida claramente y es el tema de diversas investigaciones en fisiología postcosecha (Ochoa, 2008). El aguacate es un fruto climatérico que se caracteriza por un aumento de la producción de etileno en el inicio de la maduración. El aumento en la producción de etileno en el climaterio es asociado con la pronta madurez. El aguacate es uno de los frutos que maduran rápidamente completando su maduración a los 5 días posteriores de su cosecha (Seymour y Tucker, 1993). Los niveles de etileno se pueden acumular dramáticamente durante este proceso hasta alcanzar 70 ppm (Burg y Burg, 1965a).

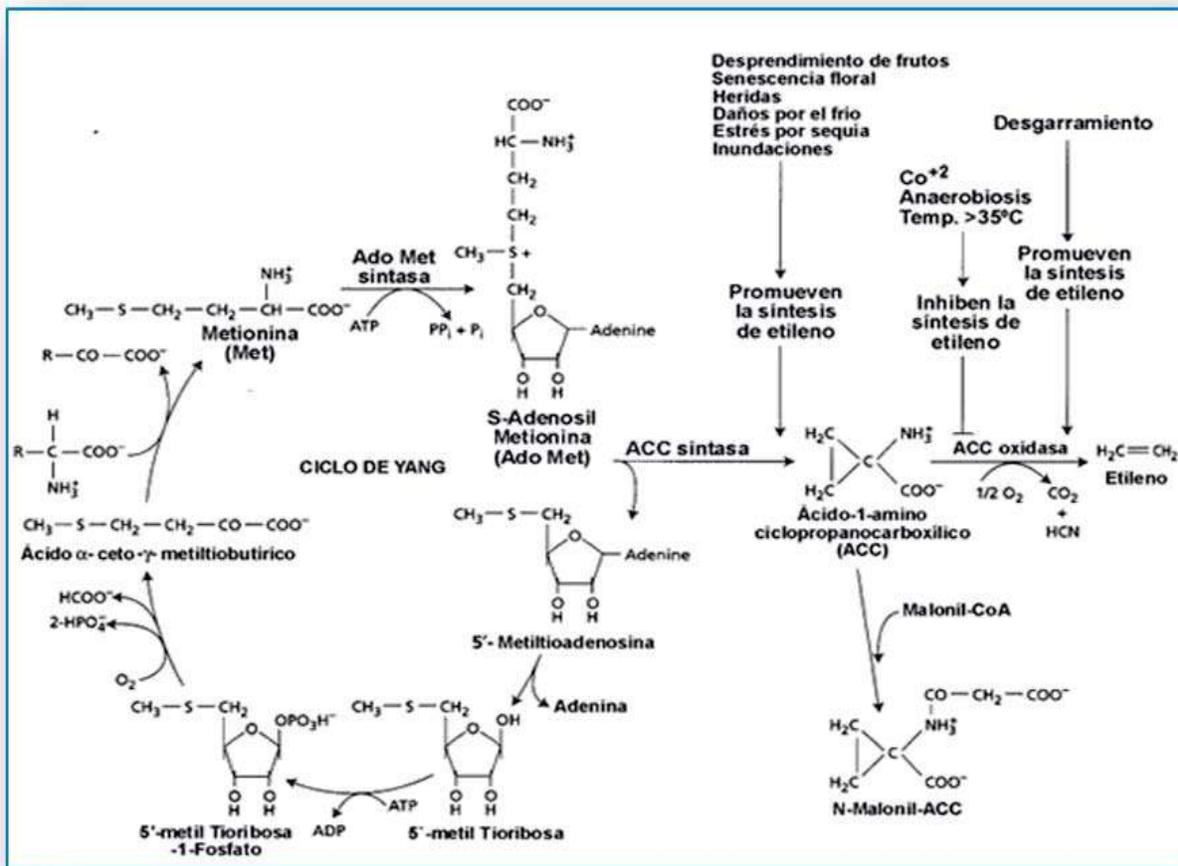
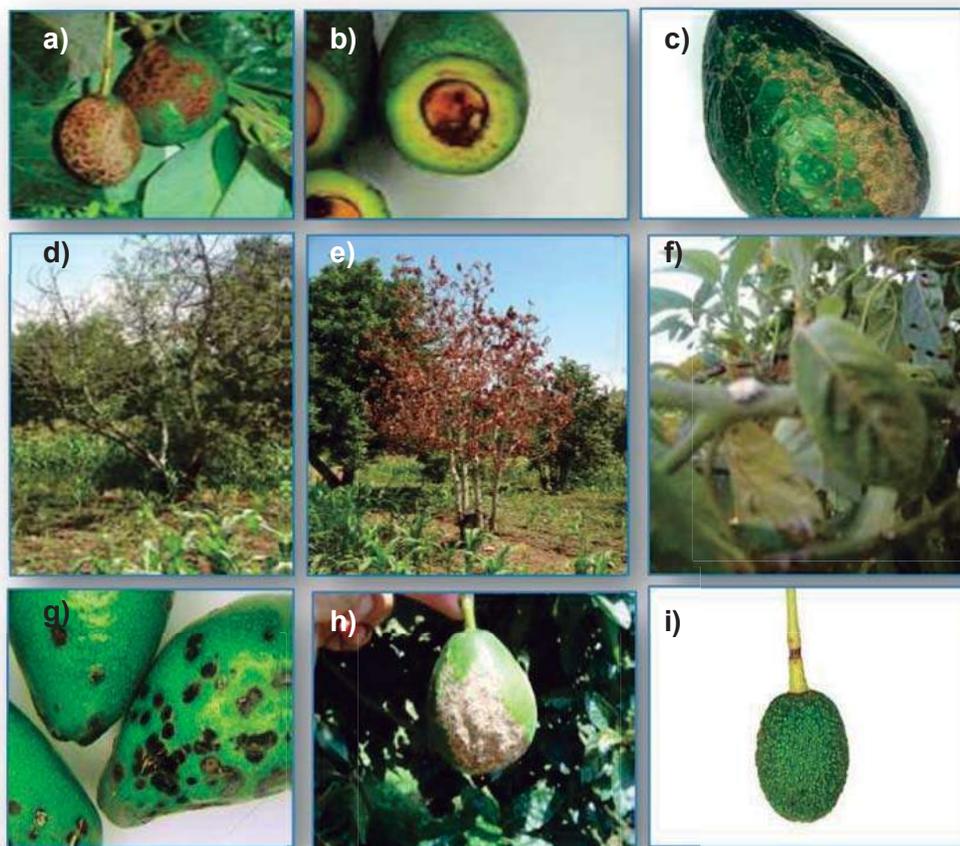


Figura 11. Síntesis de etileno.



El aguacate maduro no sufre reblandecimiento en el árbol, pero si después de la cosecha. Una de las posibles explicaciones de este fenómeno es que mientras el fruto está aún en el árbol recibe algunos de los factores de éste que impiden su maduración (Burg y Burg, 1965b; Hansen y Blanpied, 1968). Niveles altos de etileno en frutos de aguacate durante el almacenamiento en frío o en el tránsito a mercados internacionales pueden disparar una reacción en cadena, causando una maduración prematura de toda la carga, ocasionando severos deterioros de la calidad y predisponiendo a los frutos a desórdenes fisiológicos y a la presencia de patógenos postcosecha (Hartill y Everett, 2002).



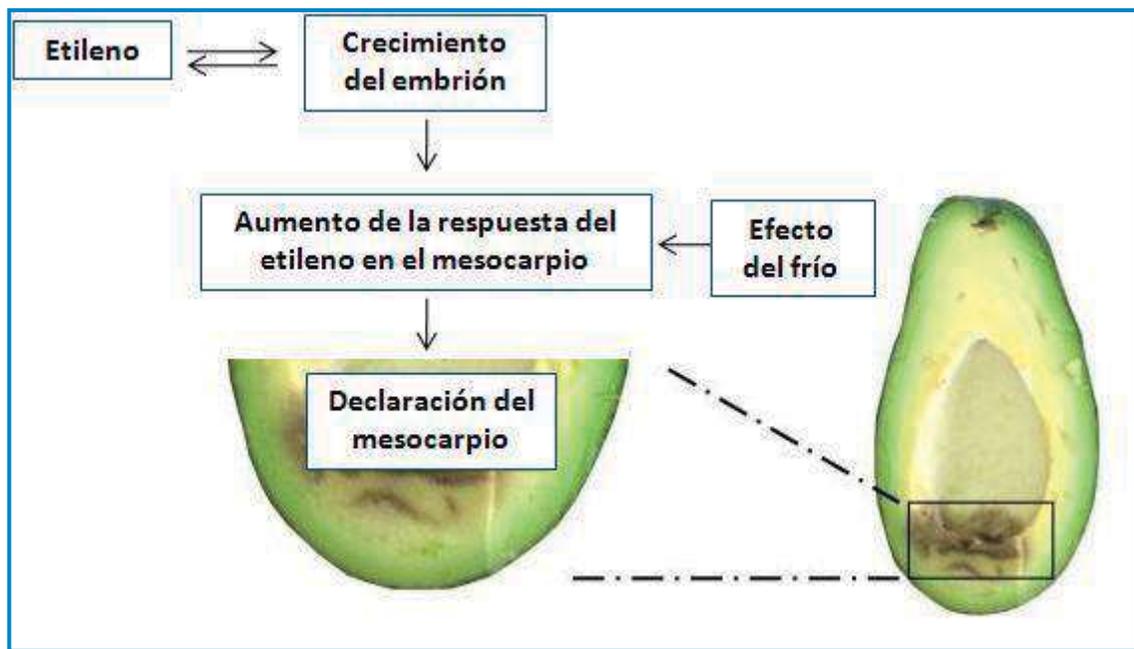
**Figura 12.** Enfermedades y plagas del aguacate. a) Roña o sarna ocasionado por *Sphaceloma sp*, b) Barrenador pequeño del hueso, c) Daño ocasionado por Trips, d) Tristeza del aguacatero, e) Marchitamiento por *Verticillum*, f) Síntomas de cáncer en ramas, g) Daño por antracnosis, h) Daños por roña e i) Anillamiento del pedúnculo.





## vii. DESÓRDENES FISIOLÓGICOS.

Los síntomas causados por el daño por frío (CI) como el oscurecimiento del mesocarpio durante el almacenamiento del fruto de aguacate (Chaplin *et al.*, 1982, Bower *et al.*, 1989; Cutting *et al.*, 1990) y el pardeamiento de la pulpa son las causas principales de las pérdidas de exportaciones de cada año (van Lelyveld y Bower, 1984). En la siguiente imagen se observa la decoloración del mesocarpio.



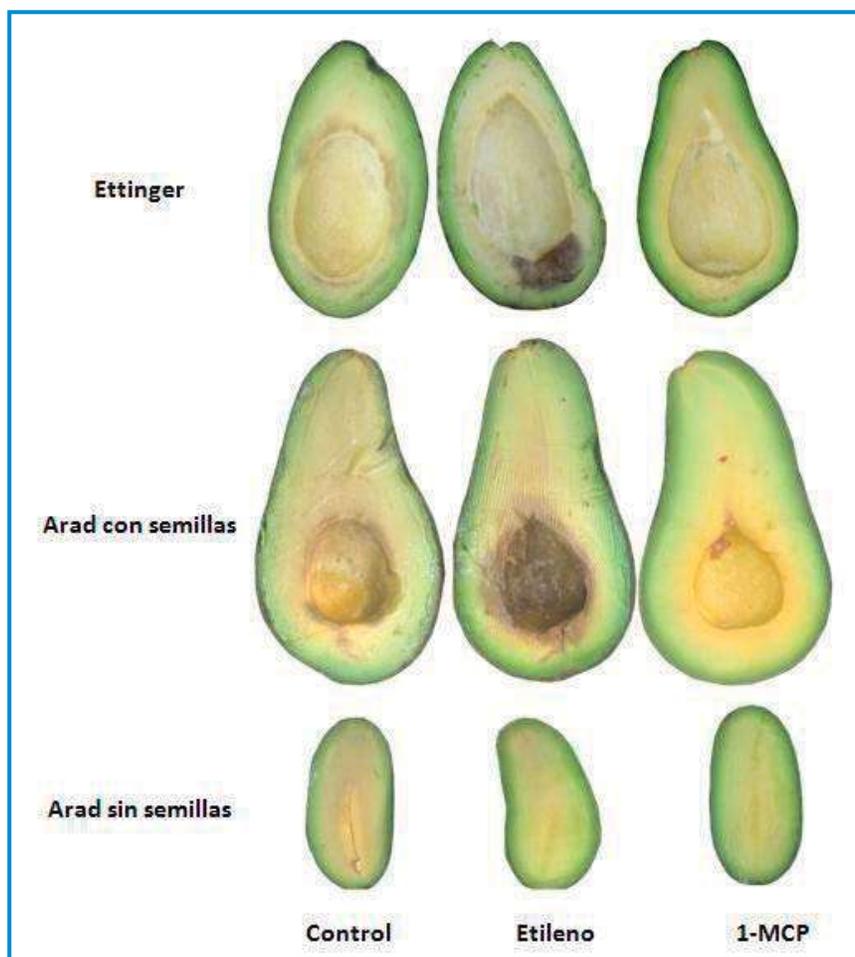
**Figura 13.** Modelo de trabajo de Pesis *et al.*, 2009 que describe los efectos interactivos del etileno, el frío y el crecimiento en la decoloración mesocarpio en el fruto de aguacate. Las flechas continuas corresponden a la interacción directa y la línea de puntos indica la evidencia indirecta.

El fenómeno de pardeamiento de los frutos y vegetales durante el crecimiento, recogida, almacenamiento y procesado, es un problema de primera magnitud en la industria alimentaria y se reconoce como una de las principales causas de pérdidas de calidad y valor comercial.





El pardeamiento del aguacate produce cambios importantes tanto en la apariencia (colores oscuros como se aprecia en la **figura 14**) así como en las propiedades organolépticas (sabor, textura) de vegetales comestibles (Mayer, 1987), y además suele ir asociado al desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional (Amiot et al., 1992; Chen et al., 2000).



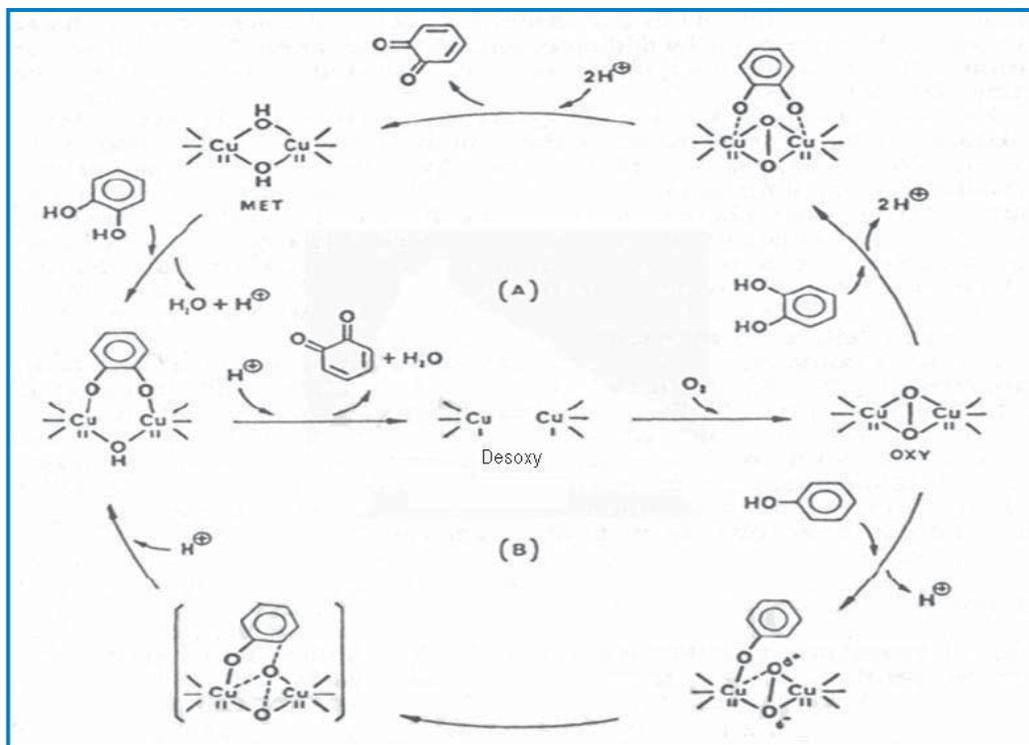
**Figura 14.** Aspecto del mesocarpio del aguacate. Cultivares: sin semillas, Arad y Ettinger (de abajo hacia arriba); frutos control, tratados con etileno y tratados con 1-MCP (de izquierda a derecha). Pesis et al., 2009.



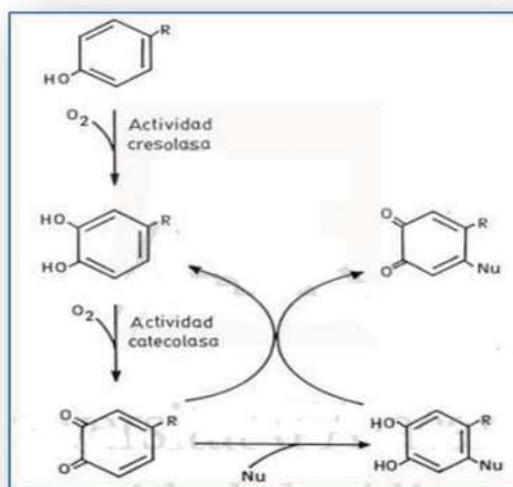


Las polifenol oxidasas (PPOs) (EC. 1.14.18.1 o EC. 1.10.3.2) son enzimas ubicadas en plantas que catalizan la reacción dependiente de oxígeno que transforma o-difenoles en o-quinonas (Mayer y Harel 1979; Lee y Whitaker, 1995), la decoloración del mesocarpio a color marrón es el resultado de ésta reacción catalizada por la enzima (PPO) y ésta oxidación continúa hasta la formación los pigmentos de melanina de color marrón (Kahn, 1976), como se observa en la **figura 13**. La PPO es una metaloenzima, se trata de una enzima ampliamente distribuida en el reino vegetal, siendo detectada en algas, briófitos, pteridofitos, gimnospermas y angiospermas (Mayer y Harel, 1979). Se ha descrito en diversos tejidos de plantas como raíces (Pérez-Galibert *et al.*, 2001; Gandia-Herrero *et al.*, 2004), semillas (Paul y Gowda, 2000), hojas (Robinson y Dry, 1992; Sánchez-Ferrear *et al.*, 1993; Chazarra *et al.*, 1996; Mazzafera y Robinson, 2000; Chazarra *et al.*, 2001a; Shi *et al.*, 2002) y frutos (Murata *et al.*, 1992; Ding *et al.*, 1998b; Fraignier *et al.*, 1995; Serradell *et al.*, 2000; Casado *et al.*, 2005). Kahn (1977) demostró una relación entre el grado de oscurecimiento de la pulpa y la actividad de PPO en diferentes variedades de aguacate, y una relación también se ha demostrado entre el pardeamiento de la pulpa y el contenido de fenol (van Lelyveld y Bower, 1984). Como se aprecia en la **figura 15** el modelo de Lee y Whitaker (1995) es capaz de explicar la existencia de las tres formas enzimáticas (“met”, “oxi” y “desoxi”) y las particularidades de cada una de las dos actividades de la enzima (A: catecolasa, B: cresolasa). En el ciclo catecolasa la forma “desoxi” une oxígeno, mientras que las formas “met” y “oxi” unen sendas moléculas de o-difenol. Por otra parte en el ciclo cresolasa sólo participan las formas “desoxi” y “oxi”, debido a esto, para introducir toda la enzima a este ciclo cresolasa son necesarias cantidades catalíticas de difenol que lleva la forma “met”, la cual se encuentra entre un 98 y 70 % según la fuente, hasta “desoxi” (Lerch y Ettliger, 1972).





**Figura 15.** Mecanismo propuesto para la oxidación enzimática de o-difenoles (A) y monofenoles (B), mediante la participación de la enzima PPO. Adaptado de Lee y Whitaker, 1995.

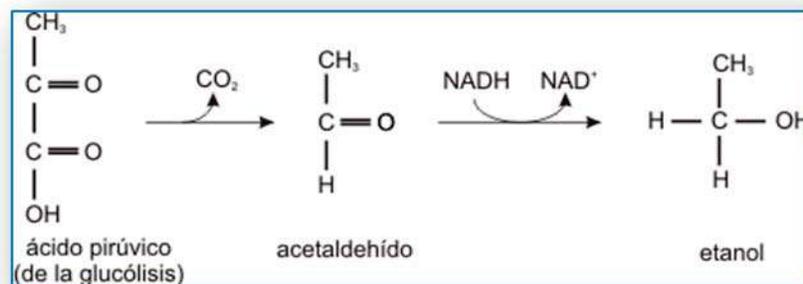


**Figura 16.** Reacciones de evolución de las o-quinonas producidas por la tirosina o polifenol oxidasa. R=cadena lateral, Nu=grupo nucleofílico extra o intracelular: -OH, -SH ó -NH<sub>3</sub>.





Varios métodos para reducir los síntomas de CI en el fruto de aguacate han sido examinados incluyendo: atmósfera controlada (AC), atmósfera modificada (AM), anaerobiosis y tratamientos térmicos. **Hatton y Reeder (1972)** demostró que la eliminación del porcentaje de etileno del fruto de aguacate cv. Lula almacenado en AC a 10 °C aumentó considerablemente después de su almacenamiento. El almacenamiento en AC (2 % O<sub>2</sub>; 10 % CO<sub>2</sub>) a 5.5 °C por 28 días reduce la decoloración del mesocarpio de frutos de aguacate cv. Fuerte (**Bower et al., 1989**). La aplicación de anaerobiosis por 24 horas antes de su almacenamiento a 2 °C, reduce la producción de etileno y los síntomas CI en frutos de aguacate cv. Fuerte (**Pesis et al., 1994**). El acetaldehído (**figura 17**) es el primer metabolito en la respiración anaeróbica, inhibe la formación de etileno, la actividad de ACC oxidasa y el pardeamiento de la pulpa en aguacate (**Pesis et al., 1998**).



**Figura 17.** Reacción de la respiración anaeróbica.

El tratamiento térmico antes de su almacenamiento en frío reduce los síntomas externos causados por CI y el tiempo de maduración prolongado así como su asociación con una menor producción de etileno (**Woolf et al., 1995**). Los tratamientos de calor son también los más eficaces para reducir los síntomas del CI en frutos de aguacate de las variedades Fuerte y 'Hass', cuando se aplica en el día de la recolección (**Kremer-Kohne, 1999**). El almacenamiento en MA con alto CO<sub>2</sub> y la reducción de los niveles de etileno dan como resultado una reducción de los síntomas del CI en el fruto de aguacate (**Scott y Chaplin, 1978; Meir et al., 1997**). La relación entre el etileno y CI en el aguacate todavía no está claro. El

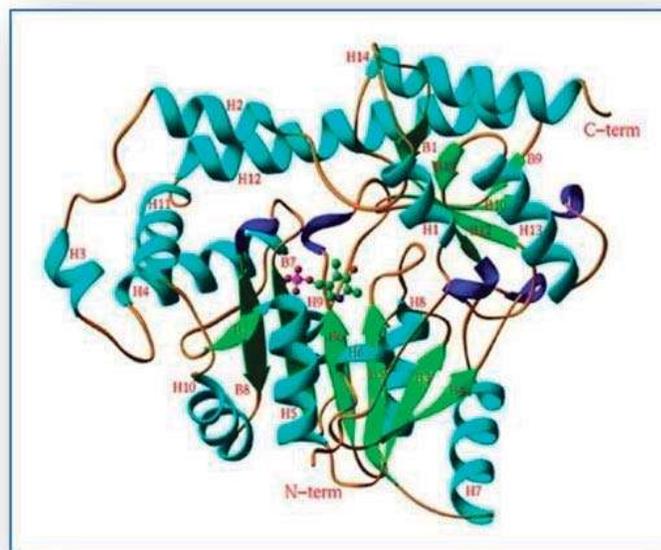




tratamiento con etileno mejora la maduración durante la vida útil sin perjuicio (Zauberman *et al.*, 1988) y recientemente se ha demostrado que la aplicación de 1-MCP en frutos de aguacate inhibe la maduración a 22 °C, esto fue expresado como retraso de ablandamiento de frutas y producción de etileno (Feng *et al.*, 2000). Pesis *et al.*, 2002, estudiaron los efectos del etileno en el desarrollo interno de los síntomas de CI durante el almacenamiento en frío prolongado, así como la eficacia de la aplicación de 1-MCP o la eliminación de etileno por absorbentes, en la reducción de los síntomas de CI en estas mismas condiciones mencionadas.

#### viii. COMPUESTOS INHIBIDORES DE LA ACCIÓN DEL ETILENO.

Debido a que el etileno participa de manera importante en la regulación de la maduración, la inhibición de su biosíntesis o de su acción incide en un retraso del proceso de maduración en un incremento de la vida de anaquel del fruto (Ochoa, 2008). Se han realizado numerosos estudios utilizando inhibidores de las dos enzimas clave implicados en la biosíntesis de la hormona (ACC sintetasa y ACC oxidasa) o de su acción hormonal, se representa en la **figura 18** la ACC sintetasa.

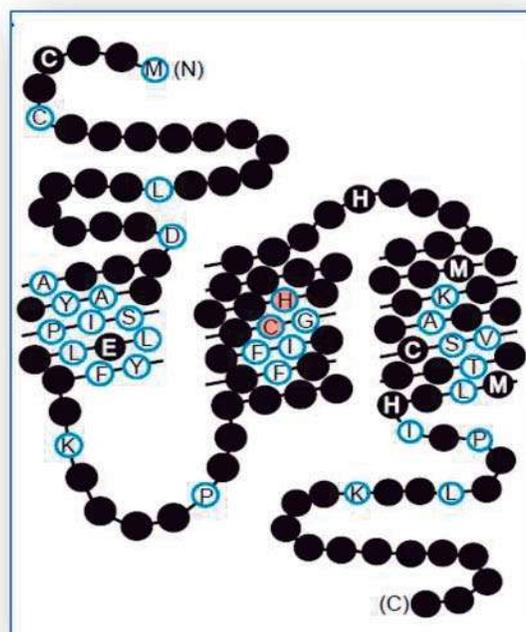


**Figura 18.** Diagrama de cintas de ACC sintetasa monomérica.





En la **figura 19 y 20a** se observa el receptor de etileno ETR1 el cual es una proteína transmembranal que requiere la unión de cobre para su funcionamiento (Rodríguez *et al.* 1999). Una serie de moléculas orgánicas que parecen bloquear a éste receptor se han descubierto recientemente, compuestos que consiguen inhibir la producción de etileno y retrasar la senescencia de los frutos (Halevy, 1987; Wang y Woodson, 1989; Serrano *et al.*, 1990; Van Alvorst y Bovy, 1995). La unión del etileno al receptor da como resultado la inactivación de un regulador negativo CTR 1 (que se hallaba inhibiendo a la proteína transmembrana EIN 2) por lo que la proteína EIN 2 cobra actividad, funcionando como un canal de iones (probablemente iones  $\text{Ca}^{+2}$ ), lo que se traduce en una posterior activación del factor de transcripción EIN 3, que actúa a nivel genómico induciendo la expresión genética de proteínas efectoras y se representa en la **figura 20b**.

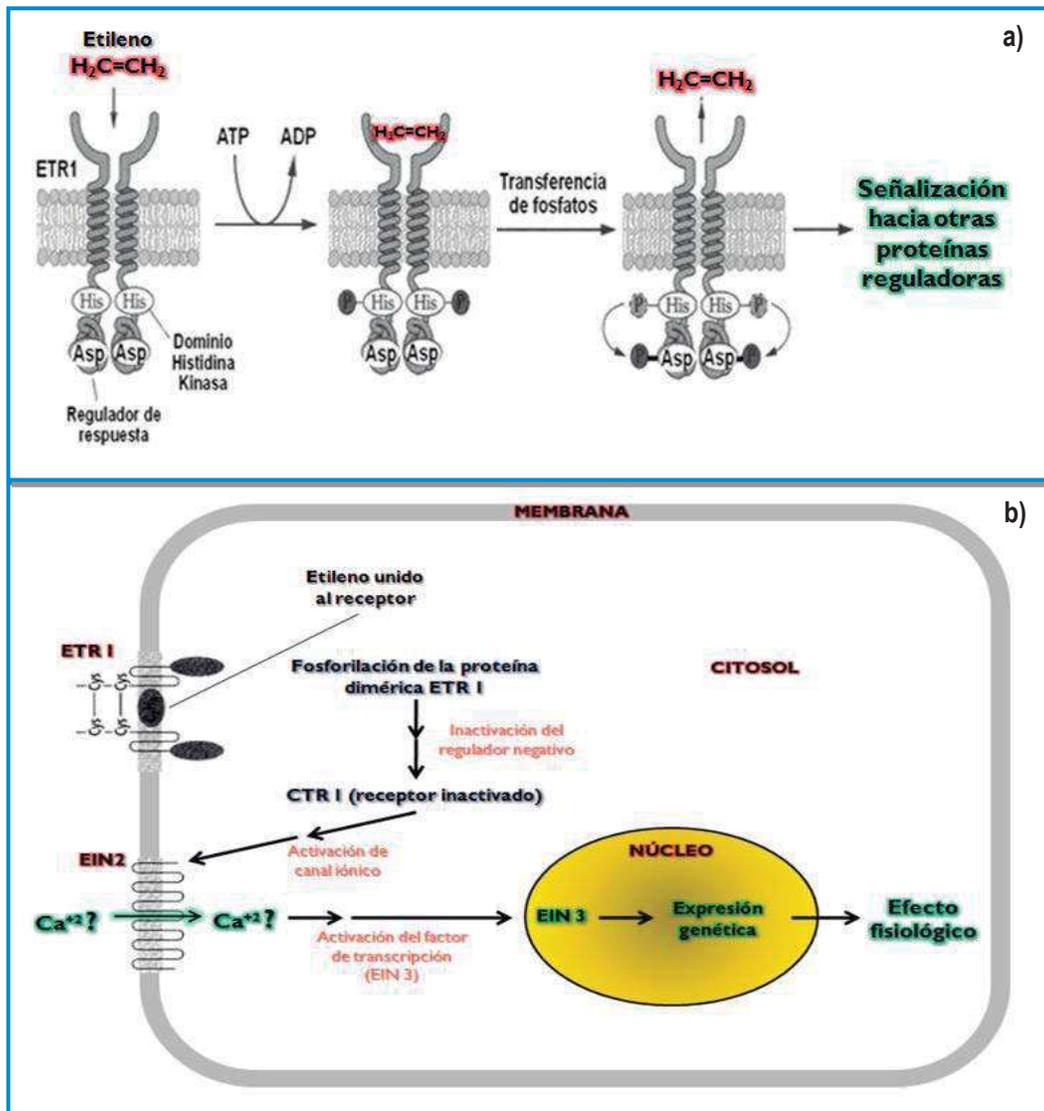


**Figura 19.** Modelo helicoidal del dominio del etileno en relación a la proteína ETR1. La figura representa los primeros 128 aminoácidos de la proteína ETR1. El dominio hidrofóbico es modelado como una hélice de acuerdo con algoritmos de computadora que predicen la topología de la membrana. (Rodríguez *et. al.*, 1999).





La aplicación de los compuestos químicos que bloquean la acción del etileno ha permitido estudiar en diversos cultivares de aguacate, la relación entre el etileno, la maduración de fruto y la senescencia (Sisler y Sereck, 1997; Jiang y Jiarui, 2000).



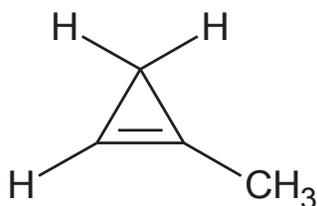
**Figura 20.** Mecanismo de acción del etileno y su receptor. a) Estructura del receptor de etileno ETR1 y su reacción ante el etileno y b) cascada de señalizaciones de la unión del etileno a su receptor.



Uno de los primeros compuestos sintéticos utilizados como competidores del etileno por los sitios receptores, fue el 2,5-norbornadieno (NBD) (Sisler *et al.*, 1986). Sin embargo, su desagradable olor y su toxicidad así como la necesidad de un flujo continuo del mismo, limitaron la posibilidad de su uso (Sisler y Sereck, 1999). Sisler y Blankenship (1993) reportaron el antagonismo entre el diazociclopentadieno (DACP) y el etileno. La deficiencia del DACP se debía a la fuerte unión de la molécula a los sitios de recepción del etileno, sin embargo, su uso comercial se vio limitado por su explosividad en altas concentraciones (Blankenship y Dole, 2003). Esta situación nos ha llevado a estudiar las posibilidades de retrasar la senescencia con un potencial de aplicación práctico, ensayando compuestos que puedan ser utilizados realmente en este sector de la agricultura.

#### ix. 1-METILCICLOPROPENO.

El 1-MCP (1-metilciclopropeno) es un ciclopropeno sintético de alta tensión como lo muestra la **figura 21**, que se une de forma aparentemente irreversible a los receptores de etileno. Después de un cierto período, el tejido se reanuda la sensibilidad al etileno (Sisler y Serek, 1997), está registrado como SmartFresh™ en varios países (por ejemplo, los EE.UU.) para su uso en cultivos comestibles (Blankenship y Dole, 2003).



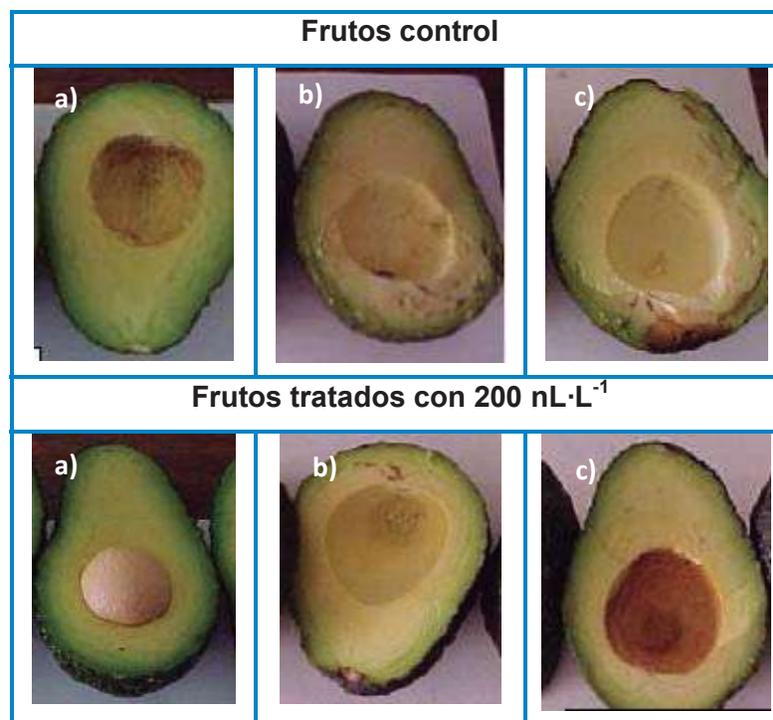
**Figura 21.** Estructura química del 1-MCP.

Se ha demostrado que el 1-MCP compite con etileno por el sitio de unión en el receptor de etileno en el tejido de la planta y participa en el control de las respuestas de etileno (Sisler y Wood, 1988; Sisler y Serek, 1997). La maduración





y senescencia de algunos frutos cortados de la planta se han retrasado por la acción 1-MCP (Serek *et al.*, 1995; Golding *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2001; Pelayo *et al.*, 2003; Aguayo *et al.*, 2006; Vilas-Boas y Kader, 2006; Mao *et al.*, 2007) y efectos similares se han demostrado en el fruto de aguacate como se aprecia en la **figura 22**. La exposición de los frutos de aguacate de las variedades 'Hass', Ettinger y Fuerte al etileno antes o durante el almacenamiento en frío aumenta la difusión de la decoloración de la piel (también llamada decoloración mesocarpio) del fruto maduro (Pesis *et al.*, 2002). El tratamiento con 1-MCP antes de su almacenamiento en frío reduce la decoloración difusa en la variedad 'Hass', a través de la reducción los efectos negativos de etileno durante el almacenamiento en frío (Pesis *et al.*, 2002; Woolf *et al.*, 2004).



**Figura 22.** Efecto del 1-MCP en aguacate cv. 'Hass'. a) Inicio del almacenamiento, b) 12 días a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C;  $75 \pm 10$  % HR) y c) 6 días en refrigeración ( $6 \pm 0.5$  °C;  $90 \pm 5$  % HR) + 9 días en ambiente. Osuna *et al.*, 2005.





El 1-MCP es un compuesto que se está utilizando como nuevo tratamiento químico de poscosecha el cual está atrayendo la atención de científicos y de industrias de todo el mundo. La investigación de este compuesto ha demostrado que es un poderoso inhibidor de la acción del etileno y su capacidad de mantener la calidad en post-recolección en muchos productos vegetales (Guillen *et al.*, 2006). El potencial de este compuesto como herramienta tecnológica para la regulación de la maduración del aguacate cv. 'Hass' cultivado en el estado de Michoacán, refiere de la definición precisa del efecto que ésta molécula ejerce en la fisiología del fruto, para establecer un sistema de tratamiento que permita el almacenamiento temporal y la conservación de la calidad del aguacate, para obtener ventajas en la cadena de manejo poscosecha del fruto de aguacate y con ello abastecer con frutos de alta calidad, la creciente demanda de consumidores en mercados más competitivos (Ochoa, 2008).





### III. JUSTIFICACIÓN

El fruto de aguacate variedad 'Hass' es un fruto de gran demanda a nivel mundial por su alto valor nutritivo. Las pérdidas generadas durante su transporte, almacenamiento y distribución limitan la exportación del fruto. Por consiguiente la maduración del fruto es un problema tanto para los productores, vendedores y consumidores. Durante las últimas décadas se ha buscado la manera de retardar el proceso de maduración del aguacate por métodos físicos y químicos. En refrigeración el aguacate puede ser almacenado durante tres o cuatro semanas y manteniendo la calidad a un nivel aceptable (Osuna *et al.*, 2005). Si el fruto se refrigera por periodos más largos existe el riesgo de daños externos e internos, como oscurecimiento del sistema vascular en la pulpa, manchado de la piel, maduración irregular y desarrollo de color translúcido y sabores anormales, síntomas que se manifiestan hasta después de uno o dos días que la fruta permanece a temperatura ambiente (Yahia, 2001). Por su alta tasa respiratoria y alta producción de etileno el fruto de aguacate es muy perecedero y poco tolerante al almacenamiento prolongado (Osuna, 2005). Una técnica reciente para alargar la vida postcosecha y mantener la calidad de los frutos de aguacate es mediante la aplicación de productos que inhiben la acción del etileno. El 1-metilciclopropeno se une a los receptores de etileno en la célula e impide las reacciones propias de la maduración que conducen al ablandamiento de tejidos, desintegración de la pared celular y degradación de pigmentos (Sisler y Serek, 1997) retrasando así la maduración y prolongando su vida postcosecha. En nuestro equipo de investigación, Ochoa, 2008 realizó un trabajo sobre las respuestas bioquímicas y fisiológicas del aguacate 'Hass' al 1-MCP. Por el motivo anterior en el presente trabajo se decidió continuar el estudio bioquímico de proteínas y compuestos que participan en el proceso de maduración del aguacate cv. 'Hass'.





## **IV. HIPÓTESIS**

La actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), poligalacturonasa (PG) y la concentración de dienos y trienos se ven afectadas en frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad 'Hass' tratados con 1-metilciclopropeno (1-MCP).

## **V. OBJETIVOS**

### **I. OBJETIVO ESPECÍFICO**

Determinar la actividad de la G6PDH, PG, y la acumulación de dienos y trienos en frutos de aguacate variedad 'Hass' tratados con 1-MCP.

### **ii. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar la actividad enzimática de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y de la poligalacturonasa en presencia del 1-MCP.
2. Determinar el efecto del 1-MCP sobre la concentración de dienos y trienos.





## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

### i. Estrategia experimental.

En el siguiente diagrama se describen de forma esquemática los procedimientos a seguir en este trabajo de tesis.

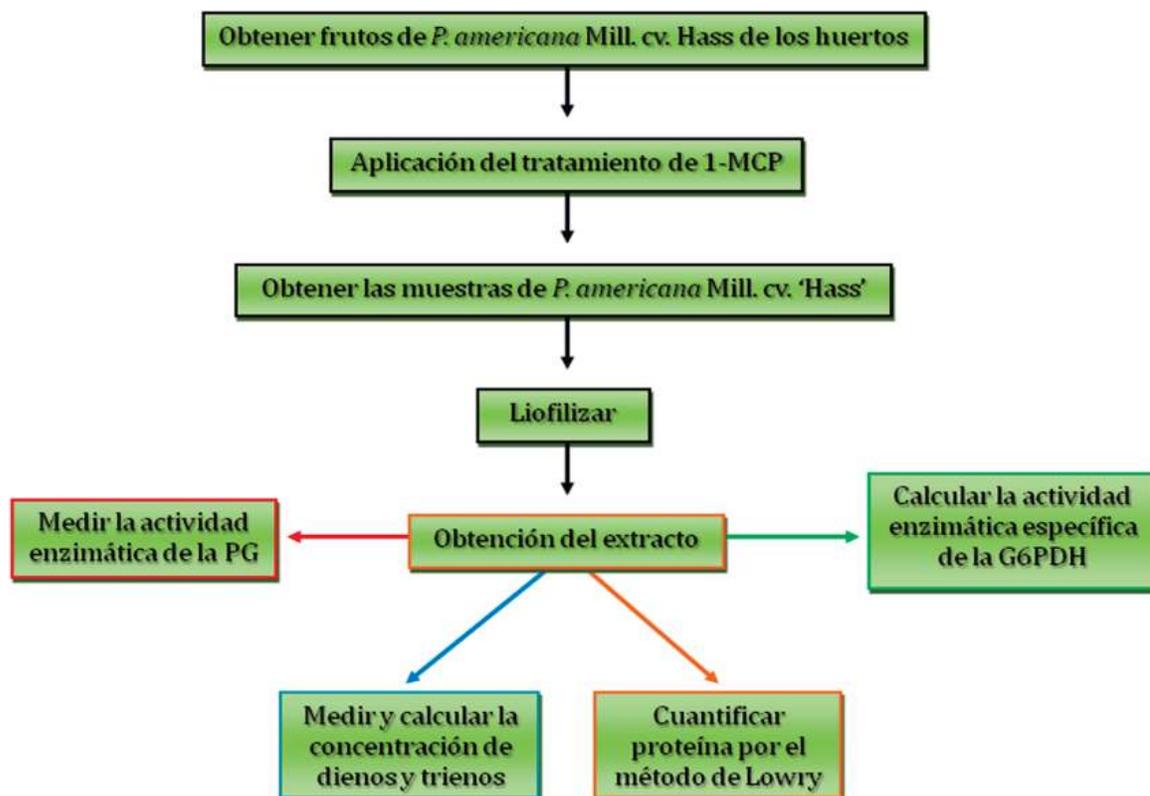


Figura 23. Estrategia experimental.





## ii. Material biológico.

Se utilizaron frutos de aguacate 'Hass' calidad de exportación, procedentes de huertos comerciales del estado de Michoacán, cosechados en tres fechas de la temporada 2005/2006; octubre 2005 (temprana), marzo 2006 (intermedia) y julio 2006 (tardía). En el empaque los frutos fueron pre enfriados a temperatura ambiente (16 a 18 °C) durante 8 h, y posteriormente seleccionados por calibre (20's), uniformidad de color de epidermis y ausencia de daños físicos y se empacaron en cajas de cartón.

Para obtener un indicador de madurez de los frutos utilizados, se determinó el contenido de materia seca en una muestra de 5 frutos de cada lote. Se removió un corte longitudinal del fruto; se retiró la epidermis y se obtuvieron 10 g de pulpa en rebanadas longitudinales de aproximadamente 1 mm de espesor. La pulpa fue secada en horno de micro ondas a potencia media hasta obtener un peso constante. El contenido de materia seca se calculó dividiendo el peso de la pulpa seca entre el peso de la pulpa fresca y multiplicando por 100 (Lee *et al.*, 1983).

$$\text{Contenido de materia seca} = \frac{\text{Peso de la pulpa seca}}{\text{Peso de la pulpa fresca}} \times 100$$

## iii. Tratamientos 1-MCP y diseño experimental.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño totalmente al azar con arreglo factorial ( $3^2$ ), utilizando 0, 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP en combinación con las tres fechas de cosecha. Cada tratamiento incluyó 3 repeticiones y la unidad experimental estuvo formada por 20 frutos. El número de frutos que se utilizó fue de 540. Los tratamientos fueron





aplicados el mismo día en que se empacaron los frutos, con una temperatura de la pulpa de 5 °C.

Otro lote de 40 frutos cosechado en el mes de marzo, fue aleatoriamente dividido en dos grupos de 20 frutos. El primer grupo fue expuesto a tratamiento de 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP y el segundo grupo se mantuvo como control. Los frutos tratados y frutos control recibieron el mismo manejo de tratamientos. Este lote fue identificado como M04 y se utilizó para medir el efecto del 1-MCP de la actividad de la poligalacturonasa.

#### iv. Aplicación del 1-MCP.

La aplicación del 1-MCP se realizó en contenedores plásticos de 117.3 L (Rubbermaid®), utilizando como fuente de 1-MCP una formulación en tabletas (SmartTabs™, AgroFresh Inc., Filadelfia, PA) con un contenido de 27 µg de i.a. equivalentes a 0.854 nL·L<sup>-1</sup> de 1-metilciclopropeno por litro. La concentración de 1-MCP se obtuvo por la adición de 2 tabletas (200 nL·L<sup>-1</sup>) y 3 tabletas (300 nL·L<sup>-1</sup>) a 15 mL de una solución de ácido cítrico al 5% en un vial de plástico de 50 mL. El vial estuvo adosado con un ventilador operado por una batería de 9V, cuya función fue dar movimiento al aire dentro del contenedor. El contenedor fue sellado con agua para proporcionar hermeticidad y evitar pérdida de 1-MCP. La aplicación se llevó a cabo a 5 °C durante 12 h. Los frutos control (0 1-MCP) fueron manipulados de la misma forma que los tratados.





## v. Almacenamiento y maduración.

Al término de las 12 h de tratamiento, los frutos fueron colocados en cámara de frío a  $5 \pm 1$  °C y un porcentaje de humedad relativa de  $85 \pm 5$ , durante 22 días con el propósito de simular las condiciones de tránsito hacia Europa o Japón. No se realizó ningún tipo de evaluación en esta etapa.

## vi. Mediciones después del almacenamiento.

Al término del periodo de almacenamiento en frío, los frutos fueron retirados de la cámara y trasladados a laboratorio donde se mantuvieron a temperatura ambiente ( $22$  °C  $\pm 1$  °C) para su maduración y evaluación. Se determinó la cantidad de proteína, la actividad de la G6PDH, la actividad de la PG y acumulación de dienos y trienos para observar el comportamiento de éstos ante el 1-MCP.

### a) Determinación de la actividad de la PG.

La PG fue extraída de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill cv. 'Hass') y ensayada en una muestra de 5 frutos tratados control procedentes del lote M04 a partir del término del periodo en frío y hasta la completa maduración de los frutos.

### i. Obtención de la pulpa.

Se tomaron muestras del mesocarpio en la región ecuatorial del fruto a intervalos de 24 horas. El tejido fue extraído con un sacabocados de 5 mm de diámetro, desde la parte exterior del mesocarpio y hasta el centro del





fruto. Las muestras se colocaron en tubos de ensaye y se almacenaron a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su posterior evaluación.

## ii. Preparación del extracto de proteína libre de células.

Tejido del mesocarpio parcialmente congelado (10 g) fue homogeneizado con 12 ml EtOH al 95% frío y centrifugado a 7840 rpm por 100 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El sobrenadante fue descartado y el sedimento re suspendido en 15 mL de EtOH al 80% frío por 10 minutos y centrifugado nuevamente por 10 minutos a 7840 rpm a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El sedimento fue incubado en 9 mL de acetato de sodio 10 mM conteniendo 1.8 M NaCl, pH 6.0. Durante 30 minutos en baño de agua helada y posteriormente fue centrifugado (7840 rpm, 10 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). El sobrenadante fue utilizado para medir la actividad enzimática de la PG.

## iii. Actividad de la PG.

La actividad de la PG fue medida reductométricamente por incubación de alícuotas de 40  $\mu\text{L}$  del extracto de proteína libre con 800  $\mu\text{L}$  de sustrato (ácido poligalacturónico 30 mM) a 30 y  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; pasados 30 minutos se le añadieron 1200  $\mu\text{L}$  de DNS en buffer de acetato de potasio pH 5.5 con 100 nM de KCl. Después de 15 minutos a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  se midió la concentración de azúcares reductores a una longitud de onda de 620 nm. La actividad de la enzima se expresó en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}\cdot\mu\text{g}$  de proteína.

## b. Determinación de la actividad de la G6PDH.

La G6PDH fue extraída de frutos de aguacate (*Persea americana* Mill cv. 'Hass') y ensayada en una muestra de 9 frutos procedentes de los tres

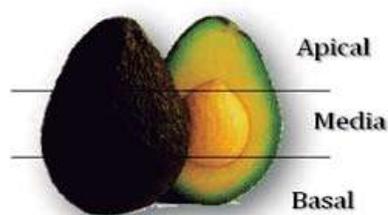




diferentes tratamientos que se aplicaron en combinación con las tres fechas de cosecha a partir del término del periodo de almacenamiento en frío y hasta la completa maduración de los frutos.

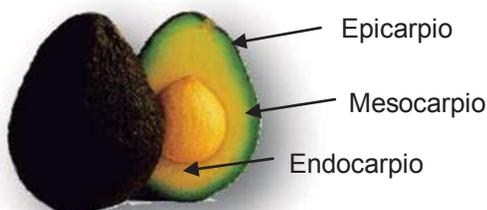
### i. Obtención de la pulpa.

El fruto de aguacate se dividió en tres partes anatómicas, según la siguiente figura:



**Figura 24.** División anatómica del fruto.

Se tomaron muestras del mesocarpio (figura 23) de las tres regiones anatómicas del fruto a intervalos de 24 h. Las muestras se colocaron en tubos de ensaye y se almacenaron a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su posterior evaluación. Se obtuvo un total de 54 muestras de aguacate control ( $0\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  1-MCP), 54 muestras de un tratado de  $200\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP y 54 muestras de un tratado de  $300\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP.



**Figura 25.** División anatómica de las partes internas del fruto.





## ii. Liofilización de las muestras.

Las muestras previamente congeladas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  se colocaron en cristalería adecuada y se pusieron en un liofilizador (Freeze Dry System/Lyph Lock 4.5). El liofilizador trabajó de la siguiente manera: el equipo colector congela la muestra a  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  y genera un vacío de  $164 \times 10^{-3}$  M BAR de presión, la muestra se deja el tiempo necesario hasta eliminar completamente el agua. Se almacenaron las muestras a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior evaluación.

## iii. Preparación del extracto de la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

Se pesó 0.1 g de cada una de las muestras previamente descongeladas, se adicionó hielo en una charola. Posteriormente se colocó la muestra en un mortero y se adicionó suficiente nitrógeno líquido hasta observar un polvo fino. Antes de iniciar la maceración, se le agregaron 6 mL de disolución amortiguadora de Glicina 55 mM a pH 7.0, con ayuda de una pipeta Pasteur la mezcla se colocó en tubos Eppendorf y se centrifugaron por 10 minutos a 3000 rpm. Posteriormente se separó el sobrenadante que corresponde al extracto crudo de la enzima y se colocó en tubos. Se sometió a una segunda centrifugación por 10 minutos a 3000 rpm desechándose el sedimento (restos de tejido celular). Se centrifugó por tercera ocasión por 10 minutos a 3000 rpm. Enseguida se separó la parte líquida del extracto (sobrenadante) y se desechó el sedimento. Se transfirió el extracto a viales estériles de 1.5 mL previamente rotulados y se colocaron en congelador a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El proceso se realizó para las muestras control y muestras de los tratados con 200 y 300  $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP. Del sobrenadante se tomó una alícuota de 50  $\mu\text{l}$  para la determinación de proteína por el método de *Lowry et al., 1951*.





**Figura 26.** Preparación del extracto de G6PDH: a) Pesada, b) Adición de  $N_2$  líquido y c) Levigado.

#### iv. Preparación de la curva de calibración por el Método de Lowry.

Los iones cúpricos en un medio alcalino reaccionan con los enlaces peptídicos y forman un complejo de color azul-púrpura que se intensifica por la adición del reactivo de Folin Ciocalteu 1 M. La intensidad del color púrpura es directamente proporcional a la concentración de proteína. La curva de calibración se realizó utilizando como estándar una solución de albúmina sérica bovina (BSA) a una concentración de 1 mg/mL, obteniendo la ecuación  $y=0.0046x$  con un coeficiente de correlación de 0.9803.

Se numeraron 13 tubos Eppendorf por triplicado; se preparó una curva estándar de proteína soluble como se indica en el cuadro 1. Posteriormente se mezclaron las soluciones de cada tubo y se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos. Después se adicionó gota a gota y en agitación a cada tubo 50  $\mu$ l de reactivo de Folin Ciocalteu 1 M; se mezcló e incubó durante 25 minutos a temperatura ambiente. Se determinó la absorbencia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 640 nm. Se realizó un gráfico de absorbencia contra concentración de proteína ( $\mu$ g/mL).





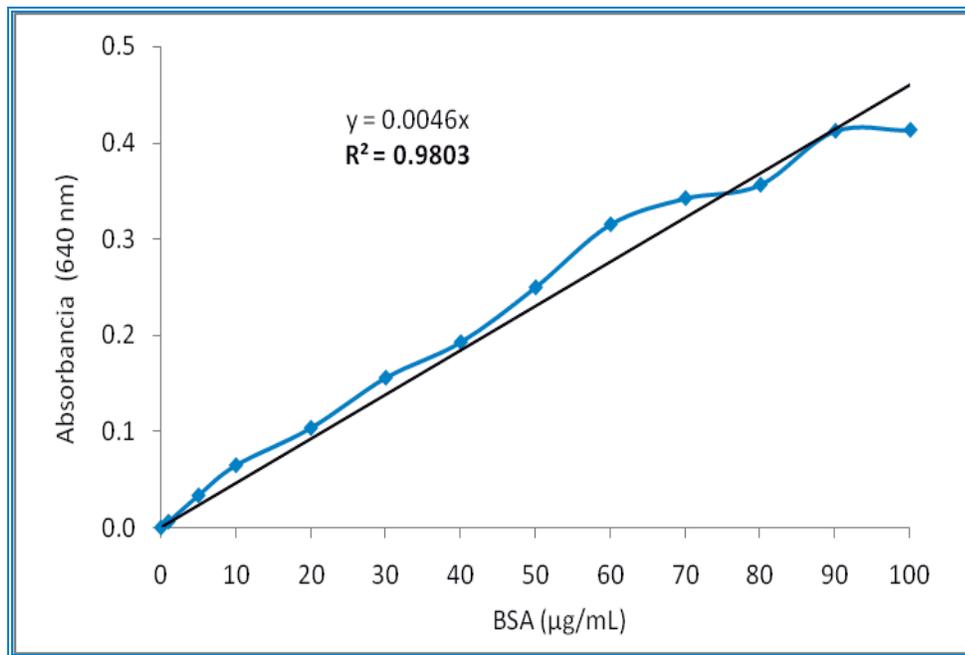
**Cuadro 1.** Valores de concentración de albúmina sérica bovina para realizar la curva de calibración.

Tubo	BSA ( $\mu\text{L}$ )	Disolución D ( $\mu\text{L}$ )
1	0	1000
2	1	999
3	5	995
4	10	990
5	20	980
6	30	970
7	40	960
8	50	950
9	60	940
10	70	930
11	80	920
12	90	910
13	100	900

La curva de calibración se utilizó para calcular la concentración de proteína en las muestras problema (**figura 26**).

Se repitió todo el procedimiento anterior, pero ahora se utilizó la muestra del extracto en sustitución del BSA, tomándose una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante de la preparación de la G6PDH se determinó la concentración de proteína utilizando la curva estándar.





**Figura 27.** Curva de calibración de albúmina sérica.

#### v. Actividad de la G6PDH.

Se preparó una mezcla en una celda de reacción la cual contiene los reactantes en las siguientes cantidades: 50 µl de Glucosa-6-fosfato (1.52 mM) como sustrato, 50 µl de coenzima NADP<sup>+</sup> (0.42 mM) y 50 µl de extracto en una solución amortiguadora Tris-HCl (55 mM) a pH 7. Esta mezcla se incubó por un periodo de dos minutos a 25 °C, en la que el sustrato es adicionado al tiempo cero.

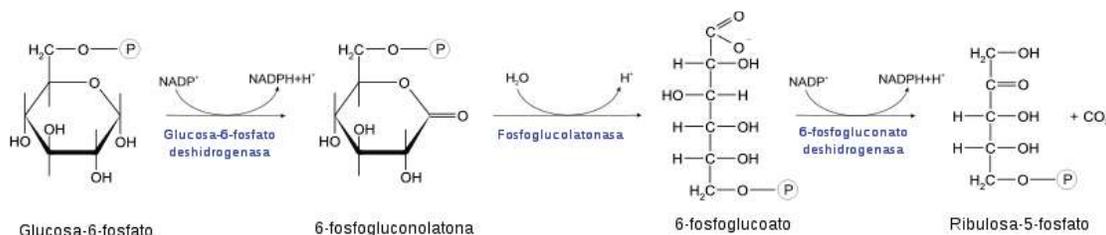
Los cambios en la absorbencia a 340 nm por minuto son determinados de la porción lineal de la curva, corregida por los cambios en absorbencia ocurridos en la cubeta control, la cual contiene todos los reactivos menos el sustrato. Para conocer la actividad enzimática se determina la actividad específica de los extractos de la G6FDH de acuerdo con la siguiente ecuación:





$$\frac{\text{Unidades}}{\text{mg de proteína}} = \left( \frac{\Delta A}{\text{min}} \right) \left( \frac{0.161}{2 * \text{mg de enzima}} \right)$$

Se midió la formación de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  de acuerdo a la primera reacción de la vía de las pentosas fosfato (**Figura 29**). Se consideró que la reacción es equimolar entendiéndose que por cada molécula de G6P se producen 2  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ . Por lo que se estimó dividir las unidades producidas entre 2.



**Figura 28.** Segmento oxidativo de la vía de las pentosas fosfato.

### c. Extracción y cuantificación de dienos y trienos.

Los dienos y trienos fueron extraídos de mesocarpio de frutos control y tratados con  $300 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$  de 1-MCP procedentes del lote M04 a partir del término de la cadena en frío y hasta la maduración completa.

Se tomaron 0.1 g de fruto previamente liofilizada; la muestra de tejido fue homogenizada en 3 mL de etanol en un mezclador Porter, obteniéndose 2 mL de extracto. Este extracto homogeneizado se le agregó 4 mL de una solución 2:1 cloroformo:metanol, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. El precipitado fue fraccionado con una mezcla de 0.1% de NaCl (282  $\mu\text{L}$ ), metanol (288  $\mu\text{L}$ ), cloroformo (180  $\mu\text{L}$ ). Después de





tres extracciones, la fase orgánica fue cuantificada mediante espectrofotometría a 232 nm. Las concentraciones fueron expresadas como unidades relativas por gramo de tejido.

#### **vii. Análisis estadístico.**

Los procedimientos estadísticos se realizaron utilizando el programa Statistica 7.0 en el que se hicieron tres experimentos independientes con una prueba de Tukey y un  $\alpha=0.05$ ; promedios con las misma letra no representan diferencia significativa entre cada tratamiento.





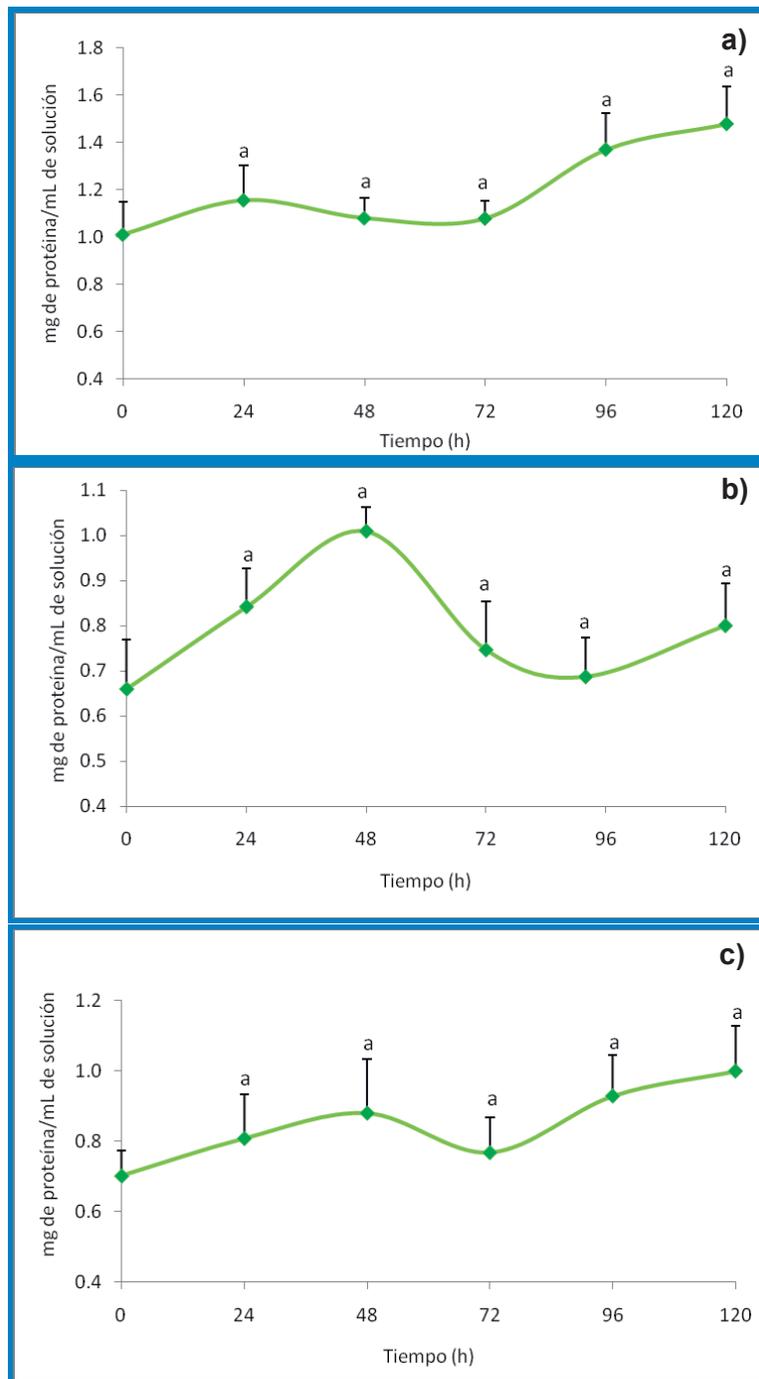
## VII. RESULTADOS

### i. Cuantificación de la proteína.

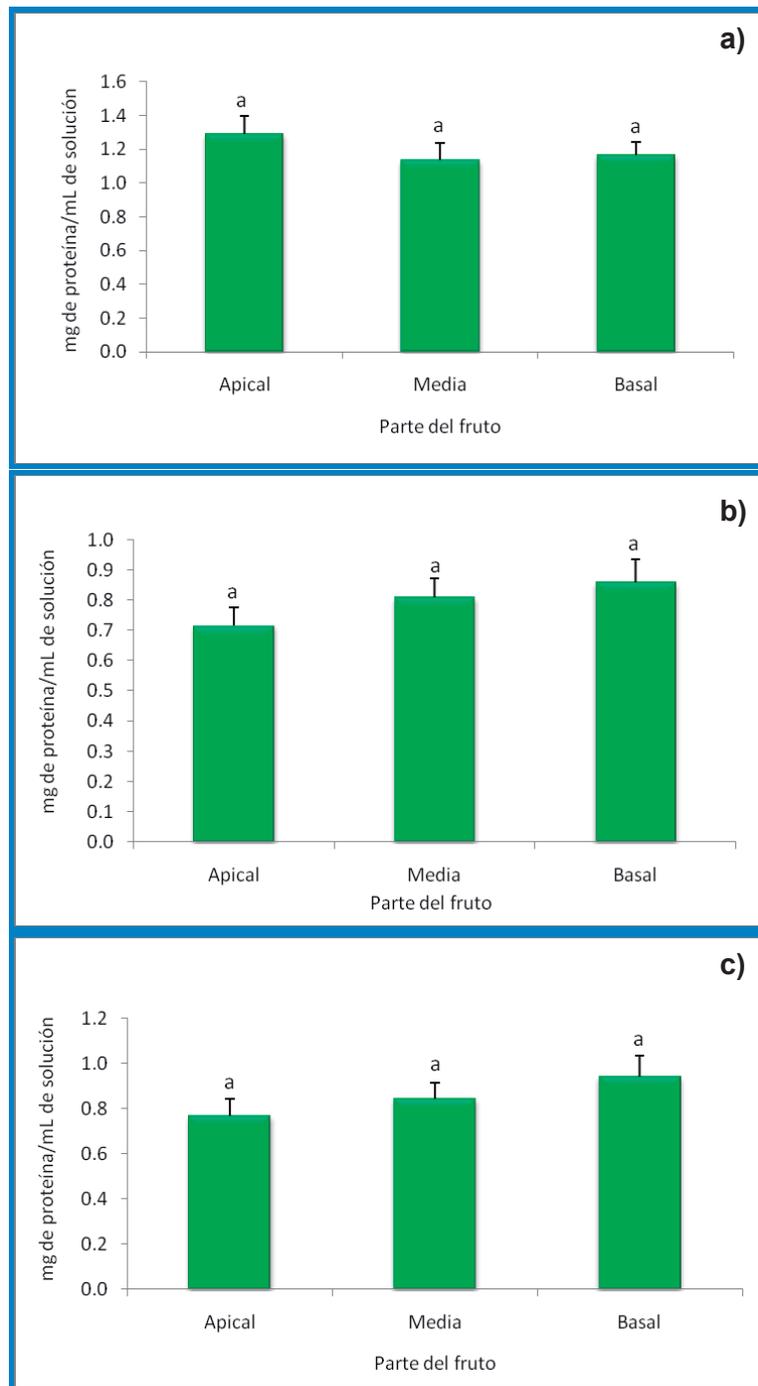
La cantidad de proteína por mL de solución en frutos control no presentó diferencia durante el curso temporal después del almacenamiento en frío (**figura 29a**), de igual forma no existe diferencia entre las partes anatómicas del fruto control (**figura 30a**). En frutos tratados con 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP el comportamiento proteico tiene una tendencia similar al de los frutos control tanto en el curso temporal como en la parte anatómica como logra apreciarse en las **gráficas a y b de las figuras 29 y 30** respectivamente.

En el curso temporal de frutos control se observó un comportamiento regular de la cantidad de proteína hasta las 72 horas en anaquel, incrementándose muy ligeramente a las 96 horas y manteniendo esta producción ligeramente alta de proteína. Mientras que frutos tratados con 200 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP mostraron incremento en la cantidad de proteína a las 48 h después del almacenamiento en frío con relación al control, comportamiento que se aprecia en la **figura 29b**. De manera muy similar a los frutos control se observó el comportamiento proteico del tratado de 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP como se muestra en la gráfica de la **figura 29c**. Por otro lado el comportamiento de la proteína de acuerdo a la parte anatómica en frutos control se observó un incremento en la parte apical, manteniéndose estable en la parte media y basal (**figura 30a**). En los frutos tratados con 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP se observó un incremento de la parte apical a la basal, pero sin mostrarse diferencia como se observa en las gráficas de la **figura 29b y c**.





**Figura 29.** Curso temporal del contenido proteico en frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' después del almacenamiento en frío. a) Fruto control. b) Frutos tratado con 200 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. c) Frutos tratados con 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. n=3, Tukey=0.05.



**Figura 30.** Contenido proteico de frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' por parte anatómica después del almacenamiento en frío. a) Frutos control. b) Frutos tratado con  $200 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP. c) Frutos tratados con  $300 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP.  $n=3$ , Tukey=0.05.



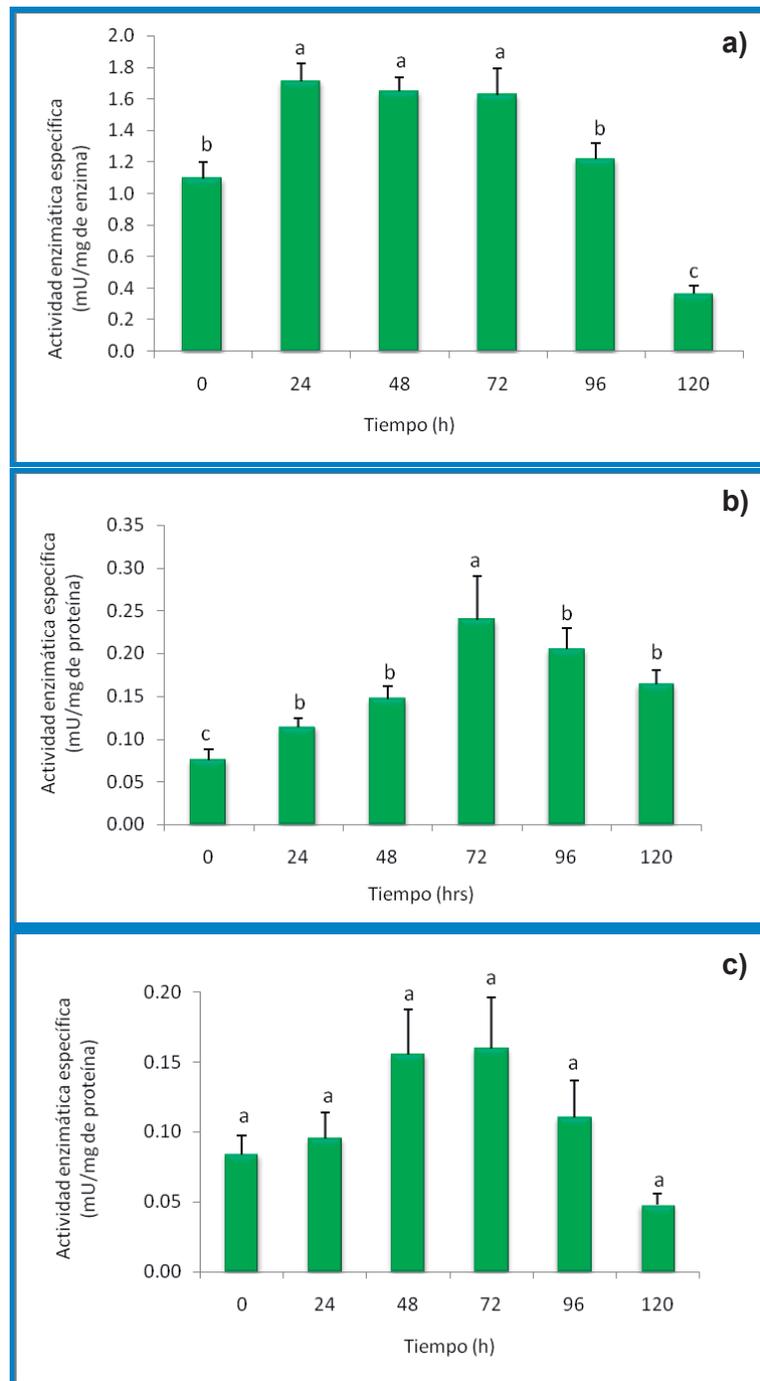
## ii. Actividad de la G6PDH.

En las **figura 31a y b** se observó el comportamiento de la actividad de la G6PDH de frutos control y frutos tratados con  $200 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP fueron comparadas y se observaron diferencias durante el curso temporal al término del almacenamiento en cadena de frío a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 22 días. Mientras que en frutos tratados con  $300 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP no se observó diferencias como lo muestra la gráfica de la **figura 31c**.

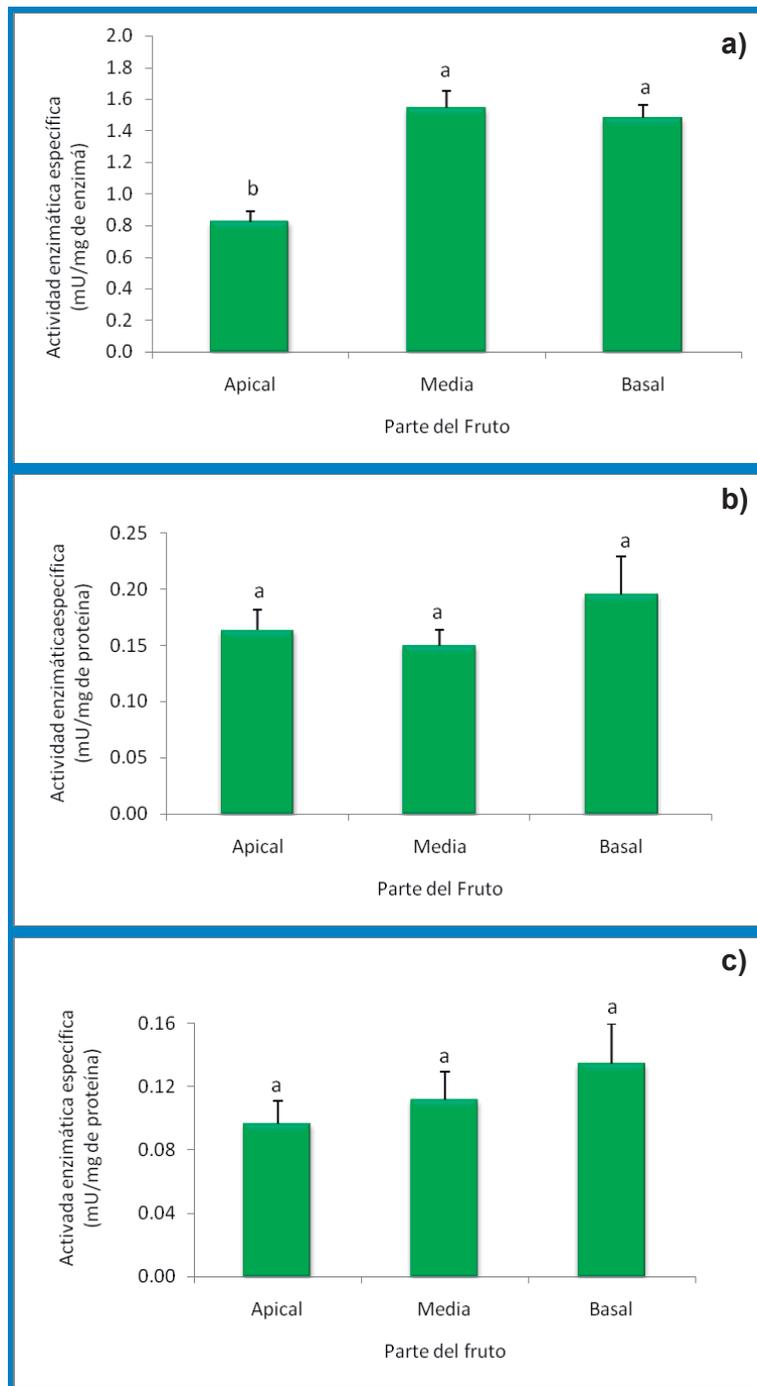
En cuanto a cada una de las partes anatómicas del fruto, en la parte media y basal del control se observó un incremento de la actividad enzimática la cual se mantiene estable en la parte media y basal (**figura 32a**). Mientras que en frutos tratados con  $200$  y  $300 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP no se observó diferencia estadística significativa en la parte anatómica como se aprecia en las gráficas de las **figura 32b y c** respectivamente.

Al término del almacenamiento en frío los frutos control del curso temporal se observó el incremento de la actividad de la enzima desde las 24 horas (etapa climatérica) manteniéndose hasta las 72 horas. En la etapa post climatérica se observó una disminución de la actividad de la G6PDH a partir de las 92 horas como se observa en la gráfica de la **figura 31a**. Mientras que en la gráfica de la **figura 31b** se apreció los resultados de los frutos tratados con  $200 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP mostrando un retraso en el inicio de la actividad de la enzima de 72 horas. Los frutos tratados con  $300 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP aunque se observó un incremento de la actividad de la G6PDH a las 48 horas y una disminución después de las 96 horas no representan diferencia estadística significativa, de acuerdo con la comparación de la prueba de  $t$  al 0.05 (**figura 31c**).





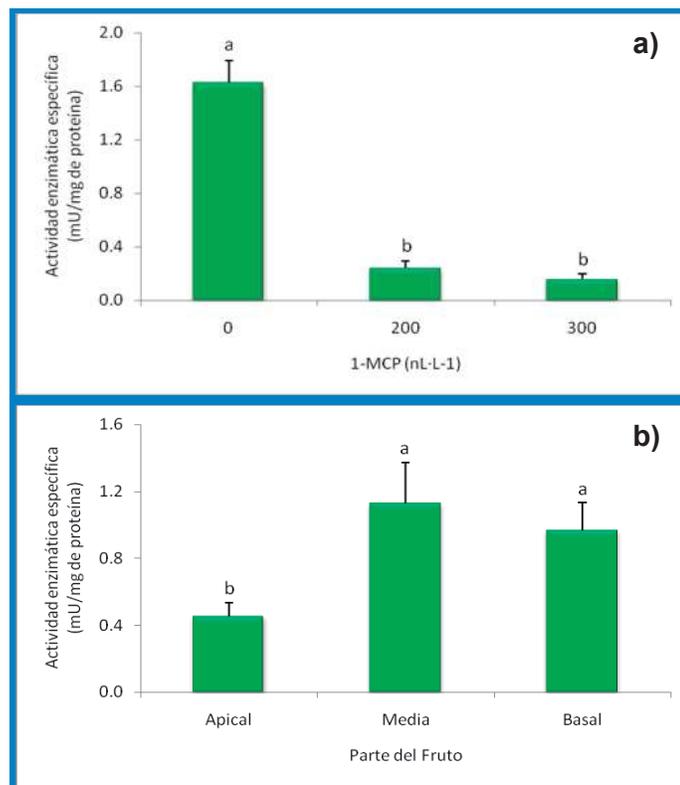
**Figura 31.** Comportamiento de la G6FDH por curso temporal de frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' después del almacenamiento en frío. a) Actividad específica de la G6PDH en fruto control. b) G6PDH de fruto tratado con 200 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. c) G6PDH de fruto tratado con 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. n=3, Tukey=0.05.



**Figura 32.** Comportamiento de la G6FDH de frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' por parte anatómica después del almacenamiento en frío. a) Actividad específica de la G6PDH en fruto control. b) G6PDH de fruto tratado con 200 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. c) G6PDH de fruto tratado con 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP. n=3, Tukey=0.05.



Se realizó una comparación de frutos control contra tratados con 1-MCP a las 72 horas de vida de anaquel. El tiempo antes mencionado fue el punto en el cual se observó un incremento de la actividad de la enzima en frutos tratados teniendo como referencia los controles. De acuerdo a la gráfica de la **figura 33a** se observó que existe diferencia estadística significativa de los tratados de 1-MCP aplicados en comparación con el control. Como se muestra en la **figura 33b** las partes anatómicas existe diferencia. Se apreció que en los frutos control se mostró una diferencia entre las partes anatómicas del fruto de aguacate mientras que en frutos tratados no existe diferencia estadística importante.

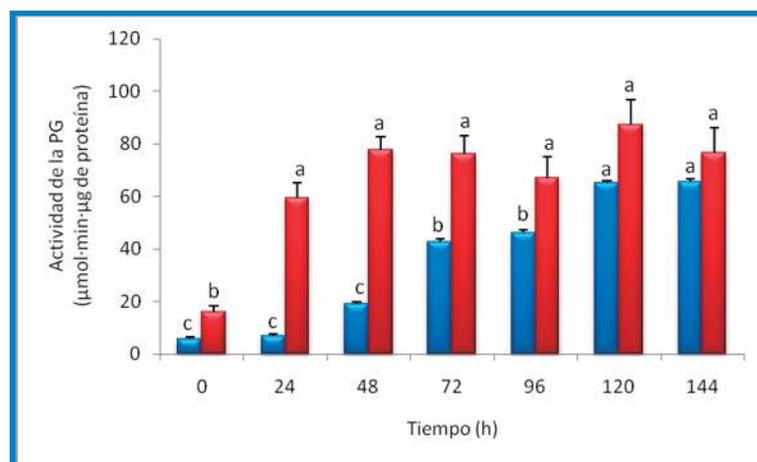


**Figura 33.** Efecto del 1-MCP sobre la G6PDH en frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' a las 72 horas en anaquel a 22 °C. a) Efecto por concentración de 1-MCP, b) Efecto por parte del fruto. n=3, Tukey=0.05.



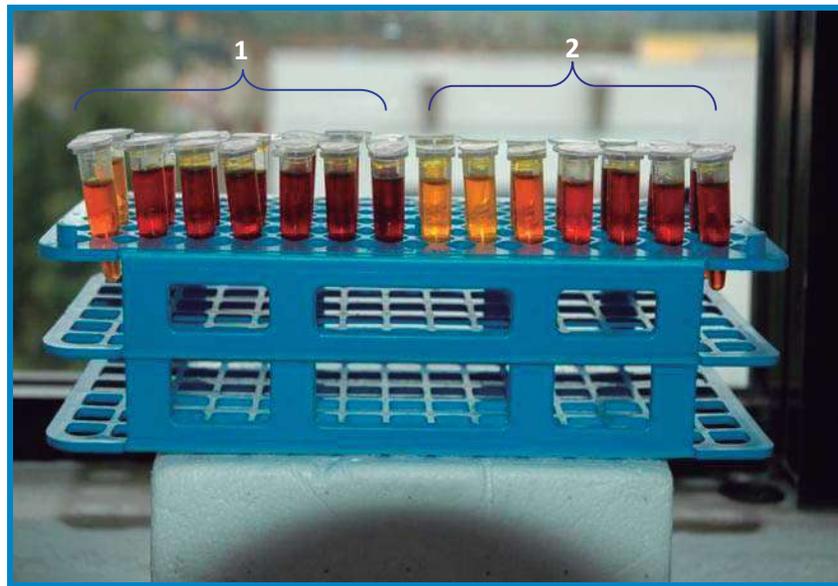
### iii. Actividad de la PG.

La actividad de la PG de frutos tratados con  $300 \text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP y frutos control observó diferencias al término del almacenamiento en cadena de frío. En el caso de los frutos control se observó actividad de la enzima desde las 24 horas, incrementándose notoriamente a las 48 horas (etapa climatérica) y manteniendo siempre una actividad enzimática elevada. En la etapa post climatérica se observó disminución de la actividad de la PG. Mientras que los frutos tratados con 1-MCP muestran un retraso en el inicio de la actividad de la PG de 72 horas con relación al control. La actividad enzimática fue notoria a partir de las 96 horas alcanzando sus niveles más altos después de las 120 horas después del almacenamiento en frío como se aprecia en la **figura 34**. Lo anterior también puede observarse por el cambio de color de la reacción de azúcares reductores como se observa en las **figuras 35 y 36**.

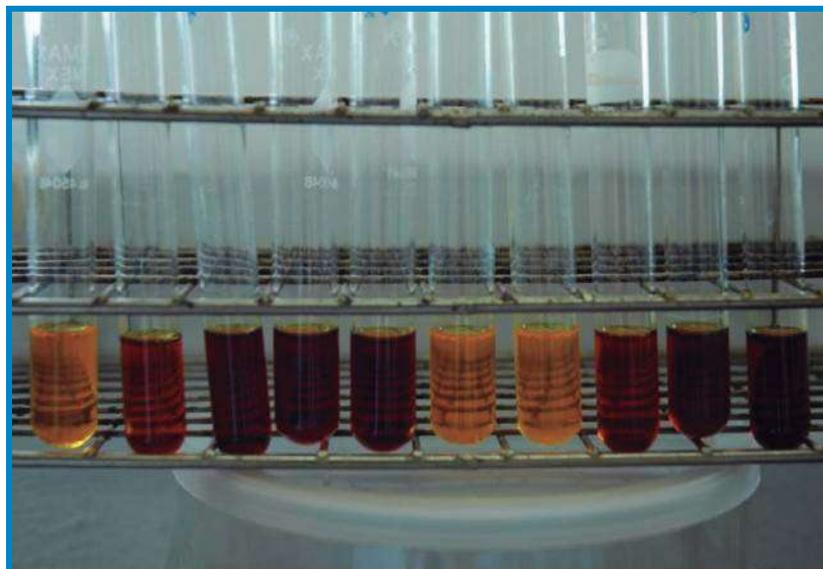


**Figura 34.** Efecto del 1-MCP en la actividad de la PG de frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C. Los frutos fueron expuestos a 300 (barras azules) y 0 (barras rojas)  $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$  de 1-MCP por 12 h a 5 °C.  $n=3$ , Tukey=0.05.





**Figura 35.** Curso temporal de poligalacturonasa de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C tratados con 1-MCP, utilizando como sustrato ácido poligalacturónico. Los tratamientos corresponden de izquierda a derecha a los días de muestro de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 y 1) Controles; 2) tratados.



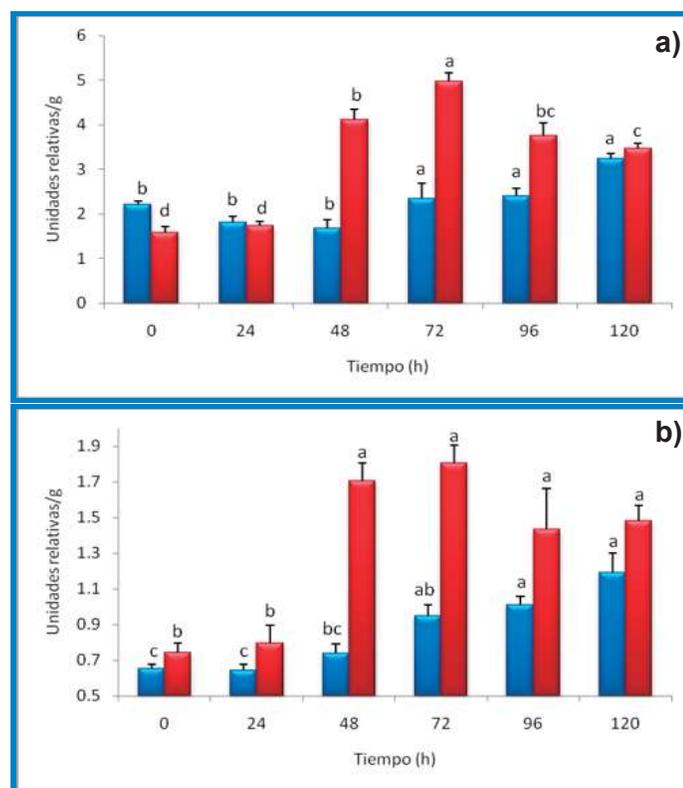
**Figura 36.** Cuantificación de azúcares reductores de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' con ácido poligalacturónico. El orden corresponde de izquierda a derecha los tiempos 0, 2, 4, 6, y 8 días de muestreo.





#### iv. Efecto del 1-MCP sobre la concentración de dienos y trienos.

Los frutos de aguacate sometidos a exposición de 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP presentaron una disminución en los niveles de dienos y trienos durante el proceso de maduración en anaquel en comparación con los frutos control con un comportamiento similar entre los dos diferentes compuestos incrementándose después de las 96 horas, manteniéndose una tasa de producción alta al final de la maduración. Los frutos control presentaron acumulación de dienos y trienos a partir de las 24 horas después del almacenamiento en cadena de frío disminuyendo a partir de las 72 horas (**figura 37**).



**Figura 37.** Efecto del 1-MCP en la acumulación de dienos (a) y trienos (b) de frutos de aguacate (*P. americana* Mill.) cv. 'Hass' en anaquel a 22 °C. Los frutos fueron expuestos a 300 (barras azules) y 0 (barras rojas) nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP por 12 h a 5 °C. Los datos son promedio de tres experimentos por separado. n=3, Tukey=0.05.





## VIII. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio nos muestran que el 1-MCP es eficaz en retardar el proceso de maduración del aguacate cv. 'Hass' y reducir así de esta manera su tasa de ablandamiento como ha sido reportado por Ochoa (2008), Feng *et al.* (2000), Adkins *et al.* (2005), Hershkovitz *et al.* (2005) y Woolf *et al.* (2005). El efecto inhibitor del 1-MCP se observó por 3 días al término de los cuales los frutos de aguacate retomaron su proceso natural de maduración hasta los 4 días de almacenamiento en anaquel a 22 °C.

Los resultados observados en este trabajo indican que 5 °C es una temperatura de aplicación eficaz para aguacate, como lo han reportado Lemmer y Kruger (2003) mientras que Mir *et al.* (2001) reportan que la eficacia del 1-MCP cuando es aplicado a bajas temperaturas se ve disminuida en caso de manzano. Hablando respecto al efecto de la concentración del 1-MCP, 100 nL·L<sup>-1</sup> fue eficaz en la disminución de desórdenes fisiológicos sin sobre extender el periodo de maduración después del almacenamiento mientras que 250 nL·L<sup>-1</sup> mantiene sin madurar un 30% de los frutos tratados (Woolf *et al.*, 2005); sin embargo, las concentraciones de 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> utilizadas en el presente estudio mostraron que todos los frutos tratados alcanzaron la maduración de consumo al cuarto día de vida de anaquel a 22 °C.

El proceso de maduración va acompañado por incrementos en la actividad de la G6PDH la cual aun no está clara la relación que existe dentro del proceso bioquímico en el consumo de glucosa y el aceleramiento del proceso de maduración en los frutos, ya que no ha sido reportado por ningún investigador. Las plantas utilizan rutas alternas para el metabolismo de la glucosa, la más importante es la correspondiente a la vía de las pentosas fosfato (Harbone y Dey, 1997), esta vía se asocia directamente con la defensa natural del fruto de





aguacate cv. 'Hass' en relación a la exposición de condiciones bióticas (patógenos del fruto). En el patrón de acumulación de G6PDH se apreció que en las primeras horas de anaquel, los frutos con 1-MCP no mostraron actividad enzimática, lo que lleva un retraso del inicio de la etapa climatérica y a un mayor periodo de vida de anaquel. En este estudio se ha demostrado que a 200 y 300 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP se logró inhibir de manera significativa la actividad de ésta enzima lo cual es de mucha importancia debido a que Tovar (2003) reporta que la G6PDH es una enzima que se encuentra relacionada con el proceso de crecimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad flor de mayo.

Un comportamiento similar al de la G6PDH mostró la PG, donde la maduración del fruto de aguacate estuvo acompañada por incrementos en la actividad de la enzima como lo han reportado otros estudios (Awad y Young, 1979; Jeong *et al.*, 2002). El patrón de acumulación de la PG fue similar al reportado por otros autores (Ochoa, 2008; Awad y Young, 1979; Jeong *et al.*, 2002), donde se aprecia que en las primeras horas de anaquel los frutos con 1-MCP no muestran actividad enzimática, lo que lleva un retraso del inicio de la etapa climatérica y a un mayor periodo de vida de anaquel. La fuerte respuesta de la PG al 1-MCP, ha sido reportada por Feng *et al.* (2000) quien señala que 30, 50 o 70 nL·L<sup>-1</sup> de 1-MCP suprimen la actividad de la PG entre 10 y 30% en aguacate cv. 'Hass'. Aún y cuando la actividad de la PG no fue detectada durante los primeros días por el efecto del 1-MCP, expresando recuperación a los 4 días.

La inducción del etileno sobre la acumulación de compuestos antifúngicos preformados en aguacate ya ha sido demostrada (Prusky y Keen, 1993) y tiene lugar durante el climaterio del fruto. Al afectar el 1-MCP las repuestas del etileno, de acuerdo a los resultados observados, los frutos tratados con 1-MCP no acumulan dienos ni trienos en el mismo nivel que los frutos control, lo que podría estar influenciando la incidencia de *stem-end rot* observada. Resultados similares





han sido reportados por Wang *et al.* (2006) quien señala el efecto negativo del 1-MCP sobre la acumulación de dienos y trienos y como consecuencia una mayor susceptibilidad de los frutos a *Colletotrichum gloeosporioides*.

Por los resultados obtenidos hemos establecido en el presente trabajo que el 1-MCP es efectivo para retardar la maduración de los frutos de aguacate cv. 'Hass' y en consecuencia aumentar la vida de anaquel del fruto cultivado en esta parte del mundo, si consideramos que los frutos experimentales fueron tratados 24 horas después de haber sido cosechados y almacenados 22 días en cámara de frío y que se mantuvieron en anaquel por 5 y 6 días reteniendo su calidad de consumo. Esto sin duda es una buena alternativa de manejo que debe ser considerada y evaluada bajo condiciones, para uso exclusivo en los envíos de fruta fresca a los mercados internacionales de acuerdo a Ochoa (2008).

Un aumento en el periodo de conservación del fruto de aguacate bajo condiciones ambientales aún cuando sean pocos días, es de gran importancia, si se considera la necesidad de ampliar los procesos de comercialización y las posibilidades del transporte del producto a mercados distantes. El hecho de que el 1-MCP sea un gas no tóxico, inodoro y efectivo a bajas concentraciones, lo convierte en una excelente herramienta postcosecha para estos frutos.





## **IX. CONCLUSION**

El 1-metilciclopropeno retrasa el proceso de maduración del aguacate (*Persea americana* Mill.) variedad 'Hass' afectando la actividad enzimática de G6PDH y disminuyendo la acumulación de dienos y trienos.





## X. BIBLIOGRAFÍA

- Abeles, F.B., Morgan, P., Saltveit, M.E. **1992**. Ethylene in Plant Biology, 2nd edition Academic Press, San Diego, CA.
- Adkins, M.F., Hofman, P.J., Stubbings, B.A., Macnish, A.J. **2005**. Manipulating avocado fruit ripening with 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 35: 33-42.
- Aguayo, E., Jansasithorn, R., Kader, A.A., **2006**. Combined effects of 1-methylcyclopropene, calcium chloride dip, and/or atmospheric modification on quality changes in fresh-cut strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 269–278.
- Aguilera, M.J.L. y Salazar, G.S., **1991**. The avocado industry in Michoacán, México. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*. 14: 94-97.
- Amiot, M., Tacchini, M., Aubert, S., Nicolas, J. **1992**. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.* 57: 3389-3402.
- Anguiano, C.J., Alcantar, R.J.J, Ruiz, C.J.A., González, A.I.J., Vizcaino, V.I., **2007**. Caracterización edafoclimática del área productora de aguacate de Michoacán, México. *VI Congreso Mundial del Aguacate*. Viña Del Mar, Chile.
- Asociación de Productores y Empacadores Exportadores de Aguacate de Michoacán, A.C. (APEAM) **(2008)** <http://www.apeamac.com> Marzo 2008.
- Awad, M., Young, R.E. **1979**. Post harvest variation in cellulase, polygalacturonase and pectinmethylesterase in avocado (*Persea Americana* Mill. cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol.* 64: 306-308.





- Awad, M., Young, R.E. **1980**. Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene, and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 105(5): 638-641.
- Biale, J.B. **1946**. Effect of oxygen concentration on respiration of 'Fuerte' avocado fruit. *Amer. J. Bot.* 23: 363-373.
- Biale, J.B., Young R.E., **1971**. The avocado pear in: Hulme, A.C. The biochemistry of fruit and their products. *Acad. Press, London* 2: 1-63.
- Barmore, C. R., Rouse, A.H. **1976**. Pectinesterase activity in controlled atmosphere stored avocados. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 101: 294-296.
- Blanke, M.M. **1991**. Respiration of apple and avocado fruits. *Posth. News. Inf.* 2: 429-436.
- Blanke, M.M., Whiley, A.W., **1995**. Bioenergetics, respiration cost and water relations of developing avocado fruit. *J Plant Physiol.* 145: 87-92.
- Blankenship, S.M., Dole, J.M., **2003**, 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology* 28: 1-25.
- Blumenfeld, A., Gazit, S., **1974**. Development of seeded and seedless avocado fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 99(5): 442-448
- Bosquez, M.E. **1992a**. Manual de prácticas de laboratorio de fisiología postcosecha de frutas y hortalizas. México, UAM-IZT. pp. 74.
- Bosquez, M.E. **1992b**. Actividad Respiratoria. Manual de prácticas de laboratorio de fisiología postcosecha de frutas y hortalizas. pp. 51-55
- Bower, J.P., Cutting, J.G.M. **1988**. Avocado fruit development and ripening physiology. *Hort. Rev.* 10: 229-271.





- Bower, J.P., Cutting, J.G.M., Truter, A.B. **1989**. Modified atmosphere storage and transport of avocados - what does it mean? *South Africa Avocado Growers Assoc. Yrb.* 2: 17-20.
- Brummell, D.A., Harpster, M.H. **2001**. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47: 311-340.
- Brummell, D.A., Dal Cin V., Crisosto C.H., Labavich J.M. **2004**. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *Journal of Experimental Botany* 55: 2029-2039
- Burg, S.P., Burg, E.A. **1965a**. Ethylene action and the ripening of fruits. *Science* 148: 1190-1196.
- Burg, S. P., Burg, E.A. **1965b**. Relationship between ethylene and ripening in bananas. *Bot. Gaz.* 126: 200-204.
- Casado-Vela, J., Sellés, S., Bru, R. **2005**. Purificación and kinetic characterization of polyphenol oxidase (PPO) from fruits (*Lycopersicon esculentum* cv. Muchamiel). *J. Food Biochem.* 29: 381-401.
- Cañizales Z.J., 1973. Los aguacateros. Edition Revolucionaria, Instituto Cubano del Libro. La Habana, Cuba.
- Chaplin, G.R., Wills, R.B.H., Graham, D. **1982**. Objective measurement of chilling injury in the mesocarp of stored *avocado*. *Hort. Science* 17: 238-239.
- Chazarra, S., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F. **1996**. Partial purification and characterization of latent polyphenol oxidase in iceberg lettuce (*Latuca sativa* L.) *J. Agric. Food Chem.* 44: 984-988.
- Chazarra, S., García-Carmona, F., Cabanes, J. **2001**. Hysteresis and positive cooperativity of iceberg lettuce polyphenol oxidase. *Biochem Biophys. Res. Comun.* 289: 769-775.





- Chazarra, S., García-Carmona, F., Cabanes, J. **2001**. Evidence for a tetrameric form of iceberg lettuce (*Latuca sativa*) polyphenol oxidase: purification and characterization. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4870-4875.
- Chen, L., Berenbaum, M. Zangerl, A., Engeseth, N. **2000**. Honeys from differential floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4997-5000.
- Cummings, K., Schroeder, C.A. **1942**. Anatomy of the avocado fruit. *California avocado Society Yearbook* 26: 56-64.
- Cutting, J.G.M., Bower, J.P., Wolstenholme, B.N., Hofman, P.J. **1990**. Changes in ABA, phenolic compounds and polyamines and their relationship with mesocarp discoloration in ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Journal Horticulture Science* 65: 465-71.
- Dallman, T.F., Thompson, W.W., Eaks, I.L., Nothnagel, E.A., **1989**. Expression and transport of cellulase in avocado mesocarp during ripening. *Protoplasma* 151: 33-46.
- Davenport, J.B., Ellis S.C. **1959**. Chemical changes during growth and storage of the avocado fruit. *Austral. J. Biol. Sci.* 12: 445-454.
- Ding, C.K., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y. **1998b**. Purification and properties of polyphenol oxidase from Loquat fruit. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4144-4149.
- Eaks, I.L. **1978**. Ripening, respiration and ethylene production of 'Hass' avocado fruits at 20 ° to 40 °C. *Journal American Society for Horticultural Science* 103: 576-578.
- Eaks, I.L. **1990**. Change in the fatty acid composition of avocado fruit during ontogeny, cold storage and ripening. *Acta Hort.* 269: 141-152.





- Fischer, R.L., Bennett A.B. **1991**. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 675-703
- FAO. **2007**. Base referencial mundial del recurso suelo. Roma. 103
- Feng, X., Apelbaum, A., Sisler, E.C., Goren, R., **2000**. Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 20: 143–150.
- Fraignier, N., Marqués, L., Fleuriet, A. Macheix, J.J. **1995**. Biochemical and immunochemical characteristics of polyphenol oxidases from different fruits of *Promus*. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2375-2380.
- Gandía-Herrero, F., García-Carmona, F., Escribano, J. **2004**. Purification and characterization of a latent polyphenol oxidase from root (*Beta vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 52: 606-615.
- Gertman, E., Fuchs, Y. **1974**. Changes in pectinmethylesterase (PME) activity caused by ethylene applied at different temperatures. *Plant & Cell Physiol.* 15: 501- 505.
- Golding, J.B., Shearer, D., Wyllie, S.G., McGlasson, W.B., **1998**. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening process in mature banana fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 87-98.
- Guillen, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Martinez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. **2006**. Efficacy of 1-MCP treatment in tomato fruit. 2. Effect of cultivar and ripening stage at harvest. *Postharvest Biol. Tech.* 42: 235-242.
- Halevy, A.H. **1987**. Recent advances in postharvest physiology of carnations. *Acta Horticultura* 216: 243-254.
- Hall, J.I., Flowers T.J., Roberts R.M. **1974**. Plant cell structure and metabolism. *Longman Group Limited*. London, pp 338 - 372.





- Hansen, E., Blanpied, G.D. **1968**. Ethylene induced ripening of pears in relation to maturity and length of treatment. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93: 807-812.
- Harbone, B.J., Dey M.P., **1997**. Plant Biochemistry. Academy Press. 1<sup>st</sup> ed. pp. 111-121.
- Hartill, W.F.T., Everett, K.R. **2002**. Inoculum sources and infection pathways of causing stem-end rots of 'Hass' avocado (*Persea americana*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 30: 249-260.
- Hatton, T.T., Reeder, W. **1972**. Quality of 'Lula' avocados stored in controlled atmospheres with or without ethylene. *Journal American Society Horticultural Science* 97(3): 339-142.
- Hatton, T.T., Reeder, W.F. **1972**. Relationship of bloom date to the size and oil content of Booth avocados. *The Citrus industry*, pp. 20-21.
- Hershknovitz, V., Saguy, S.I., Pesis, E. **2005**. Postharvest application of 1-methylcyclopropene to improve the quality of various avocado cultivars. *Posthervest Biology and Technology* 37: 252-264.
- Hiwasa, K., Nakano, R., Hashimoto, A., Mtsuzaki, M., Murayama, H., **2004**. European, Chinese and Japanese pear fruits exhibit differential softening characteristics during ripening. *Journal of Expermental Botany* 55: 2281-2290.
- Hobson, G.E. **1963**. Pectinesterase in normal and abnormal tomato fruit. *Biochemistry Journal* 86: 358 - 365.
- INEGI-SPP, **1985**. Carta de climas, Esc 1: 500 000. Síntesis Geográfica del Estado de Michoacán.





- Jansen, E.F., MacDonnell, R.L. **1945**. Influence of methoxyl content of pectic substances on the action of polygalacturonase. *Arch. Biochem.* 8: 97-112.
- Jeong, J., Huber, D.J., Sargent, S.A. **2002**. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on ripening and cell-wall matrix polysaccharides of avocado (*Persea americana*) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 25: 241-256.
- Jiang, Y., Jiarui, F. **2000**. Ethylene regulation of fruit ripening: molecular aspects. *Plant Growth Regul.* 30: 193-200.
- Jiang, Y., Joyce, D.C., Macnish, A.J., **1999**. Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. *Postharvest Biol. Technol.* 16: 187-193.
- Kahn, V. 1976. Polyphenol oxidase isoenzymes in avocado. *Phytochemistry* 15: 267-272.
- Kanh, V. **1977**. Latency properties of polyphenol oxidase in two avocado cultivars differing in their rate of browning. *J. Sci. Fd. Agric.* 28: 233 - 239.
- Kim, H.O., Hewett, E.W., Lallu, N., **2001**. Softening and ethylene production of kiwifruit reduced with 1-methylcyclopropene. *Acta Hort.* 553: 167-170.
- Kozlowski, T.T. 1992. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. *Bot. Rev.* 58: 107–222.
- Kremer-Kohne, S., **1999**. Hot water treatment of avocado fruit to induce cold tolerance. *South Africa Avocado Growers Assoc. Yrb.* 22: 48–51.
- Lee, C.Y., Whitaker, J. **1995**. Enzymatic browning and prevention, ACS Symposium Series 600, Washington, D.C; American Chemical Society Ed.





- Lee, S.K., Young, R.E., **1984**. Temperature sensitivity of avocado fruit in relation to C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> treatment. *Journal American Society for Horticultural Science* 108: 395-397.
- Lee, S.K., Young, R.E., Schiffman, P.M., Coggins, Jr, C. W. 1983. Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108 (3): 390-394.
- Lemmer D., Kruger, F.J. **2003**. Laboratory based evaluation of 1-methylcyclopropene (1-MCP): with five South African commercial export avocado cultivars. In: Proceedings of the Fifth World Avocado Congress, Malaga, Spain, pp. 611-616.
- Lerch, K., Sttinger, L., **1972**. Purification and characterization of a tyrosinase from *Streptomyces glaucenses*. *Eur. J. Biochemi.* 31: 239-437.
- Luza, J.G., Lizana L.A., Masson, L. **1990**. Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. *Acta Hort.* 269: 153–160.
- Mao, L., Wang, G., Que, F., **2007**. Application of 1-methylcyclopropene prior to cutting reduces wound responses and maintains quality in cut kiwifruit. *J. Food Eng.* 78: 361–365.
- Mayer, A.M., Harel, E. **1979**. Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry*. 18: 193- 215.
- Mayer, A.M., **1987**. Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry* 18: 11-20.
- Mazzafera, P., Robinson, S.P. **2000**. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry* 55: 285-296.
- Meir, S., Naiman, D., Akerman, M., Hyman, J.Y., Zauberman, G., Fuchs, Y., **1997**. Prolonged storage of 'Hass' avocado fruit using modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 12: 51-60.





- Mir, N.A., Curell, E. Kanh, N., Whitaker, M., Beaudry, R.M. **2001**. Harvest maturity, storage temperature, and 1-MCP application frequency alter firmness retention and chlorophyll fluorescence of 'Redchief Delicious' apples. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 126: 618-624.
- Murata, M., Kurokami, C. Homma, S. **1992**. Purification and some properties of chlorogenic acid oxidase from apple (*Malus pumila*). *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 1705-1710.
- Northcote, D.H. **1963**. The biology and chemistry of the cell walls of higher plants, algae and fungi. *International Review of Cytology* 14: 223 - 265.
- Ochoa A.S., **2007**. Enfermedades postcosecha del aguacate. Facultad de Agrobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México.
- Ochoa Asencio S., **(2008)**: Tesis de Doctorado en Ciencias. Respuestas bioquímicas y fisiológicas del aguacate 'Hass' al 1-metilciclopropeno (1-MCP). Universidad Autónoma de Nayarit.
- Oppenheimer, C.H. **1960**. Partial non-softening of avocado fruit. *J Agric. Res. Sta. Israel Ktavim* 10: 15 - 20.
- Ortega T.M.A., **2003**. Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate 'Hass'. V Congreso Mundial del Aguacate. Málaga, España. pp. 741-748.
- Osuna, G.J.A., Beltrán, J.A., Vázquez V.V. **2005**. Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre el comportamiento postcosecha del aguacate 'Hass'. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28: 1-8.
- Paul, B., Gorda, L.R. **2000**. Purification and characterization of a polyphenol oxidase from the sedes of Field vean (*Dolichos lablab*). *J. Agric. Food Chem.* 48: 3839-3846.





- Pelayo, C., Vilas-Boas, E.V. de B., Benichou, M., Kader, A.A., **2003**. Variability in responses of partially ripe bananas to 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 75–85.
- Pérez-Gilalbert, M., Morte, A., Honrubia, M., García-Carmona, F. **2001**. Partial purification, characterization, and histochemical localization of fully latent desert truffle (*Terfezia Claveryi Chatin*) polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 99: 1619-1625.
- Pesis, E., Fuchs, Y., Zauberman, G. **1978**. Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant physiol.* 61: 416-419.
- Pesis, E., Marinansky R., Zauberman R., Fuchs, Y.. **1994**. Prestorage low oxygen atmosphere treatment reduces chilling injury symptoms in Fuerte avocado fruit. *Hort. science* 29: 1042-1046.
- Pesis, E., Faiman, D., Dori, S.. **1998**. Postharvest effects of acetaldehyde vapour on ripening-related enzyme activity in avocado fruit. *Postharvest Biol. Technol* 13: 245-253.
- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. **2002**. Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 24: 171-181.
- Pesis, E., Hershkovitz, V., Friedman, H., Goldschmidt, E.E., **2009**. The role of the embryo and ethylene in avocado fruit mesocarp discoloration. *J Exp Bot.* 60(3): 791–799.
- Platt-Aloia, K.A, Thompson, W.W., Young, R.E. **1980**. Ultrastructural changes in the walls of ripening avocados: Transmission, scanning and freeze fracture microscopy. *Bot. Gaz.* 14: 366-373.





- Prusky, D., Keen, N.T. **1993**. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant. Dis.* 77: 115-119.
- Roth I. **1977**. Fruits of angiosperms. Gebrüder borntraeger. Berlin, Germany.
- Robinson, S.P., Dry, I.B. **1992**. Broad bean leaf polyphenol oxidase is a 60-kilodalton protein susceptible to proteolytic cleavage. *Plant Physiol.* 99: 317-323.
- Rodríguez, F.I., Esch, J.J., Hall, A.E., Binder, B.M., Schaller, G.E., A. Bleecker. **1999**. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* 283: 996- 998.
- Ruiz V.G., **1912**. Cultivo y explotación del aguacate. *Secretaría de fomento, dirección general de agricultura, estación agrícola central*. San Jacinto, D.F. México. Boletín núm. 71.
- Sánchez-Ferrer, A., Laveda, F., García-Carmona, F. **1993**. Substrate-Dependent activation of latent potato leaf polyphenol oxidase anionic surfactants. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1583-1586.
- Schroeder, C.A., **1953**. Growth and development of the fuerte avocado fruit. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 61: 103-109.
- Schroeder, C.A., **1958**. Growth and development of the avocado fruit. *California Avocado Society Yearbook* 42: 114-118.
- Schroeder, C.A., **1985**. Aberrant fruit development in avocado. *South African avocado Grower's Association Yearbook* 8: 27-28
- Scott, K.J., Chaplin, G.R., **1978**. Reduction of chilling injury in avocados stored in sealed polyethylene bags. *Trop. Agric. (Trinidad)* 55, 87-90. fruit, cut flowers and potted plants. *Acta Hortic.* 394: 337-345.





- Serradell, M.A., Rozenfeld, P.A., Martínez, G.A., Civello, P.M., Chaves, A.R., Añon, M.C. **2000**. Polyphenol oxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch., cv. Selva): characterization and partial purification. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1421-1427.
- Serrano, M., Romojaro, F., Casas, J.L., del Río, J., Acosta, M. **1990**. Action and mechanism of -aminoisobutyric acid as a retardant of cut carnation senescence. *Scientia Horticulturae* 4: 127-134.
- Seymour, G.B., Tucker, G.A. **1993**. Avocado. In: Seymour G.B., Tayler, J., Trucker, G.A. (Eds), *Biochemistry of fruit ripening*. Chapman and Hall, London, pp. 53-81.
- Seymour, G.B., Manning, K., Eriksson, E.M., Popovich, A.H. and King, G.J. **2002**. Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. *Journal of Experimental Botany* 53(377), pp. 2065-2071.
- Shi, C., Dai, Y., Xu, X., Xie, Y., Liu, Q. **2002**. The purification of polyphenol oxidase from tobacco. *Protein expression and purification* 24: 51-55.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) **(2010)** <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> Marzo 2010.
- Sisler, E.C., Wood, C. **1988**. Competition of unsaturated compounds with ethylene for binding and action in plants. *Plant Growth Regul.* 7: 181-191.
- Sisler, E.C., Reid, M.S., Yang, S.F., **1986**. Effect of antagonists of ethylene action on binding of ethylene in cut carnations. *Plant Growth Regul.* 4: 213-218.
- Sisler, E.C., Blankenship, S.M., **1993**. Diazocyclopentadiene, a light sensitive reagent for the ethylene receptor. *Plant Growth Regul.* 12: 125-132.





- Sisler, C.E., Serek, M. **1997**. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Receptor developments. *Physiol. Plant.* 100: 577-582.
- Sisler, C.E., Serek, M. **1999**. Compounds controlling ethylene receptor. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 40: 1-7.
- Spalding, D.H. **1976**. Proc. 1st Intl. tropical fruit short course: The avocado Storage of avocados. Univ. Fla. Press, Gainesville. pp. 109–113
- Tomer, E.; Gottreich, M.; Gazit S., **1976**. Defective ovules in avocado cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 101(5): 620-623.
- Tovar Cortés G., **(2003)**: Tesis de Licenciatura. Determinación de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa dependiente de NADPH de frijol (*Phaseous vulgaris*) variedad flor de mayo. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- van Alvorst, A.C., Bovy, A.G. **1995**. The role of ethylene in the senescence of carnation flowers, a review. *Plant Growth Regulation* 16: 43-53.
- van Lelyveld, L.J., Bower, J.P. **1984**. Enzyme reactions leading to avocado mesocarp discolouration. *Journal of Horticultural Science* 59: 257-263.
- van Buren, J.P. **1979**. The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal Texture Studies* 10: 1-23.
- Vilas-Boas, E.V. de B., Kader, A.A., **2006**. Effect of atmospheric modification, 1-MCP and chemicals on quality of fresh-cut banana. *Postharvest Biol. Technol.* 39: 155–162.
- Wakabayashi, K. **2000**. Changes en cell wall polysaccharides during fruit ripening. *Journal of Plant Research* 113: 231-237.





- Wang, X., Kobiler, I., Lichter, A., Leikin, A., Pesis, A., Prusky, D. **2006**. 1-MCP prevents ethylene-induced accumulation of antifungal diene in avocado fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67: 261-267.
- Wang, H., Woodson, W.R. **1989**. Reversible inhibition of ethylene action and interruption of carnation petal senescence by norbornadiene. *Plant Physiology* 89: 434-438.
- Whiley, A.W., Schaffer, B., **1994**. Avocado. CRC handbook of environmental physiology of fruit crops. Subtropical and tropical crops. CRC Press, Boca Raton, Fla. 2: 1–35.
- Whiley, A.W., Schaffer, B., Lara, S.P. **1992**. Carbon dioxide exchange of developing avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Tree Physiol.* 11: 85–94.
- Wolstenholme, B.N. **1986**. Energy costs of fruiting as a yield-limiting factor with special reference to avocado. *Acta Hort.* 175: 121–126.
- Woolf, A. B., Bowen, J.H., Ball, S., Durand, S., Laidlaw, W. G. Ferguson, I. B. **2004**. A delay between a 38 °C pretreatment and damaging high and low temperature treatments influences pretreatment efficacy in ‘Hass’ avocados. *Postharvest Biology and Technology* 34(2): 143-153.
- Woolf, A.B., Watkins, C.B., Bowen, J.H., Lay-Yee, M., Maindonald, J.H., Ferguson, I.B. **1995**. Reducing external chilling injury in stored ‘Hass’ avocados with dry heat treatments. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:, 1050-1056.
- Woolf, A.B., Requejo-Tapia, C., Cox, K.C., Jackman, R.C., Gunson, A., Arpaia, M.L., White, A. **2005**. 1-MCP reduces physiological storage disorders of ‘Hass’ avocados. *Postharvest Biology and Technology* 35: 43-60.





- Yahia, E.M. **2001**. Manejo Postcosecha del Aguacate. *In: Memorias del 1er Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate*. Uruapan, Michoacán, México. pp. 295-304.
- Young, R.E., Romani, R.J., Biale J.B., **1962**. Carbon dioxide effect on fruit respiration. II. Response of avocado, bananas and lemons. *Plant Physiol.* 37: 416-422.
- Zauberman, G., Schiffmann-Nadel, M., **1972**. Pectin methylesterase and polygalacturonase in avocado fruit at various stages of development. *Plant Physiol.* 49: 864-865.
- Zauberman, G., Fuchs, Y., Yanko, U., Akerman, M., **1988**. Response of mature avocado fruit to postharvest ethylene treatment applied immediately after harvest. *Hort. Science* 23: 588–589.
- Zhulin, I.B., Taylor, B.L., Dixon, R. **1997**. PAS is an acronym for a domain present in *Drosophila* Per, mammalian Arnt, and *Drosophila* Sim, *Trends Biochem. Sci.* 22: 331.

