



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA Y DAÑOS POR FRÍO EN FRUTOS DE
NANCHE (*Byrsonima crassifolia* L.)**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

Presenta:

KAREN ANDREA RIVERA CORREA

Bajo la supervisión de:

**SALVADOR VALLE GUADARRAMA, DOCTOR EN CIENCIAS DE LA
FISIOLOGÍA VEGETAL**



Chapingo, Estado de México, febrero de 2021.



APROBADA

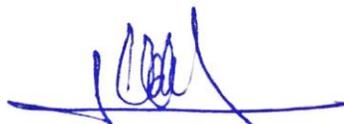


COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA Y DAÑOS POR FRÍO EN FRUTOS DE NANCHE (*Byrsonima crassifolia* L.)

Tesis realizada por **KAREN ANDREA RIVERA CORREA** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

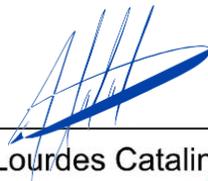
DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

DIRECTOR:



Dr. Salvador Valle Guadarrama

ASESORA:



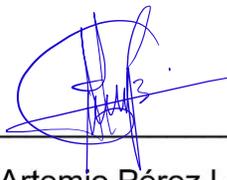
Dra. Ma. de Lourdes Catalina Arevalo Galarza

ASESOR:



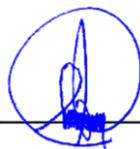
Dr. Iran Alia Tejacal

ASESOR:



Dr. Artemio Pérez López

LECTOR EXTERNO:



Dra. Montserrat Calderón Santoyo

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIAS	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
RESUMEN GENERAL	xi
GENERAL ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivo General.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Hipótesis	3
1.4 Organización de la tesis	3
1.5 Literatura citada	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 El nanche (<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth)	6
2.1.1 Características del fruto de nanche.....	6
2.1.2 Taxonomía del fruto.....	8
2.1.3 Importancia socioeconómica.....	9
2.1.4 Cultivo	10
2.1.5 Desarrollo del fruto.....	13
2.1.6 Índices de cosecha y comportamiento postcosecha.....	13
2.1.7 Composición.....	18
2.1.8 Efectos del nanche en la salud.....	22
2.1.9 Usos del nanche	25
2.2 Los daños por frío en la postcosecha de frutas.....	26
2.2.1 El estrés oxidativo en las plantas.....	26
2.2.2 Mecanismo de acción del daño por frío en productos hortícolas.....	29
2.2.3 Respuestas físicas, fisiológicas y bioquímicas de los frutos al daño por frío	33

2.2.4 Alteraciones de las membranas con daño por frío	41
2.2.5 Sistemas de defensa antioxidante.....	43
2.2.6 Papel del etileno	46
2.2.7 Tratamientos para la reducción de daños por frío en frutos	47
2.2.8 Evaluación de los daños por frío.....	48
2.3 Literatura citada	54
3. CALIDAD DE FRUTOS DE NANCHE (<i>Byrsonima crassifolia</i>) COSECHADOS EN DIFERENTE MADUREZ.....	67
3.1 Resumen.....	67
3.2 Introducción	69
3.3 Materiales y métodos.....	70
3.3.1 Material vegetal.....	70
3.3.2 Organización experimental	70
3.3.3 Variables de respuesta.....	71
3.4 Resultados.....	73
3.4.1 Pérdida de peso	73
3.4.2 Apariencia	74
3.4.3 Firmeza	75
3.4.4 Color	78
3.4.5 Respiración y producción de etileno.....	79
3.4.6 Sólidos solubles, acidez y azúcares.....	81
3.4.7 Vitamina C	84
3.4.8 Carotenoides.....	84
3.4.9 Compuestos fenólicos	85
3.4.10 Actividad antioxidante.....	89
3.5 Discusión.....	90
3.6 Conclusiones.....	93
3.7 Literatura citada	93
4. ESTUDIO DE DAÑOS POR FRÍO EN FRUTOS DE NANCHE (<i>Byrsonima crassifolia</i>): VARIABLES POSTCOSECHA, COMPOSICIÓN Y ENZIMAS	100
4.1 Resumen.....	100
4.2 Introducción	102
4.3 Materiales y métodos.....	104
4.3.1 Material vegetal.....	104

4.3.2 Organización experimental	105
4.3.3 Variables de respuesta	106
4.4 Resultados y discusión	109
4.4.1 Pérdida de peso	109
4.4.2 Firmeza	110
4.4.3 Color	114
4.4.4 Tasa de respiración y producción de etileno.....	115
4.4.5 Fuga de electrolitos	118
4.4.6 Acidez y pH	120
4.4.7 Sólidos solubles totales, azúcares totales y azúcares reductores	122
4.4.8 Vitamina C y carotenoides	126
4.4.9 Fenoles solubles totales y flavonoides.....	130
4.4.10 Proteína y actividad enzimática	132
4.5 Conclusiones.....	135
4.6 Literatura citada	135
5. CONCLUSIONES GENERALES	142

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición (%) del fruto de nanche en estado de madurez verde (FV) y madurez comestible (FM) y de semilla de fruto en madurez comestible (SFM).	19
Cuadro 2. Contenido de minerales en pulpa y semilla de fruto de nanche.	21
Cuadro 3. Daños causados por temperaturas de refrigeración a diversas frutas y hortalizas.	35
Cuadro 4. Comparación de medias de tratamiento para variables físicas de frutos de nanche afectadas por la temperatura, y estado de madurez a la cosecha.	74
Cuadro 5. Atributos de calidad de frutos de nanche afectados por la maduración en planta.....	77
Cuadro 6. Comparación de medias para variables químicas de frutos de nanche afectadas por la temperatura y el estado de madurez.	80
Cuadro 7. Comparación de medias de tratamiento para variables fitoquímicas y actividad antioxidante de frutos de nanche afectados por la temperatura y el estado de madurez.	87
Cuadro 8. Tratamientos de bajas temperaturas en frutos de nanche.	105
Cuadro 9. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la pérdida de peso y la firmeza, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.	111
Cuadro 10. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables de frutos de nanche almacenados en temperaturas bajas.....	112
Cuadro 11. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para los parámetros de color, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.....	113
Cuadro 12. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para respiración y etileno, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.....	117
Cuadro 13. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la fuga de electrolitos, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.	119
Cuadro 14. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para las variables químicas de acidez y pH, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.	121
Cuadro 15. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para SST, azúcares totales y reductores.	123
Cuadro 16. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para vitamina C y carotenoides, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.....	128
Cuadro 17. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para fenoles solubles totales y flavonoides, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.	131
Cuadro 18. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la proteína y enzimas, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.	133

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol, frutos y hojas de nanche de la región de Amacuzac, Morelos, México.	7
Figura 2. Modelo conceptual para el rango de sensibilidad para diferentes síntomas de daños por frío en un determinado régimen de tiempo-temperatura en frutos de jitomate <i>Solanum Lycopersicum</i> . Cada estudio se representó en un eje de tiempo-temperatura (Biswas, East, Hewett, & Heyes, 2016).....	32
Figura 3. Esquema del inicio y desarrollo de los daños por frío en células vegetales sensibles	34
Figura 4. Pérdida de peso, apariencia, firmeza y atributos de color de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.	76
Figura 5. Actividad respiratoria, producción de etileno y contenido de sólidos solubles totales, acidez, azúcares totales y azúcares reductores de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.	83
Figura 6. Contenido de vitamina C, carotenoides, fenoles solubles totales, flavonoides y actividad antioxidante de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.	88
Figura 7. Frutos de nanche (<i>Byrsonima crassifolia</i>) de la región de Tepic, Nayarit, en el árbol (izquierda) y en madurez de consumo (derecha).	104

DEDICATORIAS

A Dios y a mis padres

Por la vida, por acompañarme y guiarme a cada instante, para alcanzar mi destino.

A mi hermano Iván

Por la risa y el cariño

Y a todos aquéllos que aman a la madre tierra y sus bondadosos frutos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo por haberme abierto sus puertas al conocimiento y sabiduría en el Doctorado en Ciencias Agroalimentarias.

A mi director de tesis, Dr. Salvador Valle Guadarrama, por su aceptación y apoyo constante para la realización de este proyecto; así como al comité académico que me respaldó: conformado por la Dra. Ma. de Lourdes Catalina Arevalo Galarza, el Dr. Artemio Pérez López, y el Dr. Iran Alía Tejacal, quien me apoyó, además, en la realización de mi estancia de investigación en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Todos ellos grandes profesionales y mentores.

A los laboratorios de la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo proporcionado para la determinación de variables.

Al CONACYT por otorgarme el apoyo económico para la realización de mis estudios de postgrado.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: Karen Andrea Rivera Correa

Fecha de nacimiento: 30 de noviembre de 1986

Lugar de nacimiento: México, Distrito Federal.

CURP: RICK861130MDFVRR02

Profesión: Química de alimentos

Cédula profesional: 7386352(Licenciatura), 9944153(Maestría)

Desarrollo académico

Bachillerato: Colegio de Ciencias y Humanidades. Plantel Oriente. Universidad Nacional Autónoma de México. 2001-2004. Promedio: 8.59

Licenciatura en Química de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. 2004-2011 Ced. Prof. 7386352. Promedio: 8.26

Maestría en Ciencias en el Postgrado en Recursos genéticos y productividad-Fruticultura. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. 2014-2016. Ced. Prof. 9944153. Promedio: 9.3

RESUMEN GENERAL

Comportamiento postcosecha y daños por frío en frutos de nanche (*Byrsonima crassifolia*)

El nanche (*Byrsonima crassifolia*), es un fruto generalmente de color amarillo en estado maduro, dulce y pequeño, con fuerte aroma, que se cosecha cuando ocurre la abscisión natural de la planta. La vida postcosecha, es menor a cinco días en condiciones ambientales y la maduración y el comportamiento postcosecha no han sido completamente caracterizados. El objetivo de este estudio fue evaluar cambios físicos, fisiológicos y composicionales, en frutos de nanche en postcosecha, mediante un manejo controlado de la madurez en la cosecha, temperatura y tiempo de almacenamiento, para favorecer el alargamiento de la vida de anaquel. Frutos en estado verde, cambiante y amarillo, se manejaron a 15 y 25 °C en postcosecha. El comportamiento en estado cambiante, mostró que el fruto puede cosecharse en esta condición, y con manejo refrigerado, la vida de anaquel puede extenderse a 15 d, con atributos de calidad física y composicional adecuados, alta concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, pero debe desarrollarse un índice de cosecha adecuado, que puede basarse en cambios de sólidos solubles totales. Para evaluar el uso de refrigeración en condiciones similares a las usadas comercialmente, se almacenaron frutos en estado de madurez de consumo a 4, 8 y 20 °C por 20 d. El manejo a 4 °C causó daño por frío, que se evidenció con aumento de la producción de etileno después del traslado a una condición térmica ambiental, aumento de fuga de electrolitos, alteración de la velocidad de cambio de atributos de color, mayor ablandamiento, mayor concentración de sólidos solubles totales y contenido de flavonoides, menor contenido de azúcares y carotenoides, así como alteración de enzimas antioxidantes como peroxidasa y catalasa. Los frutos manejados a 8 °C también presentaron síntomas de daños por frío, pero sólo algunas variables se afectaron, entonces el desorden fisiológico se calificó como leve.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, comportamiento postcosecha, daño por frío, madurez en la cosecha, refrigeración

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M.C. Karen Andrea Rivera Correa

Director de Tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

GENERAL ABSTRACT

Postharvest behavior and chilling injury in nance (*Byrsonima crassifolia*) fruits

The nance (*Byrsonima crassifolia*) is a fruit generally yellow in color when ripe, sweet and small, with a strong aroma, which is harvested when the natural abscission of the plant occurs. Postharvest life is less than five days under environmental conditions, ripening and postharvest behavior have not been fully characterized. The objective of this study was to evaluate physical, physiological, and compositional changes in nance fruits in postharvest, through controlling maturity at harvest, storage temperature, and storage time, to favor the lengthening of shelf life. Fruits at green, transient and yellow mature state were handled at 15 and 25 °C in postharvest. The behavior at transient state showed that fruits can be harvested in this condition and, with refrigerated handling, the shelf life can be extended to 15 d, with adequate physical and compositional quality attributes, with a high concentration of bioactive compounds, and antioxidant activity, but a suitable harvest index must be developed, which can be based on changes of total soluble solids. To evaluate the use of refrigeration under similar conditions to those used commercially, ripe fruits were stored at 4, 8, and 20 °C for 20 d. Handling at 4 °C caused chilling injury, which was evidenced by increase in ethylene production after transfer to an environmental thermal condition, increase in electrolyte leakage, alteration in the rate of change of color attributes, greater softening, higher concentration of total soluble solids, higher content of flavonoids, lower content of sugars and carotenoids, as well as alteration of antioxidant enzymes such as peroxidase and catalase. Fruits handled at 8 °C showed symptoms of chilling injury, but only some variables were affected, so the physiological disorder was qualified as mild.

Key words: *Byrsonima crassifolia*, chilling injury, maturity at harvest, postharvest behavior, refrigeration.

Doctoral thesis. Doctorado en Ciencias Agroalimentarias. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo

Author: M.C. Karen Andrea Rivera Correa

Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) se desarrolla en regiones tropicales y subtropicales como Florida en USA, México, América Central y algunos países de Sudamérica. Su importancia radica en que sus hojas, frutos, semillas y corteza contienen compuestos bioactivos que tienen actividad biológica de tipo antiinflamatorio (García et al., 2013, 2012), antidepresivo (Herrera-Ruiz et al., 2011), antidiabético (Pérez & Muñiz, 2016) y, en general, se han reconocido capacidad para reducir radicales libres, debido a sus propiedades antioxidantes (Mariutti et al., 2014).

La especie produce un fruto que constituye una drupa redonda con pulpa cremosa y piel que cambia de verde hacia amarillo-naranja o rojo cuando madura (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015; Rivas-Castro, Martínez-Moreno, Alia-Tejacal, & Pérez-López, 2019). El fruto de nanche es colectado cuando llega el tiempo de su abscisión natural (Medina-Torres, Salazar-García, & Gómez-Aguilar, 2004), por lo que su vida postcosecha es menor a 5 d a 20 °C (Rivas-Castro et al., 2019) y su comercialización está restringida a mercados locales y áreas de producción. En tal sentido, ya sea que el fruto se destine al consumo en fresco o sea procesado para extraer compuestos bioactivos, la vida en el periodo postcosecha debe ser extendida para preservar su calidad, por lo que es importante estudiar el proceso de maduración y evaluar su comportamiento fisiológico durante esa fase, donde pueden variar las propiedades físicas, químicas, fisiológicas y compuestos antioxidantes con el estado de madurez e incluso el almacenamiento refrigerado podría tener una influencia importante sobre estas propiedades. Asimismo, es necesario estudiar temperaturas de almacenamiento más bajas que se puedan utilizar para extender la vida útil sin que se desarrollen daños por frío.

Algunos frutos (generalmente tropicales o subtropicales), son susceptibles a experimentar daños por frío al almacenarse a bajas temperaturas, debido a que se promueve un estrés oxidativo que origina especies reactivas de oxígeno (ROS), que incluyen anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, óxido nítrico y peroxinitrilo, que conducen a daños en las membranas celulares y desviaciones metabólicas (Valenzuela et al., 2017). Estos daños afectan la apariencia externa del fruto y pueden incluir daño de la superficie, pérdida de firmeza, pérdida de peso, picado, hundimiento, decoloración, manchas translúcidas empapadas en agua, áreas empapadas en agua y lesiones profundas que pueden alcanzar tejidos subepidérmicos (Fernández-Trujillo & Martínez, 2006; Valenzuela et al., 2017). Algunos cambios ocurren a nivel celular; entre ellos, están alteraciones de la membrana celular, plasmólisis e incremento de fuga de electrolitos (Fernández-Trujillo & Martínez, 2006; Kratsch & Wise, 2000; Valenzuela et al., 2017). Otros cambios implican alteraciones en el metabolismo, incluyendo mayor producción de etileno y la acumulación de compuestos anormales como malonildialdehído (MDA), resultado de la respiración anaeróbica o daño oxidativo (Megías et al., 2016).

El presente trabajo se desarrolló con los siguientes objetivos:

1.1 Objetivo General

Caracterizar los cambios físicos, fisiológicos y composicionales de frutos de nanche (*Byrsonima crassifolia*) en el periodo postcosecha, a través de un manejo controlado de la madurez en la cosecha, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, para favorecer el alargamiento de la vida de anaquel.

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del estado de madurez de frutos de nanche en la cosecha sobre el comportamiento postcosecha, a través de la evaluación de atributos de calidad y un manejo a temperatura controlada, para favorecer el alargamiento de la vida de anaquel.

- Evaluar el comportamiento postcosecha de frutos de nanche manejados en refrigeración, a través de la caracterización de variables que tipifican los daños por frío, para determinar condiciones adecuadas de almacenamiento.

1.3 Hipótesis

- El fruto de nanche tiene un comportamiento de tipo no climatérico.
- La madurez al momento de la cosecha determina el comportamiento postcosecha del fruto de nanche.
- La vida de anaquel del fruto de nanche puede extenderse si la cosecha se realiza en una etapa previa al estado de madurez comercial, que constituye el momento de abscisión de la planta.
- La refrigeración puede favorecer el alargamiento de la vida de anaquel del fruto de nanche.
- El fruto de nanche es un material susceptible de experimentar daños por frío en condiciones de refrigeración.

1.4 Organización de la tesis

El documento de tesis está organizado con capítulos en formato de artículo. Después de la Introducción General, el segundo capítulo presenta una revisión detallada del fruto de nanche, desde la clasificación taxonómica de la especie, los aspectos agronómicos, hasta la descripción del comportamiento postcosecha, la composición fitoquímica y los usos más sobresalientes. En el mismo capítulo se revisan aspectos relacionados con el comportamiento de frutos afectados por daños por frío, que constituye uno de los aspectos abordados en el trabajo. El tercer capítulo está enfocado en la evaluación de la modificación de los atributos de calidad del fruto de nanche en función de la maduración en la planta, la condición fisiológica a la cosecha y la temperatura de almacenamiento, para lo cual se cosecharon frutos en tres estados de madurez, verdes, cambiantes y amarillos, y se implementaron manejos controlados a 15 y 25 °C. Se encontró que el manejo refrigerado de frutos cambiantes pudo extender la vida postcosecha hasta por 15 d, manteniendo atributos de calidad física y composicional adecuados, incluyendo una alta concentración de compuestos

bioactivos y actividad antioxidante, pero debe desarrollarse un índice adecuado de cosecha que puede basarse en la variación de sólidos solubles totales. El cuarto capítulo se enfocó a la evaluación de respuestas fisiológicas asociadas con la manifestación de los síntomas de daño por frío (DF) en frutos de nanche y, a través del estudio de variables físicas, fisiológicas, composicionales y relacionadas con la actividad en enzimas como catalasa y peroxidasa, se estudió el daño por frío en frutos manejados a 4 y 8 °C. Al respecto, los cambios en las variables indicaron un daño por frío de leve a moderado que presentó más manifestaciones a 4 °C que a 8 °C.

1.5 Literatura citada

- Fernández-Trujillo, J. P., & Martínez, J. A. (2006). Ultrastructure of the onset of chilling injury in cucumber fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *80*(2), 100–110.
- García, M., Michelangeli, F., Fernández, Á., Villamizar, J., Salazar, F., & Taylor, P. (2013). Anti-inflammatory effects of (+)-catechin isolated from the bark of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *79*(13). <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352069>
- García, M., Villamizar, J. E., Salazar, F., Ibarra, C., Michelangeli, F., Ruiz, M. C., & Taylor, P. (2012). Anti-inflammatory effects of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *78*, PI130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1055/s-0032-1320817>
- Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Reyes-Chilpa, R., León, E., García, M. P., & Huerta-Reyes, M. (2011). Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, *18*(14), 1255–1261. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.018>
- Kratsch, H. A., & Wise, R. R. (2000). The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell and Environment*, *23*(4), 337–350. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x>
- Mariutti, L. R. B., Rodrigues, E., Chisté, R. C., Fernandes, E., & Mercadante, A. Z. (2014). The Amazonian fruit *Byrsonima crassifolia* effectively scavenges reactive oxygen and nitrogen species and protects human erythrocytes against oxidative damage. *Food Research International*, *64*, 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.032>
- Medina-Torres, R., Salazar-García, S., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Fruit

- quality indices in eight nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) selections. *HortScience*, 39(5), 1070–1073. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.1070>
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., García, A., del Mar Reboloso-Fuentes, M., Valenzuela, J. L., ... Jamilena, M. (2016). Ethylene biosynthesis and signaling elements involved in chilling injury and other postharvest quality traits in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Postharvest Biology and Technology*, 113, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.001>
- Neves, L. C., Tosin, J. M., Benedette, R. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chemistry*, 174, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.111>
- Pérez, G. R. M., & Muñiz, R. A. (2016). Hypoglycemic Effects of sesquiterpene lactones from *Byrsonima crassifolia*. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 1135–1145. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0182-8>
- Rivas-Castro, S. F., Martínez-Moreno, E., Alia-Tejacal, I., & Pérez-López, A. (2019). Physical and physiological changes in phenotypes of nance [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] with different harvest maturity. *Scientia Horticulturae*, 256(July), 108620. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108620>
- Valenzuela, J. L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D., & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: Postharvest technological and biotechnological solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18071467>

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth)

2.1.1 Características del fruto de nanche

Byrsonima crassifolia (L.) Kunth, cuyo basónimo es *Malpighia crassifolia* L. (Kunth, 1821), es una especie de la familia Malpighiaceae que se desarrolla en regiones con clima tropical y subtropical como Florida, en Estados Unidos, donde es un material exótico, así como México, Centroamérica y algunos países de Sudamérica, donde es un material nativo. Se le nombra de muy diversas maneras, particularmente como *golden spoon* o *nance* en inglés, nanche en español y *murici do campo*, *murici da praia* o simplemente *murici* en portugués, entre otras formas (Bayuelo-Jiménez, 2008; Orwa, Mutua, Kindt, Jamnadass, & Simons, 2009). Es una especie que se cultiva poco en plantaciones comerciales y se le encuentra más bien en estado semi-silvestre (Duarte & Paull, 2015). Diversos estudios han resaltado la importancia de esta especie en virtud de que sus hojas, frutos, semillas e incluso corteza de tronco y ramas contienen compuestos bioactivos que pueden usarse como antiinflamatorios (García et al., 2013; Maldini et al., 2009; Pérez & Muñiz, 2016), antidepresivos (Herrera-Ruiz et al., 2011) antidiabéticos (Pérez & Muñiz, 2016) y en general para reducir el efecto de radicales libres por sus propiedades antioxidantes (Mariutti, Rodrigues, Chisté, Fernandes, & Mercadante, 2014) y fotoquímico-protectivas (Oliveira, Souza, et al., 2018).

El fruto de nanche (**Figura 1**) es una drupa de forma aproximadamente redonda, cuyo diámetro puede variar desde 0.9 (Da Silva et al., 2016) hasta 3.0 cm (Duarte & Paull, 2015), con una semilla que representa sólo el 10.2 % del peso en fase verde y el 14.4 % en estado maduro (Duarte, 2011).

El fruto tiene pulpa carnosa de tonalidad amarillenta y piel que cambia de verde a amarillo-naranja o rojo con la maduración (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015; Rivas-Castro, Martínez-Moreno, Alia-Tejacal, & Pérez-López, 2019). El fruto de nanche (*Byrsonima crassifolia*) es muy perecedero y tiene vida de anaquel menor a cinco días a 20 °C (Rivas-Castro et al., 2019) y de sólo cuatro días a 25 °C (Belisário & Coneglian, 2013), por lo que su comercialización y consumo se limitan frecuentemente a mercados locales y zonas de producción (Bayuelo-Jiménez, 2008).

El fruto de nanche ha sido catalogado como climatérico por Rivas-Castro et al. (2019) y Da Silva et al. (2016), pero como no-climatérico por Neves, Tosin, et al. (2015). De acuerdo con el criterio de los productores, el fruto de nanche se colecta comúnmente cuando llega el momento de su abscisión natural y cae al suelo (Medina-Torres, Salazar-García, & Gómez-Aguilar, 2004; Rivas-Castro et al., 2019), con lo cual se le da trato de fruto no-climatérico y ello explica su corta vida de anaquel.



Figura 1. Árbol, frutos y hojas de nanche de la región de Amacuzac, Morelos, México.

2.1.2 Taxonomía del fruto

La jerarquía taxonómica del nanche se ha establecido en la siguiente forma (ITIS, 2020): • Reino: *Plantae*, • Subreino: *Viridiplantae*, • Infrareino: *Streptophyta*, • Superdivisión: *Embryophyta*, • División: *Tracheophyta*, • Subdivisión: *Spermatophyta*, • Clase: *Manoliopsida*, • Superorden: *Rosanae*, • Orden: *Malpighiales*, • Familia: *Malpighiaceae*, • Género: *Byrsonima* Rich. Ex Kunth, • Especie: *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth.

La especie fue clasificada en 1821 por Carol Sigismund Kunth y la descripción está plasmada en la obra *Nova Genera et Species Plantarum* (Kunth, 1821), cuyo texto original se muestra a continuación:

“B. foliis subrotundo-ellipticis, breviter acuminatis, basi cuneatis, supra glabris, subtus, ramulis calycibusque incano-tomentosis, 10-glandulosis; racemis simplicibus.

Malpighia crassifolia Linn. (*auct. Willd.*) Aubl. *Guyan.* I. p. 457. t. 182?

Crescit in aridis prope Villa de Cura et Carichana Orinocensium, alt. 30-270 hex. Floret Majo.

ARBOR ramosissima; ramis fragilibus, teretibus: ramulis canescenti-tomentosis. FOLIA opposita, petiolata, subrotundo-elliptica, breviter acuminata, basi cuneata et in petiolum decurrentia, integerrima, reticulato-venosa, nervo medio venisque primariis subtus prominentibus, coriacea, supra glabriuscula, viridia et nítida, juniora pubescentia, subtus tomento tenui incano solubili oblecta, 4-4¼ pollices longa, 30-34 lineas lata. PETIOLI 4-5 lineas longi, semiteretes, cano-tomentosi. STIPULE axillares, solitariae, ovato-lanceolatae, erectae, externe fusco-tomentosae, petiolo dimidio breviores, persistentes. RACEMI terminales, solitarii, erecti, pedunculati, quadri-aut quinquepollicares. PEDUNCULI rhachisque angulata, cano-tomentosa. FLORES pedicellati, superne sparsi, inferne subfasciculato-congesti, magnitudine floris Crataegi Oxyacanthae; pedicellis 4-5 lineas longis, fuscescenti-tomentosis. BRACTEAE ovatae, lanceolatae, externe fusco-tomentosae, vix lineam longae, caducae. CALYX hemisphaericus,

quinquefidus, externe canescenti-tomentosus; tubus glandulis decem oblongis glabris connatis undique obtectus; laciniae ovatae, obtusae, aequales, erectae. COROLLA pentapetala, glabra, flava; petala longe unguiculata, patenti-reflexa, reniformia, concava, integra, quinto (interiore) duplo triplove minore. STAMINA decem, subaequalia. FILAMENTA linearia, libera, glabra, basi pilis longis rufis instructa, antheris paulo breviora. ANTHERAE oblongae, basi bifidae, supra basim affixae, erectae, apice acutiusculae, glabrae, biloculares; loculi connexivo crasso longitudinaliter interne adnati, longitudinaliter dehiscentes. OVARIUM subrotundo-ovatum, sericeo-pilosum, triloculare; loculis monospermis. STYLI tres, filiformes, glabri, stamina aequantes. STIGMATA subulata. FRUCTUS haud suppetit.”.

2.1.3 Importancia socioeconómica

Esta especie se distribuye principalmente en la zona centro y en la zona sureste de México. El fruto que produce es de recolección y prácticamente no hay plantaciones comerciales. La mayoría de los frutos de Nayarit presentan más acidez comparativamente con los de Chiapas (Moreno & Vera, 2011)

Consultando la información del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, en 2018 se reportó una superficie sembrada de 15 442 ha, con una producción de 802,132 ton, lo que significó un valor económico de 46.91 millones de pesos. Los estados con mayor producción fueron Guerrero con el 45.76 %, Michoacán con 14.35 % y Nayarit con el 12.22 % de la producción (SIAP, 2018).

Si bien el nanche es una especie que normalmente no se desarrolla en plantaciones comerciales, su cultivo se ha impulsado principalmente en países como Brasil. En México ya existen extensiones de cultivo con este frutal, que superan las 200 ha en el estado de Nayarit (Medina-Torres et al., 2004), con rendimientos que pueden variar entre 3-5 y 4-6 t ha⁻¹ en México y Brasil, respectivamente (Bayuelo-Jiménez, 2008).

De acuerdo con Medina-Torres et al. (2012), el árbol de nanche puede ser valorado en programas de reforestación de propósito múltiple, particularmente en aquéllos de tipo agro-silvofrutícola o agro-silvopastoriles, para estimular la producción de fruta y conservación de suelos, en el bosque o pastizal tropical. Los autores mencionaron también que como fruta el nanche puede ser consumido en fresco por su exquisito sabor agridulce, y puede ser ingrediente en la formulación de refrescos embotellados, ates, mermeladas, almíbares, helados, licores, cremas, gelatinas, pasteles, paletas frías, en ensalada, encurtidos y en algunos casos en confitería y platillos tradicionales. Sin embargo, el aroma tipificado como queso rancio (Rezende & Fraga, 2003) puede ser una desventaja.

Por otro lado, el hecho de que el fruto tiene como principal índice de cosecha el momento de su abscisión natural de la planta constituye una desventaja en su aprovechamiento, por lo cual deben emprenderse acciones para alargar su vida útil en el periodo postcosecha.

2.1.4 Cultivo

El nanche se desarrolla en lugares con climas cálido, semicálido y templado (Conabio, 2019), con temperaturas óptimas que fluctúan entre 22 y 28 °C, con requerimientos de lluvia entre 800 y 1500 mm por año, aunque se le ha encontrado desde regiones costeras, semidesérticas e incluso tierras bajas tropicales húmedas en el Caribe, Brasil y México, Centroamérica y Sudamérica, respectivamente. Comúnmente se reporta su desarrollo a altitudes menores a 1000 m (Bayuelo-Jiménez, 2008), pero Raya-Pérez, Aguirre-Mancilla, Gil-Vega, & Simpson, (2010) reportaron la presencia del árbol entre 1000 y 2600 m en Michoacán, México.

La planta prospera mejor en condiciones de exposición directa al sol, excepto durante el primer año de desarrollo (Duarte & Paull, 2015). En general, puede desarrollarse en laderas abiertas y pedregosas de bosque tropical caducifolio, también en laderas de cerros a menudo formados por rocas metamórficas y terrenos planos. Se le encuentra en suelos bastante degradados. Puede soportar

condiciones de drenaje excesivamente rápido o suelos con drenaje deficiente que se inundan en la época húmeda y se secan en el periodo de sequía (Conabio, 2019). La especie se adapta a distintos suelos, incluidos los rocosos, arenosos y alcalinos (Bayuelo-Jiménez, 2008). Es demandante de suelos con buen drenaje, suelos profundos y suelos ricos en materia orgánica, pero tolera suelos excesivamente húmedos, suelos extremadamente secos, drenaje excesivamente rápido, suelos pobres (degradados), suelos someros, suelos compactados y pedregosos e incluso suelos calcáreos. Sin embargo, no tolera, inundaciones, aguas estancadas, ni heladas o condiciones con temperaturas por abajo del punto de congelación (Conabio, 2019), aunque es resistente a vientos fuertes (Duarte & Paull, 2015).

La planta se desarrolla como arbusto en trópico seco y como árbol en zonas de trópico húmedo (Maldonado et al., 2020). Es perennifolio en general o caducifolio en bosques secos, comúnmente de 3 a 7 m de altura, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 30 cm y una copa amplia y abierta o irregular (Conabio, 2019).

Las hojas generalmente son alargadas, decusadas, simples y elípticas, de dimensiones variables, con margen entero, ápice agudo o redondeado y base aguda. Su consistencia es coriácea y el envés está cubierto por tricomas grisáceos o rojizos. Los pecíolos varían de 5 a 25 mm de largo, con yemas de 3 a 7 mm, agudas y cubiertas por dos estípulas ferruginosas. Poseen una estípula intrapeciolar ovada, de 2 a 5 mm de largo, pubescente y persistente (Martínez-Moreno et al., 2010). Las flores se desarrollan en racimos o panículas estrechas terminales, de 5 a 15 cm de largo (Conabio, 2019). Las flores son actinomorfas, de color amarillo-rojizo, de 1.5 cm de diámetro, con cáliz verde, con 6 a 10 glándulas sésiles, de cinco pétalos redondeados.

La planta florece de noviembre a julio, principalmente de marzo a junio en México, durante un periodo cercano a seis semanas. La polinización es entomófila. El fruto se desarrolla en infrutescencias pendulares de 10 a 15 cm de largo. Se trata de drupas globosas, con lóculos ligados, verdes en estado inmaduro y amarillas cuando están maduras (**Figura 1**); son carnosas, glabras, sin alas, ápice redondo

a poco apiculado (Dias Alexandrino, Dos Santos De Sousa, & do Carmo Bastos, 2011) con una abundante carne agridulce rodeando a un endocarpio grande y duro. En cuanto a su forma, el fruto puede ser clasificado principalmente como plano, esferoide u oblongo (Ibarra, 2016). Maldonado et al. (2020), informaron que frutos colectados en Oaxaca, México, tuvieron forma más ancha que larga. La semilla representa el 10.22% del peso en fase verde y 14.42% en estado maduro. El resto del peso está constituido por la pulpa y la piel (Duarte, 2011), aunque se ha señalado (Maldonado et al., 2020) que la pulpa puede representar alrededor del 89% del peso fresco en frutos de Oaxaca, México.

Los frutos maduran de julio a octubre, principalmente en agosto y septiembre en México y se caracterizan por exhibir un fuerte aroma a queso rancio (Rezende & Fraga, 2003). Las semillas se presentan en una por fruto, son blancas y están rodeadas por una testa delgada morena. La semilla consta de tres embriones con sus fundas fusionadas. Cuando se desarrolla la germinación, ésta ocurre sólo a partir de uno de los embriones (Donadio, Moro, & Servidone, 2002). La especie es hermafrodita con número cromosómico $2n = 20, 24$. La dispersión de la semilla ocurre a través de aves o murciélagos frugívoros (Conabio, 2019).

Debido a que la propagación se realiza principalmente por semilla, existe considerable variabilidad entre cultivares en crecimiento, tamaño de fruto y calidad (Bayuelo-Jiménez, 2008). Con base en colecciones realizadas en Nayarit, México, (Medina-Torres, Salazar-García, Ibarra-Estrada, & López-Guzmán, 2016) encontraron que 24.1 % de la variabilidad de *B. crassifolia* corresponde al peso fresco de la hoja, área de la hoja y diámetro ecuatorial del fruto; 19.18% de la variabilidad corresponde a peso fresco y tamaño del fruto y la longitud y anchura media de la hoja y 11.92 % corresponde a la forma del fruto y la forma del ápice del mismo. Algunos cultivares usados en explotación comercial son 'Florida Sweet' en USA, 'Amarillo Ácido', 'Amarillo acanalado dulce', 'Amarillo pequeño ácido', 'Anaranjado dulce' y 'Morado Dulce' en Centroamérica, 'Nanche dulce', 'Nanche agrio', 'Amarillo jaspeado', 'Amarillo canelo', 'Amarillo rojo', 'Sangunga', 'Conical', 'Sour-small', 'Purple', 'Improved' y 'Sweet sour' en México (Bayuelo-Jiménez, 2008). Todos estos cultivares tienen típicamente un sabor

superior a los tipos silvestres y se consumen comúnmente como fruta fresca (Duarte & Paull, 2015).

2.1.5 Desarrollo del fruto

La floración y fructificación del nanche varían entre regiones. En Puerto Rico, el árbol florece y fructifica continuamente desde la primavera hasta el otoño, en tanto que en Brasil florece de diciembre a abril (Orwa et al., 2009) y fructifica entre junio y julio (Da Silva et al., 2016). Medina-Torres, Salazar-García, Valdivia-Bernal, & Martínez-Moreno (2012) señalaron que en Costa Rica el árbol florece de noviembre a junio. Para México, Orwa et al. (2009) mencionaron que la floración ocurre de abril a julio y que los frutos se comercializan en septiembre y octubre; sin embargo, Medina-Torres et al. (2012) señalaron que la floración puede ocurrir de marzo a junio y la cosecha puede desarrollarse de julio a octubre, en función de la región. Asimismo, Caballero-Roque, Vela, Pérez, Escobar, & Ballinas (2012) señalaron que los frutos de nanche se obtienen en los meses de julio a noviembre en los mercados regionales de las zonas tropicales.

Medina-Torres et al. (2012) siguieron el desarrollo de la inflorescencia y del fruto con material de nanche 'Amarillo Dulce' en la región de Xalisco, Nayarit, México. La inflorescencia se desarrolló a través de ocho estados fenológicos denominados yema hinchada, espiga, balón verde, balón amarillo, inicio de antesis, plena antesis, plena floración y caída de pétalo, en un tiempo de 64 d. El crecimiento del fruto describió una curva doble sigmoide, con momentos de detención del crecimiento poco pronunciados a los 19 a 24 d y de los 33 a 35 d, respectivamente, seguidos de un periodo de crecimiento rápido, que ocurrió desde los 43 d hasta el momento de la madurez fisiológica. El crecimiento del fruto ocurrió en su totalidad en alrededor de 56 d, período en que llegó a su máximo diámetro ecuatorial, alrededor de 18 mm, pero continuó adherido al racimo hasta su abscisión a los 90 d.

2.1.6 Índices de cosecha y comportamiento postcosecha

El índice de cosecha del fruto de nanche no ha sido establecido con claridad. De acuerdo con el criterio de los productores, la madurez de consumo corresponde

al momento en que ocurre la abscisión natural de la planta y el fruto cae al suelo (Medina-Torres et al., 2004; Rivas-Castro et al., 2019), de donde se le recoge, por lo que se le considera un fruto de recolección (Medina-Torres et al., 2012).

Para determinar un índice de cosecha, Da Silva et al. (2016) marcaron flores en árboles localizados en Roraima, Brasil y obtuvieron frutos durante su desarrollo en forma semanal a lo largo de 49 d después de anthesis (DDA). El máximo crecimiento en diámetros ecuatorial y polar fue de 9.1 y 8.8 mm, respectivamente, lo que contrastó con la descripción hecha por Medina-Torres et al. (2012) y sugiere que entre regiones existe una variabilidad genética alta. Da Silva et al. (2016) observaron rápido crecimiento a partir de 14 DDA, debido al aumento del peso de la semilla e identificaron el máximo tamaño entre 28 y 35 DDA, seguido de una reducción dimensional que atribuyeron a pérdida de turgencia, lo cual fue congruente con la variación del peso fresco del fruto y de la pulpa. Rivas-Castro et al. (2019), también observaron una variación en el tamaño de frutos totalmente desarrollados, con disminución en el diámetro polar, pero un aumento en el diámetro ecuatorial, lo que sugiere que el comportamiento puede ser normal.

Da Silva et al. (2016) observaron reducción en el contenido de almidón, aumento en azúcares durante el desarrollo, con valores mínimo y máximo entre 28 y 35 DDA. La actividad de la enzima poligalacturonasa (PG) aumentó a valores máximos a partir de 35 DDA y la de la enzima pectinmetilesterasa (PME) se redujo con valores mínimos a los 42 DDA, acompañado de un incremento en pectina soluble, con valores máximos entre 28 y 35 DDA. En el trabajo no se realizaron mediciones de firmeza, pero los datos de actividades de PG y PME, junto con los de variación de la pectina, sugieren que quizá hubo un fenómeno de ablandamiento entre 28 y 35 DDA. En adición, se observó un incremento y posterior decremento en la actividad respiratoria y en la producción de etileno, con valores máximos entre 6.0 y 7.0 mL kg⁻¹ h⁻¹ y 0.18-0.19 μL kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente, en el mismo periodo de 28 a 35 DDA, con lo cual los autores

calificaron al fruto como climatérico y sugirieron que la cosecha podría realizarse dentro de ese lapso posterior a antesis.

En las últimas etapas del desarrollo ocurre maduración del fruto y la piel de éste cambia a medida que se acerca a la maduración de consumo de verde a amarillo y en algunos casos a naranja o rojo (Duarte, 2011). Al interior del mismo género *Byrsonima* hay especies cuyos frutos han sido clasificados en forma similar como climatéricos, como es el caso de *B. coccolobifolia* (Neves, Da Silva, Lima, Bastos, & Roberto, 2015). Por otro lado, el caso del fruto de nanche (*B. crassifolia*) ha sido también catalogado como no-climatérico. Al respecto, Neves, Tosin, et al. (2015) evaluaron el comportamiento postcosecha de frutos de nanche de la región de Roraima, Brasil y, con base en comportamiento respiratorio, reportaron un comportamiento no-climatérico. Sin embargo, en el trabajo se utilizaron frutos cosechados en madurez comercial, con coloración externa amarillo-naranja, lo cual sugiere que ya había transcurrido la maduración y los cambios observados correspondieron más bien a la fase de senescencia.

En contraste, Rivas-Castro et al. (2019), evaluaron frutos de distintos fenotipos de nanche desarrollados en Tabasco, México y colectados en estados de madurez verde, verde-amarilla y totalmente amarilla, donde observaron que, una vez separados de la planta o colectados del suelo en el estado de madurez más avanzada, la actividad respiratoria y la producción de etileno aumentaron a valores máximos y luego experimentaron un decremento, con lo cual catalogaron a los frutos estudiados como climatéricos. Este comportamiento estuvo acompañado por un ablandamiento desde 14.8 a 4.2 N, una reducción en el ángulo de matiz del epicarpio de 96.0 a 71.9°, aumento de la luminosidad de 45.3 a 57.7% y una variación en la cromaticidad de 25.4 a 48.2, además de un incremento en los sólidos solubles totales de 9.5 a 12.1 °Brix, entre el estado verde y el amarillo. Con ello, sugirieron que los frutos pueden ser cosechados en un estado anterior al de madurez comestible, en contraste con la creencia de que debe ocurrir la abscisión natural de los frutos para que éstos alcancen las

características adecuadas de consumo. La coloración del fruto de nanche puede variar en función del genotipo. Al respecto, Maldonado et al. (2020) informaron que frutos colectados en madurez comestible en Oaxaca, México, presentaron ángulo de matiz de 21.61°, es decir, que la tonalidad del exterior tendió al rojo.

Por la variabilidad genética, podrían presentarse tanto frutos climatéricos como no climatéricos dentro de una misma especie (Paul, Pandey & Srivastava, 2011), como se ha reportado para:

- Las peras europeas (*Pyrus communis*) suelen clasificarse como frutas climatéricas, pero hay varios cultivares de peras europeas que generalmente no son climatericas. El tratamiento con propileno se utiliza para distinguir los cultivares, ya que la producción de etileno es inducida por el propileno sólo en los cultivares climatéricos.
- Los frutos de pimiento (*Capsicum*) se clasifican como no climatéricos, sin embargo, algunos cultivares de pimiento son climatéricos, además, algunos cultivares parecen ser insensibles al etileno, mientras que en otros se ha demostrado que el tratamiento continuo con etileno exógeno acelera la maduración y regula la expresión de genes específicos de maduración.
- Los melones (*Cucumis melo*) comprenden no solo genotipos climatéricos sino también no climatéricos. El cruzamiento de melones climatéricos con no climatéricos genera melones climatéricos. Muchas vías de maduración (síntesis de aromas volátiles, climaterio respiratorio y degradación del exocarpio) son reguladas por etileno pero algunas rutas (inicio del climaterio, acumulación de azúcar, pérdida de acidez y coloración de la pulpa) son independientes del etileno. De manera similar, el ablandamiento de la pulpa comprendía tanto componentes dependientes de etileno como independientes que también podrían estar correlacionados con la regulación diferencial de genes que degradan la pared celular.

En general, la información sobre los cambios que el fruto experimenta en el periodo postcosecha cuando se separa de la planta en un estado anterior a la madurez comestible es escasa y la caracterización de atributos de calidad se ha enfocado a materiales colectados en estado de madurez de consumo. Al respecto, Neves, Tosin, et al. (2015) determinaron que el comportamiento postcosecha de frutos colectados en Roraima, Brasil, en madurez de consumo y manejados a 15 °C y 95% humedad relativa durante 12 días, se caracterizó por un contenido de sólidos solubles totales (SST) entre 21.2 y 21.8 °Brix, azúcares solubles entre 4.2 y 4.4 g equivalentes de glucosa por 100 g de peso fresco, acidez titulable (AT) entre 2.72 y 2.75 Cmol L⁻¹ de jugo, sin modificación significativa en ninguna de las tres variables.

Los autores Neves, Tosin, et al. (2015) mostraron que el contenido de ácido ascórbico se redujo de 186.5 a 4.1 y de 294.2 a 5.4 mg 100 mL⁻¹ de jugo, en la pulpa y la piel, respectivamente, pero el contenido de compuestos fenólicos aumentó de 2219.3 a 2991.3 y de 2976.7 a 4012.6 mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco en la pulpa y piel, respectivamente. Sin embargo, la capacidad antioxidante se redujo, pues cuando se evaluó con el método ORAC este atributo varió de 132.6 a 22.3 y de 240.6 a 100.2 μmol equivalentes de Trolox por 100 g de peso seco en la pulpa y piel, en tanto que cuando se evaluó con el método DPPH los valores cambiaron de 145.4 a 56.0 y de 311.0 a 105.0 μmol equivalentes de Trolox por 100 g, respectivamente, lo que indica una pérdida del poder nutracéutico del fruto.

Por otro lado, Medina-Torres et al. (2004), mediante análisis discriminante canónico aplicado a distintas selecciones de frutos colectados en Nayarit, México, determinaron que el mejor índice de calidad de estos materiales es la relación de sólidos solubles totales a acidez (SST/AT; °Brix/acidez) y propusieron la siguiente escala para clasificar al fruto de nanche: (a) 5.1 a 8.0 como fruta agria, (b) 8.1 a 10 como fruta agridulce y (c) mayor a 10.0 como fruta dulce.

El fruto de nanche es muy perecedero. Belisáro & Cavestré (2013) mostraron que el almacenamiento a 25 °C de frutos en madurez fisiológica con coloración verde en el epicarpio causa vida útil menor a cuatro días, pues el material experimenta proliferación de hongos y pudrición, en tanto que con el uso de refrigeración a 12 °C es posible tener aún coloración verde amarilla y sin desarrollo fúngico después de 16 d.

Asimismo, Ibarra (2016) determinó que con un manejo a 8 °C es posible retrasar los cambios en color, la pérdida de peso y el ablandamiento, pero puede afectarse el desarrollo del sabor, expresado mediante la relación SST/TA, aunque no se realizó una evaluación formal de daños por frío. En el mismo trabajo, Ibarra (2016) evaluó el efecto del tratamiento de los frutos con 1-metilciclopropano (1-MCP) para alargar la vida de anaquel, pero no observó resultados favorables significativos, lo cual atribuyó a poca insensibilidad de los frutos al etileno.

Con el propósito de alargar la vida de anaquel, también se ha probado el uso de recubrimientos biopoliméricos basados en almidón, con almacenamiento en condiciones de refrigeración. Con esta estrategia (Aparecido, Castro, Matias, Correia da Costa, & Clemente, 2016) consiguieron el alargamiento de la vida útil de frutos de la región de Pacajus-Ceará, Brasil, hasta por 10 d mediante formulaciones con almidón en concentración de 4 % y un manejo a 12 °C y 85 % de humedad relativa. Sin embargo, se requiere más investigación para favorecer el alargamiento de la vida útil de los frutos, para mejorar su potencial de comercialización.

2.1.7 Composición

La composición del nanche es variable. El contenido de humedad se ha reportado entre 79.3 y hasta 93.12 % y una situación similar ocurre para los otros componentes, pues los contenidos de proteína, extracto etéreo, fibra, cenizas y carbohidratos, en base húmeda, se han reportado en rangos de 0.18 a 0.92 %, 0.21 a 2.23 %, 0.54 a 3.08 %, 0.16 a 0.70 % y 2.59 a 14.4 %, respectivamente

(**Cuadro 1**). Los reportes de Bayuelo-Jiménez (2008) y Duarte & Paull (2015) mencionan contenidos de proteínas y lípidos de 5.9 y 14.4 %, respectivamente, los cuales contrastan en forma importante con el resto y quizá requieren revisión. En general, la composición puede variar en función del lugar de desarrollo, pues en tanto el reporte de Vernon (1995) corresponde a frutos desarrollados en Francisco Morazán, Honduras, los de Da Cunha, Machado, Araújo, Carvalho, & Vilas Boas (2019) (**Cuadro 1**) corresponden a la región de Uberlândia, Brasil. Por otro lado, la semilla del fruto tiene composición significativamente distinta a la de la pulpa, donde sobresale el contenido, en base seca, de proteína (8.8 %), de lípidos (15.0 %), fibra (27.5 %) (**Cuadro 1**) y almidón (12 %) (Araújo et al., 2018).

Cuadro 1. Composición (%) del fruto de nanche en estado de madurez verde (FV) y madurez comestible (FM) y de semilla de fruto en madurez comestible (SFM).

Componente	FV ¹	FM ¹	FM ²	FM ³	FM ⁴	FM ⁵	SFM ⁶
Humedad	83.99	83.04	92.58	82.80	79.3-83.2	93.12	---
Cenizas	0.70	0.74	0.19	0.60	0.58-0.69	0.16	2.2
Proteína pura	0.92	0.89	0.48	0.90	0.11-5.9	0.18	8.8
Extracto etéreo	1.59	2.23	1.05	14.40	0.21-1.83	0.87	15.0
Fibra cruda	2.26	2.33	0.54	2.2	2.5-5.8	3.08	27.5
Carbohidratos	10.54	10.77	5.11	14.4	5.0-9.0	2.59	46.4
Energía (kcal 100 g ⁻¹)	---	---	31.83	66.0	---	18.89	356.8

Fuente: ¹ Vernon, (1995), Duarte & Vernon, (2002) y Duarte, (2011); ²Datos calculados en base húmeda a partir de información de Da Cunha et al. (2019); ³Duarte & Paull, (2015); ⁴Bayuelo-Jiménez, (2008); ⁵De Souza, Pereira, Queiroz, Borges, & De Deus Souza Carneiro, (2012); De Souza et al. (2012); ⁶Araújo et al. (2018), base seca.

Esta situación de alta variabilidad en los datos reportados se observa en general en las distintas variables composicionales. El contenido de sólidos solubles totales se ha reportado con valores de 3.67 (Da Cunha et al., 2019), 13.67 (Aparecido et al., 2016), 1.0 (De Souza, Pereira, Queiroz, Borges, & De Deus Souza Carneiro, 2012), 10.1 (Rivas-Castro et al., 2019), 11.8-14.7 (Ibarra, 2016) y hasta de 21.8 °Brix (Neves, Tosin, et al., 2015). El nanche es un fruto ácido, cuyo pH varía entre 3.19 y 3.88 (Aparecido et al., 2016; Da Cunha et al. 2019). El contenido de acidez se ha reportado entre 0.32 y 0.37 por Ibarra (2016), de 1.4 (Aparecido et al., 2016) entre 2.72 - 2.75 Cmol L⁻¹ (Neves, Tosin, et al., 2015),

entre 0.4-1.5% por Medina-Torres et al. (2004) y como 0.47 g de ácido cítrico por 100 g de pulpa (De Souza et al., 2012).

Por otro lado, Maldonado et al. (2020) reportaron la acidez como ácido málico y no como cítrico, lo cual requiere ser revisado, aunque los valores que reportaron fueron similares. La relación °Brix/Acidez se ha reportado con valores entre 32 - 49, entre 5.3 - 27.2 y entre 4.64 - 9.80 en los trabajos de Ibarra (2016), Medina-Torres et al. (2004) y Aparecido et al. (2016). En los trabajos de Ibarra (2016) y Medina-Torres et al. (2004) se ha mostrado que la variabilidad depende del genotipo evaluado y en el trabajo de Aparecido et al. (2016) se mostró que este parámetro puede variar con la temperatura de manejo.

El fruto de nanche se considera una buena fuente de vitamina C y el contenido de ácido ascórbico se ha reportado con valores desde 47.44 mg 100 g⁻¹ p.f. (De Souza et al., 2012) hasta 186.5 mg 100 mL⁻¹ de jugo en la pulpa (Neves, Tosin, et al., 2015). Asimismo, se han reportado valores de 294.2 en la piel (Neves, Tosin, et al., 2015). También se ha mostrado que el fruto de nanche es rico en vitamina A y Duarte & Paull (2015) reportaron concentración de 20 mg 100 g⁻¹ peso fresco, aunque Medina-Torres, Ortíz-Catón, & Valdivia-Bernal (2012) apuntaron que la concentración puede ascender hasta 650 mg 100 g⁻¹.

El fruto es rico en carotenoides y se han determinado concentraciones de 34 a 49 y 613 a 616 µg 100 g⁻¹ p.f. en la pulpa y la piel, respectivamente. Los principales compuestos que se han identificado son luteína, zeaxantina y β-caroteno, aunque los últimos dos sólo se han encontrado en cantidades traza en la pulpa y están presentes principalmente en la piel (Irías-Mata et al., 2018). Por otro lado, también se ha reportado la presencia de carotenoides en cantidad de 888 µg equivalentes de licopeno 100 g⁻¹ p.f. en la pulpa (De Souza et al., 2012) De acuerdo con Mariutti, Rodrigues, & Mercadante, (2013), las xantofilas representan alrededor del 94% de los carotenoides presentes en el fruto.

Neves, Tosin, et al. (2015) reportaron contenido de 4.2 % de azúcares solubles, en tanto que el contenido de azúcares reductores fue reportado Vernon, (1995) y Duarte & Vernon, (2002) como 8.86 % y por Ibarra, (2016) entre 2.75 y 4.75 g L⁻¹. Al respecto, Porte, Rezende, Antunes, & Maia, (2010) señalaron que el contenido de sacarosa, glucosa y fructosa era de 0.57, 11.39 y 11.51 % en base seca, lo que sugiere presencia significativamente mayor de azúcares reductores en relación a los no reductores. El contenido de pectina ha sido reportado con valor 816.97 mg de ácido galacturónico por 100 g de pulpa por Neves, Tosin, et al. (2015).

Cuadro 2. Contenido de minerales en pulpa y semilla de fruto de nanche.

Mineral	Contenido en pulpa ¹ (mg 100 g ⁻¹ p.f.)	%DRI ¹	Contenido en semilla ² (mg 100 g ⁻¹ p.f.)	%DRI ²
P	2.60	0.37	1170	167.0
K	103.05	2.19	120	2.6
Ca	5.50	0.55	2.0	0.217
Mg	10.14	2.53	1.8	0.7
Fe	0.17	2.12	--	--
Na	--	--	2.0	0.1

Fuente: ¹De Souza et al. (2012), ² Araújo et al. (2018) %DRI: porcentaje en que el contenido contribuye con la ingesta recomendada diaria (DRI).

El fruto de nanche es rico en minerales, aunque la pulpa (De Souza et al., 2012) presenta contenido menor al de la semilla (Araújo et al., 2018) (**Cuadro 2**). Si bien la pulpa contiene alta concentración de potasio, en realidad es bajo el aporte que se hace al consumo diario recomendado (DRI) de este mineral. Con relación a otros como el hierro, que también está presente en baja concentración su contribución al DRI es similar a la del potasio.

Con relación al contenido proteínico, Porte et al. (2010) identificaron la presencia de 15 aminoácidos en la pulpa de frutos de nanche, entre los cuales la prolina (73.5 mg kg⁻¹), el ácido glutámico (23.7 mg kg⁻¹) y el ácido aspártico (23.5 mg kg⁻¹) fueron los de mayor concentración. Por otro lado, el contenido lipídico se ha estudiado a partir de muestras obtenidas mediante extracción con CO₂ en condiciones supercríticas, con rendimientos hasta de 5.5 %. El perfil de ácidos

grasos ha indicado predominancia de compuestos insaturados con niveles superiores a 60 %, resaltando la presencia de ácido palmítico (32.9 - 34.37 % del total de la fracción lipídica), así como de ácidos grasos omega-6 (16.3 - 22.48 %) y omega-9 (40.04 - 44.4 %) (Santos et al., 2018; Seabra et al., 2019).

La composición de la parte comestible del fruto de nanche fue analizada por (Gordon, 2012) mediante HPLC/DAD-ESI-MS, de donde se reveló la presencia de 24 constituyentes, incluyendo galotaninos, galatos de ácido quínico, proantocianidinas y derivados de quercetina. Algunos de los compuestos no fueron identificados o fueron catalogados como derivados del ácido gálico. Entre los compuestos identificados están el ácido gálico, ácido galilquínico, ácido digaloilquínico, ácido trigaloilquínico, digaloil glucosa, digaloil pentosa, un dímero de proantocianidina, ácido tetragaloilquínico, un dímero de galoil-proantocianidina, un dímero de digaloil-proantocianidina, quercetina deoxihexosilhexósido, hexósido de quercetina, hexósido de galilquercetina, pentósido de quercetina, pentósido de galilquercetina y quercetina.

Cuando maduran, los frutos son amarillos, naranjas o verdes y tienen un fuerte olor que se asemeja a un queso afrutado, rancio o ciertos jabones, que se debe a su contenido de aceite de 2.23 %. El aroma se debe al etil butanoato (dulce, frutal), etil hexanoato (frutal), 1-octen-3-ol (como a hongo seta), ácido butírico (queso rancio), ácido hexanoico (queso pungente) y feniletilalcohol (floral). Los componentes del sabor de la pulpa son principalmente etil, metil y feniletil ésteres y ácidos carboxílicos, terpenoides y lactonas, y algunas sustancias que tienen compuestos sulfurados (Uekane et al., 2017).

2.1.8 Efectos del nanche en la salud

Muchos de los compuestos que contiene el nanche tienen actividad antioxidante, lo que significa que su ingesta puede causar efectos benéficos en la salud (Aguirre-Crespo et al., 2017; Herrera-Ruiz et al., 2011; Maldini et al., 2009; Raúl Medina-Torres et al., 2012; Oliveira, Dias Alves, Aguilera, Rogez, & Fonseca, 2018; Oliveira et al., 2017), aunque en realidad son las hojas y la corteza del árbol

y ramas los que exhiben los valores mayores. Al respecto, Silva, Souza, Rogez, Rees, & Larondelle (2007), determinaron la actividad antioxidante mediante el método TEAC y determinaron valores de 347.1, 261.3 y 4.2 en las hojas, la corteza y el fruto, en tanto que con el método ORAC determinaron valores de 778.8, 590.8 y 11.8, respectivamente, expresando esta propiedad en μmol equivalentes de Trolox (TE) g^{-1} p.f. Asimismo, Souza et al. (2008) reportaron valores de 736, 1145 y 26.5 μmol TE g^{-1} p.s. en hojas, corteza y fruto, en tanto que los datos que obtuvieron con el método FRAP fueron 288, 1621 y 6.4 μmol TE g^{-1} p.s., respectivamente, confirmando la menor actividad antioxidante del fruto de nanche, lo cual fue confirmado por Neves, Tosin, et al. (2015), quienes encontraron valores similares a los mencionados antes.

La actividad antioxidante en los frutos de nanche está proporcionada por la presencia de diversos compuestos antioxidantes, entre los que se encuentran vitamina C o ácido ascórbico, carotenoides, compuestos fenólicos y flavonoides como la quercetina.

En la literatura, el contenido de compuestos fenólicos (CF) del fruto de nanche está reportado como 2219.3 mg equivalentes de ácido gálico (GAE) 100 g^{-1} peso seco (p.s.) (Neves, Tosin, et al., 2015), 2900.0 mg GAE 100 g^{-1} p.s. (Souza et al., 2008), o como 800 mg GAE 100 g^{-1} p.f. (Silva et al., 2007), o 334.4 mg GAE 100 g^{-1} p.f. (De Souza et al., 2012). La variabilidad de estos compuestos fitoquímicos puede deberse a factores genéticos por variedad, así como a condiciones del medio ambiente, tales como intensidad de radiación, lluvia, entre otros factores ambientales, que pueden variar entre lugares.

Los flavonoides son compuestos polifenólicos que se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado. Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas, catequinas y antocianinas. Se les atribuye la prevención de la oxidación del colesterol LDL, además de que ciertos flavonoides mejoran la actividad de la vitamina C, protegiendo así contra infecciones y enfermedades de vasos sanguíneos (Drago, 2007).

Los flavonoides que se han determinado en el nanche, se reportan en concentración de 12 – 15 mg equivalentes de catequina por 100 gramos de parte comestible de fruto de nanche (Souza et al., 2008).

Debido a su composición química, esta planta se ha aprovechado desde la antigüedad como parte de la medicina tradicional, por medio de remedios preparados a partir del cocimiento de la corteza, ramas y hojas, principalmente, sirviendo como astringente para casos de diarrea, enfermedades de la piel, tos, como cicatrizante de úlceras, para fortalecer mujeres post-parto, para favorecer la digestión y mejorar el sistema digestivo, contra la disentería, la estomatitis, entre otros (Medina-Torres et al., 2012).

En particular, Perez-Gutierrez, Muñiz-Ramirez, Gomez, & Ramírez (2010), mostraron que los extractos de frutos y semillas de nanche poseen propiedades antihiper glucémicas y pueden atenuar la hiperlipidemia y la hiperinsulinemia, lo cual evaluaron en ratas con diabetes inducida. Los autores concluyeron que el nanche puede considerarse como un posible agente antidiabético seguro. Pérez-Gutiérrez (2016) identificó la presencia del triterpeno birsonimadiol y mostró que, debido al mismo, los extractos de semillas de nanche exhiben efectos antiinflamatorios.

Asimismo, Pérez & Muñiz (2016) encontraron que debido a la presencia de los sesquiterpenos lactonas llamados Byrsonima A y B los extractos de semillas de nanche pueden ayudar a mejorar el metabolismo de la glucosa. Sin embargo, en virtud de la mayor actividad antioxidante de hojas y corteza de ramas y tronco, el uso de extractos obtenidos a partir de estas partes ha recibido mayor atención. Al respecto, Aguirre-Crespo et al. (2017), mostraron que el uso de extractos de hojas de nanche puede reducir, en función de la concentración, la aparición de contracciones espontáneas en el intestino delgado, lo cual probaron en íleon de ratas.

También, Herrera-Ruiz et al. (2011) evaluaron los efectos ansiolíticos, anticonvulsivos, antidepresivos y sedantes producidos por extractos vegetales de nanche y su influencia en la actividad motora en ratones. Los autores encontraron

que el extracto metanólico produjo efecto antidepresivo en una prueba de natación forzada, sin embargo, no confirmaron propiedades ansiolíticas, sedantes o anticonvulsivas, ni las relacionadas con el sistema de locomoción. Asimismo, Oliveira, Dias Alves, et al. (2018) y Oliveira et al. (2017) demostraron el efecto fotoquímico-protectivo de extractos de hojas de nanche y Maldini et al. (2009) y García et al. (2013, 2012) encontraron que los extractos de corteza de la planta exhiben importante efecto antiinflamatorio.

2.1.9 Usos del nanche

Además de su consumo en fresco, el fruto de nanche se consume principalmente en la forma de jugos, helados o como licor (Alves & Franco, 2003), con lo cual, además de obtener un beneficio por sus componentes nutritivos, es posible aprovechar el efecto benéfico en la salud. Al respecto, Caballero-Roque et al. (2012) desarrollaron una gelatina artesanal para niños usando harina de nanche obtenida mediante deshidratación y molienda de la pulpa y, con base en una formulación que incluyó 250 mL de agua, 10 g de harina de nanche, 7 g de grenetina y 5 g de azúcar obtuvieron un producto con 10.99 g de carbohidratos, 6.14 g de proteínas, 0.14 g de lípidos y 50.64 calorías, que puede ser usada en programas alimentarios en regiones productoras de la planta. Sin embargo, también se ha demostrado el uso del nanche en usos no alimenticios directos. Al respecto, González-Saucedo et al. (2019) usaron extractos de hojas de nanche en formulaciones de recubrimientos biopoliméricos con quitosano, para extender la vida postcosecha de pimiento dulce. Asimismo, se han probado efectos antimicrobianos de los extractos y Muñoz-Ramírez, Pérez-Gutiérrez, García-Báez, & Mota-Flores, (2014) mostraron que, debido a la presencia de compuestos terpénicos, los extractos de semilla de nanche exhiben actividad antimicrobiana en contra de bacterias patógenas. También, Martínez-Vázquez, González-Esquinca, Cazares Luna, Moreno Gutiérrez, & García-Argáez, (1999) mostraron que el uso de extractos de raíces y tallos de nanche pueden inhibir el desarrollo de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,

Streptococcus pneumoniae y *Micrococcus luteus*., lo cual fue explicado con base en la presencia de flavonoides y glucósidos.

2.2 Los daños por frío en la postcosecha de frutas

Los cambios ambientales y físicos que experimentan los frutos antes y después de la cosecha, pueden inducir la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS por sus siglas en inglés *Reactive Oxygen Species*), que son causa de daño oxidativo, el estrés oxidativo comienza con una producción elevada de ROS, en diversos procesos como fotosíntesis, respiración, fotorrespiración y explosión oxidativa que ocurren en diferentes locaciones celulares y organelos (Del Río & López-Huertas, 2016).

El almacenamiento en refrigeración puede ocasionar estrés oxidativo y lesiones, que se presentan en función del tiempo y la temperatura (Arias & Toledo, 2007).

Para evitar el estrés oxidativo durante la postcosecha de frutos, existen estrategias naturales, debido a que el fruto presenta una defensa en sí mismo, o inducidas por algún tratamiento físico con base en variaciones de temperatura, o bien, tratamientos químicos que generan una respuesta que incluye cambios metabólicos a nivel bioquímico y molecular (Choudhury, Rivero, Blumwald, & Mittler, 2016).

Son numerosas las disfunciones celulares y las alteraciones fisiológicas y bioquímicas que induce el frío no congelante: generalmente estimula la tasa respiratoria y la emisión de etileno, reduce la fotosíntesis, interfiere la producción de energía, retrasa la fluidez del protoplasma, aumenta la permeabilidad de la membrana, inactiva algunas enzimas, desarregla la membrana y altera la estructura celular (Wang, 2000).

2.2.1 El estrés oxidativo en las plantas

El estrés oxidativo se define como el efecto tóxico provocado por especies químicas altamente reactivas producidas durante la reducción del oxígeno molecular (O₂) en los organismos aerobios, que pueden ser o no radicales libres (Halliwell, 2006) y se conocen como especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS

por sus siglas en inglés *Reactive Oxygen Species*) (Rinalducci, Murgiano, & Zolla, 2008).

Las ERO incluyen anión superóxido, peróxido de hidrogeno, radical hidroxilo, óxido nítrico, peroxinitrilo y oxígeno singulete; si la producción de ERO se incrementa dramáticamente, como ocurre bajo un ambiente de estrés, el radical hidroxilo reacciona con los lípidos de la membrana, induciendo peroxidación que conduce a la degradación de la membrana, el malondialdehído (MDA) es un producto de esta peroxidación de lípidos y es utilizado como indicador de estrés en algunos tejidos (Valenzuela et al., 2017).

En las plantas, las ERO se producen en varios compartimentos celulares, cuando se saturan las cadenas transportadoras de electrones principalmente en cloroplastos y mitocondrias, a través de la fuga de electrones de las cadenas transportadoras al O₂. Los cloroplastos son los principales productores de oxígeno singulete en el fotosistema II y de radical superóxido en el fotosistema I. La respiración mitocondrial también produce cantidades importantes de radical superóxido. En el apoplasto, la actividad de oxidasas y peroxidasas es la principal fuente de radical superóxido, mientras que en los peroxisomas la fotorespiración genera peróxido de hidrógeno (Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda., 2012).

Cuando la generación de ERO excede la capacidad del tejido vegetal para mantener la homeostasis celular redox, aparece el estrés oxidativo. El estrés en frutos y vegetales puede ser detectado directamente por la acumulación de ROS, MDA y la aparición de pigmentos cafés, en adición a la fuga de electrolitos incrementada, o indirectamente por los cambios en los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Toivonen, 2004).

Es importante señalar que el fenómeno del estrés oxidativo puede detectarse, tanto en frutas como en hortalizas de forma directa, como la acumulación de especies reactivas de oxígeno, aumento de la peroxidación lipídica, aumento de la permeabilidad de la membrana o acumulación de pigmentos marrón por pardeamiento enzimático, o indirecta como cambios en los niveles de

componentes de actividad antioxidante o en los sistemas enzimáticos antioxidantes (Toivonen, 2004).

Además del efecto directo de las bajas temperaturas sobre la organización molecular de los lípidos de membrana, la pérdida de la integridad de la membrana está de por sí activada por los procesos oxidativos, ya que el estrés de las bajas temperaturas aumenta los niveles de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas especies moleculares son responsables de algunas de las alteraciones causadas por las bajas temperaturas en las plantas (Scandalios, 1993).

El estrés oxidativo también está asociado inicialmente a la presencia de otros tipos de estrés, como el estrés hídrico por salinidad, exposición al ozono y la radiación. Se ha demostrado que el estrés oxidativo influye en el metabolismo del vegetal, como en señales en la célula, donde las especies activas de oxígeno funcionan como mensajeros primarios y secundarios involucrados en las respuestas de transducción de la señal de estrés (Price, Taylor, & Ripley, 1994).

La formación en condiciones normales de cierta cantidad de radicales libres en las células, es un proceso normal e inevitable que no causa daño oxidativo en las células, ya que éstas se protegen mediante una serie de mecanismos endógenos antioxidantes de defensa. El daño o estrés oxidativo se genera cuando se rompe el equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes para eliminarlos, ya sea debido a un déficit de estas defensas o por un incremento elevado de la producción de radicales libres.

La dinámica de las respuestas al estrés, puede ser dividida en tres fases o estados, la respuesta inicial es de alarma (Estado I) y promueve la producción de ROS. Como consecuencia de esto, se inician un sin número de modificaciones en el metabolismo celular, incluyendo el aumento de la protección de los sistemas antioxidantes y la regulación genética, para efectuar estos cambios metabólicos y para aliviar la respuesta al estrés (Estado II). Sin embargo, si el estrés continúa o el nivel de éste es extremo, el sistema es sobrepasado y puede ocurrir daño celular y subcelular (Estado III). La regulación oxidativa, es un balance dinámico de procesos entre los sistemas que producen especies reactivas de oxígeno y

aquéllos que trabajan para capturarlas y contrarrestar el daño de las primeras. A continuación, se comentan algunas características (Toivonen, 2004):

- Reacción de alarma: Explosión oxidativa, producción creciente de los aniones de superóxido, creciente producción de peróxido de hidrógeno.
- Resistencia o aclimatación: Modificación de la expresión de genes, aumento de las actividades enzimáticas antioxidantes, aumento de antioxidantes no enzimáticos, producción de las proteínas del choque del calor.
- Colapso o agotamiento: Daño en DNA/RNA, aumento de la peroxidación lipídica, pérdida de actividades enzimáticas antioxidantes, pérdida de antioxidantes no enzimáticos, aumento de la permeabilidad de la membrana, síntomas visibles de lesión.

A pesar de que las ROS tienen una función fisiológica en los organismos vivos, si se permite la acumulación excesiva de estas especies, pueden ocasionar daños oxidativos en el ADN, proteínas y lípidos de membrana, acontecimientos íntimamente relacionados con los procesos de envejecimiento de los tejidos y la aparición de ciertas enfermedades (Halliwell, 1996).

2.2.2 Mecanismo de acción del daño por frío en productos hortícolas

Los frutos son estructuras con alta actividad respiratoria, el almacenamiento a bajas temperaturas puede inducir un desacoplamiento en la cadena respiratoria, produciendo ROS. En plantas expuestas a baja temperatura, se ha informado un fuerte aumento en su respiración sensible al cianuro, principalmente debido a una inducción de la actividad antioxidante (AOX) (Vanlerberghe, 2013). AOX es una forma muy eficiente de desviar el flujo de electrones y reducir la generación de anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo. La baja temperatura también reduce la actividad enzimática antioxidante de cultivares sensibles, disminuyendo así su capacidad para hacer frente a la elevada producción de ROS (Lim, Kang, Cho, & Gross, 2009).

Se ha propuesto que la peroxidación de lípidos está asociada con los daños por frío, se ha sugerido a los plastidios como el sitio de inducción de la peroxidación por frío (Valenzuela et al., 2017).

El efecto inmediato de las bajas temperaturas sobre la permeabilidad de la membrana, conduce a un trastorno en el equilibrio de iones, así como a la fuga de iones, que no solo aumenta la permeabilidad, sino que también aumenta la E_a (Energía de Activación) de los sistemas enzimáticos unidos a la membrana, lo que conduce a suprimir la velocidad de reacción y establece un desequilibrio en los sistemas enzimáticos no unidos a la membrana. Por ejemplo, a medida que disminuye la temperatura, la velocidad de reacción de los sistemas de enzimas solubles como la glucólisis disminuirán con una E_a constante y un Q_{10} de aproximadamente 2. De manera similar, la velocidad de reacción de las enzimas asociadas con la membrana de respiración mitocondrial disminuirá, estableciendo un gran desequilibrio en los dos sistemas. Luego, metabolitos como el piruvato, el acetaldehído y el etanol se acumulan en la interfaz entre la glucólisis y el sistema mitocondrial, y estos compuestos de hecho se acumulan muy temprano en el enfriamiento. Además, de un suministro de energía muy reducido que acompaña a la respiración mitocondrial suprimida, junto con la posibilidad de alteración de actividad del sistema ATPasa de la membrana, junto con la rigidez de la membrana después de la transición de fase por el daño lipídico, esto explica muy fácilmente el cese de transmisión protoplasmática observada en tricomas de especies sensibles (Lyons, 1973).

La respuesta bioquímica al daño por frío es la inducción de estrés oxidativo en las células como resultado de la disfunción de la membrana plasmática. Durante los daños por frío, la membrana sufre una degradación de lípidos que conduce a un aumento de fuga de iones, aumento de la producción de etileno y daños en el fotosistema (PSII). Un elicitador abiótico y tratamientos hormonales como ácido absísico (ABA), ácido salicílico (SA), irradiación UV-C, jasmonato de metilo (MeJA) y 1-metil-ciclopropano (1-MCP) para cosechas hortícolas proporcionan varios niveles de protección a los daños por frío, ya que aumentan la resistencia de las membranas (Darras, 2020).

Es interesante que los síntomas de la lesión por frío son similares a los síntomas inducidos por la suboxidación. La lesión por suboxidación incluye una acumulación de productos de fermentación, incluidos acetaldehído y etanol, en tejidos vegetales almacenados bajo condiciones anaerobias. Por lo tanto, los síntomas visibles de enfriamiento y suboxidación son similares porque ambas presentan una acumulación de metabolitos tóxicos, aunque la acumulación proviene de efectos completamente diferentes (Lyons, 1973).

La tolerancia al frío depende del cultivar y es afectada por la madurez del fruto, a estados de desarrollo más temprano, son más susceptibles al estrés por frío, asociado con un mayor contenido de MDA y fuga de electrolitos, que cuando son frutos más maduros. A estados de desarrollo más tempranos, frutos de pepino almacenados en frío muestran un nivel de transcripción más bajo de las principales enzimas antioxidantes (SOD, CAT, POD, MDHAR, DHAR, GR) incluso después del recalentamiento, lo que puede ser la causa de mayor daño oxidativo. A etapas del desarrollo tardías, la fruta muestra un mayor contenido de ascorbato, lo que mejora la capacidad antioxidante y permite un almacenamiento en frío más prolongado (Qian et al., 2013).

La lesión por frío se presenta en función del tiempo y la temperatura, por lo tanto, con un tratamiento breve de enfriamiento seguido de una temperatura más cálida, la respiración aumenta bruscamente pero solo transitoriamente, y el metabolismo normal se ve pronto restablecido. Si las temperaturas frías continúan el tiempo suficiente para que ocurran cambios degenerativos, la frecuencia respiratoria permanece elevada, lo que refleja un metabolismo alterado. Estos efectos son la base del éxito que el calentamiento intermitente ha dado para mejorar efectos del enfriamiento (Arias & Toledo, 2007).

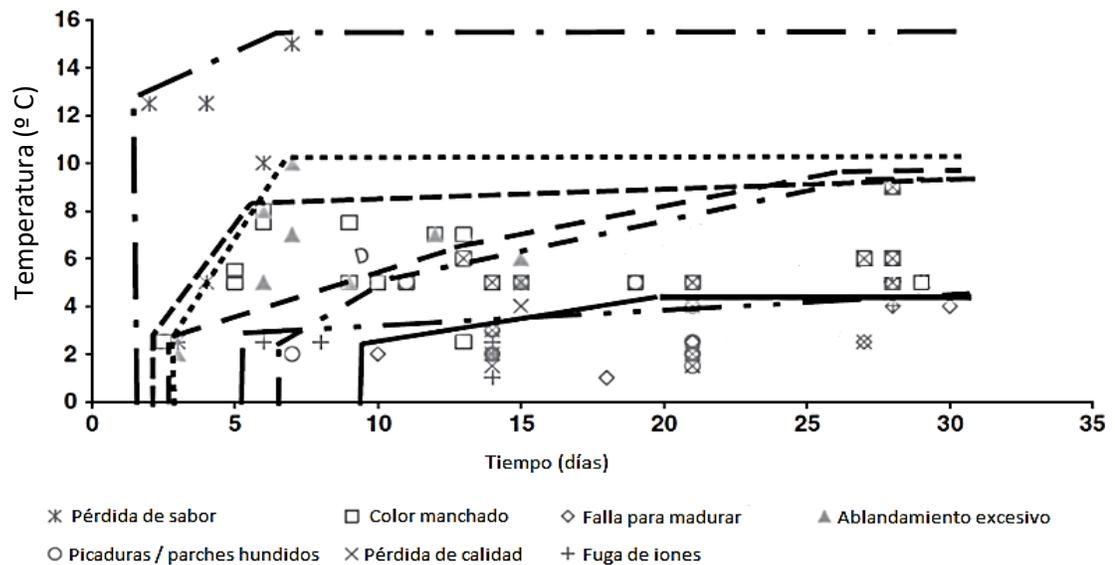


Figura 2. Modelo conceptual para el rango de sensibilidad para diferentes síntomas de daños por frío en un determinado régimen de tiempo-temperatura en frutos de jitomate *Solanum Lycopersicum*. Cada estudio se representó en un eje de tiempo-temperatura (Biswas, East, Hewett, & Heyes, 2016).

Se observa en la **Figura 2**, tomada de Biswas et al. (2016), que pueden producirse diferentes síntomas a una temperatura determinada, diferentes procesos (estructura de orgánulos, actividad enzimática o funciones de proteínas) pueden verse obstaculizadas secuencialmente, es posible que cada síntoma tenga umbral de tiempo-temperatura para aparecer y esto puede explicar por qué algunos síntomas aparecen antes que otros. A una temperatura de enfriamiento dada, las actividades enzimáticas relacionadas con diferentes procesos que conducen a síntomas de lesiones se verán afectados de manera diferente. Asimismo, hay una secuencia de daño inducido por frío en diferentes orgánulos. La "temperatura umbral" de daños por frío se define como la temperatura más baja a la que se puede almacenar una fruta o verdura susceptible sin síntomas de daños por frío, la temperatura umbral para almacenar tomates maduros *Solanum Lycopersicum* es de 13 °C, debajo de esta "temperatura umbral", es posible que diferentes temperaturas bajas dar lugar a diferentes síntomas de daños por frío (Biswas et al., 2016).

Con respecto a la aclimatación al estrés abiótico, varias fitohormonas desempeñan un papel principal en la activación de la respuesta. Se ha reportado una intrincada interacción entre fitohormonas y ROS, niveles elevados de ROS modulan los niveles y funciones de fitohormonas (Raja, Majeed, Kang, Andrabi, & John, 2017).

Se observa en la **Figura 3** (Lukatkin, Brazaityte, Bobinas, & Duchovskis, 2012), que el estrés por frío afecta inicialmente en la inactivación de ATPasa, apertura de canales iónicos, despolariza la membrana, promueve el incremento de radicales especies reactivas de oxígeno, y la inactivación de enzimas antioxidantes como SOD, posteriormente hay una interrelación de otros aspectos del metabolismo que terminan en inhibición del crecimiento, desórdenes en la respiración, fosforilación y desórdenes ultra-estructurales, puede haber una recuperación después del enfriamiento y regeneración al metabolismo normal, o si el enfriamiento es prolongado hay daño en células, tejidos y muerte (Lukatkin et al., 2012).

La exposición de plantas sensibles al frío a bajas temperaturas (1–10 °C) causa perturbaciones en todos los procesos fisiológicos: régimen hídrico, nutrición mineral, fotosíntesis, respiración y metabolismo. La inactivación del metabolismo en el enfriamiento de plantas sensibles es una función compleja tanto de la temperatura como duración de la exposición.

2.2.3 Respuestas físicas, fisiológicas y bioquímicas de los frutos al daño por frío

Los síntomas del daño por frío, a nivel microscópico, son similares en todos los organismos vegetales, estos síntomas incluyen hinchazón y desorganización de las mitocondrias y los cloroplastos, donde se produce dilatación tilacoidea y desapilamiento de grana, reducción en el tamaño y número de gránulos de almidón, acumulación de gotas de lípidos dentro de los cloroplastos y la condensación de la cromatina nuclear.

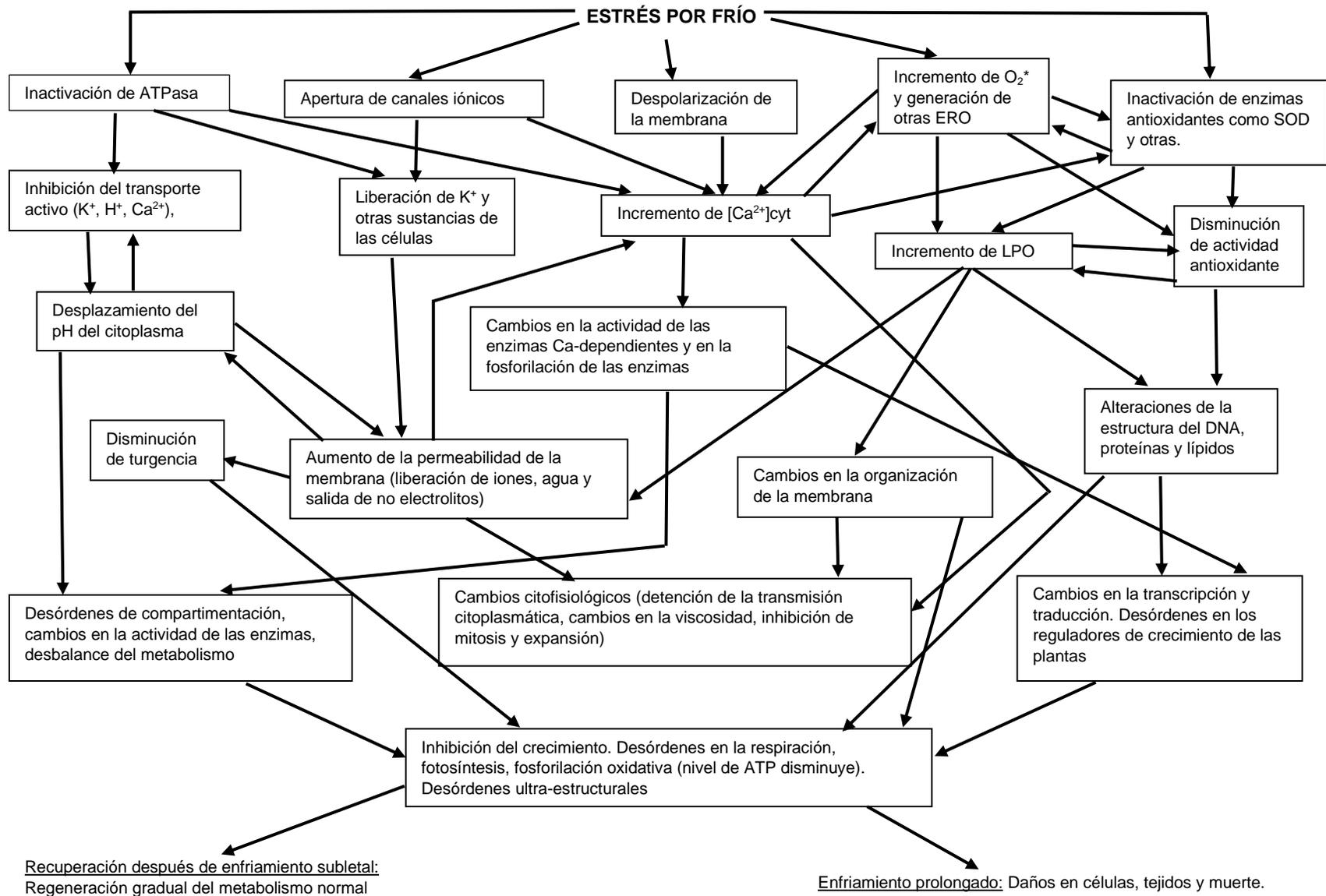


Figura 3. Esquema del inicio y desarrollo de los daños por frío en células vegetales sensibles

Los síntomas macroscópicos en frutas y verduras son diversos, se pueden distinguir dos categorías, que a menudo se desarrollan simultáneamente. La primera, de naturaleza cualitativa incluye trastornos del desarrollo o metabólicos como alteración de la maduración y sabor y aroma deficientes. La segunda incluye los síntomas fisiológicos reales que se vuelven aparentes de diferentes maneras, depresión y color anormal de la piel, descomposición de tejidos, pardeamiento interno o superficial (escaldado), infiltración de agua en espacios intercelulares, desarrollo de textura seca en la pulpa y menor resistencia a lesiones mecánicas y ataque de hongos y microbios (**Cuadro 3**).

Sin embargo, algunos síntomas, como el blanqueamiento interno o desarrollo de una textura anormal en la pulpa, no son visibles externamente, esta sintomatología diferente indica que el problema de daños por frío no es simple, porque los mecanismos involucrados difieren en función del cultivo y se hacen evidentes de varias maneras. Algunos estudios sugieren que los cambios en la textura se deben principalmente a trastornos del metabolismo de la pared celular, incluyendo una disminución en la solubilización y despolimerización de pectinas (Sevillano, Sanchez-Ballesta, Romojaro, & Flores, 2008).

Cuadro 3. Daños causados por temperaturas de refrigeración a diversas frutas y hortalizas.

Producto	Temp.mínima inferior (° C)	Síntomas más frecuentes
Aceituna	5-7	Picado, pardeamiento (pard.) de la piel, susceptibilidad a podredumbres (suscep. podre.)
Aguacate	5-13	Pard. de piel y pulpa, suscep. podre
Alcachofa	0-3	Pard. de las puntas y bordes de hojas
Albaricoque	0	Pard. De la pulpa junto al endocarpio
Arándano	2	Textura gomosa, enrojecimiento de la pulpa
Banana verde o madura	12-14	Coloración (color.) de la piel anómala: apagada, grisácea o parda, suscep. podre.
Batata	13	Pard. interno, picado, descomposición (desc.) interna, endurecimiento de la pulpa en la cocción.
Berenjena	7-10	Escaldadura superficial, podredumbre (<i>Alternaria</i> sp.)

Producto	Temp.mínima inferior (° C)	Síntomas más frecuentes
Ciruela	0-1	Pulpa translúcida, consistencia gelatinosa de la pulpa
Calabaza/calabacín	10	Picado, desc. interna, suscep. podre.
Chirimoya	8-10	Pard. de piel y pulpa, desc. interna
Chayote	10-12	Picado, color. anómala, suscep. podre
Espárrago	1-2	Color. anómala, ablandamiento de la punta
Gombo	7	Picado, color. anómala, infiltración acuosa
Guayaba	5-10	Picado, pard. de la piel, desc. interna
Granada	5	Picado, pard. de la piel, membranosis, suscep. podre.
Jicama	13-18	Ablandamiento, suscep. podre. y a deshidratación, pard. interno, infiltración acuosa
Judía verde	7-8	Picado y manchas pardo-rosáceas ("russetting")
Lima	7-10	Picado, pard. del flavedo
Limón	11-14	Picado, adustiosis, membranosis, oleocelosis, pard. del flavedo, peteca, necrosis peripeduncular, suscep. podre.
Mango	10-13	Escaldadura, pard., maduración incompleta (madur. incomp.)
Melón Honey Dew y Pintasapo	7-15	Picado, madur. incompleta, color. anómala, desc. interna, suscep. podre.
Melón Amarillo	15-17	Picado, madur. Incompleta, desc. interna, suscep. podre.
Melón Cantaloupe	2-5	Picado, suscep. podre.
Melocotón y nectarina	2-7	Textura algodonosa, harinosidad, pard. y desc. interna, mal radiante, enrojecimiento de la pulpa, madur. incomp., vitrescencia
Manzana (variedades europeas)	2-4	Escaldadura superficial o blanda, corazón rosáceo, pard. Interno
Naranja y mandarina	3-9	Picado, escaldadura superficial, necrosis peripeduncular, pard. del flavedo, membranosis, desc. acuosa, suscep. podre.
Ocra o gumbo	7	Picado, color anómalo, infiltración acuosa, suscep. podre.
Patata	4-5	Color interno anómalo, ennegrecimiento y endulzado de la pulpa
Papaya	7	Picado, madur. incomp., desc. interna, sabor y aroma anómalos, suscep. podre.
Pepino	7-10	Picado, infiltración acuosa, ablandamiento, desc. interna, amarillamiento de la pulpa, suscep. podre.
Pimiento	7	Picado, pard. de la semilla, podredumbre (<i>Alternaria</i> sp.)

Producto	Temp.mínima inferior (° C)	Síntomas más frecuentes
Piña	7-10	Color apagado, sabor anómalo, suscep. podre.
Pomelo	10	Pard. del flavedo, picado, desc. acuosa, suscep. podre.
Sandía	5-10	Picado, sabor anómalo o amargo
Tamarillo	3-4	Picado, color. anómala
Tomate verde	13	Ablandamiento, infiltración acuosa, desc. interna
Tomado maduro	7-10	Ablandamiento y color anómalos, madur. incomp., suscep. podre.

Fuente: (Artés & Artés, 2003)

En relación con los métodos de evaluación de los DF, generalmente el grado de severidad de cada desorden se clasifica de acuerdo a una escala de 5 puntos en el que 0 representa ausencia (A); 1, muy leve (ML); 2, leve (L); 3, moderada (M) y 4, grave (G). Esta escala debe está acompañada de una descripción cualitativa y cuantitativa del tipo de DF de que se trate. Solo los niveles moderado y grave se consideran habitualmente como pérdidas. Con esta escala hemos elaborado un índice por el que determinamos la extensión de DF como sigue: Índice de DF = $(0 * PA + 1 * PML + 2 * PL + 3 * PM + 4 * PG) / 4$, donde PA, PML, PL, PM y PG son los porcentajes de frutos que muestran ausencia o los diferentes grados de severidad de DF (Artés & Artés, 2003).

El mecanismo para la lesión por frío abarca varios elementos operando independientemente o simultáneamente: desequilibrios en el metabolismo, acumulación de compuestos tóxicos y mayor permeabilidad de la membrana (Lyons, 1973). Todo ello conduce a desviaciones metabólicas y fisiológicas de las células de los tejidos del órgano o de la planta, y un incremento en los niveles de los productos de la respiración anaeróbica y otros metabolitos anormales, resultando la aparición de sabor y aroma desagradables, el acetaldehído y etanol han sido implicados en los desórdenes fisiológicos postcosecha de daños por frío en manzanas (Artés & Artés, 2003). El oscurecimiento se debe a una reacción entre compuestos fenólicos disueltos en la vacuola, con enzimas polifenoloxidasas del citoplasma, este oscurecimiento está relacionado con un

aumento en la actividad de las enzimas PPO (polifenol oxidasa) y la PAL (fenilalanina liasa) en la corteza y una disminución de los fenoles libres (Come, 1998). Los daños por frío (DF o CI por sus siglas en inglés *Chilling Injury*), se refieren a un síndrome que involucra varios eventos fisiológicos y características reconocibles, como picado de la superficie, deshidratación, y áreas hundidas, así como decoloración, aunque éstos varían dependiendo de la especie, cultivar, condiciones de frío, agricultura, entre otros, aunque no hay un tipo de daño común para todos los frutos, hay algunos síntomas que pueden ser reconocidos como daño por frío, algunos cambios ocurren a nivel celular e incluyen alteraciones de la membrana celular, plasmólisis e incremento de fuga de electrolitos. (Fernández y Martínez, 2006 en Valenzuela et al., 2017). Otros cambios implican alteraciones en el metabolismo, incluyendo mayor producción de etileno y la acumulación de compuestos anormales como malonildialdehído (MDA), como resultado de la respiración anaeróbica o daño oxidativo (Megías et al., 2016).

Una de las alteraciones más notables asociada a los DF, afecta la apariencia externa del fruto e incluye daño de la superficie, pérdida de firmeza, pérdida de peso, picado, hundimiento, decoloración, manchas translúcidas empapadas en agua, áreas empapadas en agua y lesiones profundas que pueden alcanzar tejidos subepidérmicos (Fernández y Martínez, 2006 en Valenzuela et al., 2017).

En pepinos se ha encontrado una disminución de la defensa antioxidante no enzimática glutatión, a-tocoferol y ascorbato durante el almacenamiento en frío. Más recientemente, la acumulación de ROS ha sido evaluada en fruta de pepino almacenada en frío, detectando un aumento gradual en el contenido de peróxido de hidrógeno y en la tasa de producción de aniones superóxido durante el almacenamiento (Chen & Yang, 2013).

El almacenamiento en frío induce la acumulación de peróxido de hidrógeno en tejidos de exocarpio y mesocarpio en fruto de pepino (Gualanduzzi et al., 2009). Además, una fuerte correlación positiva ha sido detectada en tejido de exocarpio entre peróxido de hidrógeno y contenido de MDA y DF, mientras que la actividad

CAT y los síntomas de DF se correlacionan negativamente en este mismo tejido (Carvajal, Martínez, Jamilena, & Garrido, 2011).

El fruto de calabacín, un cultivar tolerante al frío, acumula altos niveles de azúcares solubles, bajo condiciones de estrés por frío, asociados con un incremento de la defensa antioxidante. Por otra parte, la inducción de la vía de derivación GABA en la fruta de calabacín almacenada en frío, ha sido considerada como una contribución a la adquisición de tolerancia al frío, al aumentar la producción de agentes reductores y proveedores de energía. Por lo tanto, se puede deducir que una defensa antioxidante mejorada y un estado energético mejoran la calidad y tolerancia al frío en la fruta del calabacín (Palma, Carvajal, Lluch, Jamilena, & Garrido, 2014).

En papaya (*Carica papaya* L.) un fruto tropical susceptible a daños por frío (DF), se estudió el índice DF, nivel de energía y enzimas relacionadas al metabolismo energético en frutos almacenados a 16, 11, 6 y 1 °C, los resultados mostraron que no hubo síntomas de CI en frutos almacenados a 16 °C, mientras que hubo síntomas típicos incluyendo picado de la piel, escaldado y zonas acuosas en frutos almacenados a 11 °C y a 6 °C. Pero en los frutos almacenados a 1 °C no se observaron síntomas aparentes de daños por frío durante el almacenamiento, con la excepción de un ligero daño al final, se encontró que las enzimas relacionadas al metabolismo energético (ATP asa, deshidrogenasa succínico (SDH) y citocromo oxidasa c (CCO)) y el contenido de AXP (ATP + ADP + AMP) fueron mayores en los frutos almacenados a 1° C, por lo tanto un estatus energético más alto en los frutos de papaya durante el almacenamiento en frío, contribuye a una disminución de los daños por frío (Yong-Gui, Meng-Qi, Wei-Min, & Zheng-Ke, 2017).

En chícharos se han reportado bajos niveles de catalasa (CAT) y peroxidasa (POD), pero altos niveles de superóxido dismutasa (SOD), lipoxigenasa (LOX), fenilalanina amonía liasa (PAL), y polifenoloxidasa (PPO), durante el almacenamiento en frío, así como un incremento en MDA y ácidos grasos

saturados, los niveles de fenoles se han correlacionado positivamente con la incidencia de manchas (Prohens, Rodríguez-Burruezo, Raigón, & Nuez, 2007).

Concellón, Añón, & Chaves, (2007) reportaron un aumento en la disrupción de la membrana y organelos durante el almacenamiento en frío de berenjenas. Esta pérdida de compartimentación celular hace que los fenoles sean accesibles a la PPO. De manera similar, el pardeamiento del cáliz se correlacionó positivamente con la actividad de PPO (Fan et al., 2016). También se ha comprobado un aumento en la biosíntesis de ácido 1-amino ciclo propano 1-carboxílico y ácido abscísico (Serrano, Martínez-Madrid, Pretel, Riquelme, & Romojaro, 1997).

El ácido abscísico (ABA) se acumula en las plantas en respuesta a muchos factores de estrés, incluida la sequía, la salinidad y el frío. La acumulación de ABA previene la deshidratación celular al promover el cierre de estomas y la acumulación de moléculas osmoprotectoras, como los azúcares solubles y la prolina (Cheng et al., 2002). Además, el ABA puede inducir la respuesta de defensa antioxidante que reduce los efectos del estrés oxidativo, que aparece durante la deshidratación, y puede promover la inducción de genes que están involucrados en tolerancia a la deshidratación y al frío. Estos genes son conocidos como COR (Regulación en Frío) y ABRE (ABA enlace de elementos responsivos) (Valenzuela et al., 2017).

Los frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) almacenados a 5 °C, presentan daños por frío visibles 20 d después de la cosecha y después de su transferencia a 20 °C, los síntomas incluyen: áreas oscurecidas en la pulpa (con alta concentración de polifenoles), incapacidad de maduración y detención del desarrollo del color característicos en la pulpa de naranja o rojo, aumento en producción de CO₂ y etileno, menores acumulaciones de etanol, acetaldehído y azúcares totales, además a los 6-8 d después de la transferencia a temperatura ambiente presentan zonas acuosas en la pulpa (mesocarpio) y endurecidas cerca de la semilla (endocarpio). En frutos almacenados a 10 °C estos síntomas se presentan en menor proporción, mientras que en los frutos almacenados a 15 °C no se observan (Alía, Colinas, Martínez, & Soto, 2005).

El almacenamiento del fruto de zapote mamey, a bajas temperaturas origina una menor proporción de carotenoides totales, y retraso en algunos aspectos relacionados con la maduración como son azúcares totales, fenoles totales, firmeza, color de pulpa y acidez (Alia-Tejacal, Colinas-León, Martínez-Damián, & Soto-Hernández, 2002). La actividad de catalasa se inhibe durante el almacenamiento a bajas temperaturas, aumentando posteriormente durante la maduración y la polifenoloxidasas se incrementa confirmando que esta enzima está relacionada con el oscurecimiento de la pulpa de mamey expuesta a estas temperaturas (Alia, Saucedo, Martínez, & Colinas, 2000).

En aguacate los principales síntomas externos del daño por frío en frutos verdemaduros son picado (pitting) de la piel, escaldado y ennegrecimiento cuando se les mantiene a 0 - 2 °C por más de 7 días antes de transferirlos a las temperaturas para la maduración de consumo. Los frutos expuestos a 3 - 5 °C por más de dos semanas pueden presentar oscurecimiento interno de la pulpa (pulpa grisácea y manchada, pardeamiento de los haces vasculares), problemas para madurar y aumento la susceptibilidad al ataque de microorganismos patógenos. El momento en que el daño por frío comienza a desarrollarse y la severidad con que se presenta depende del cultivar, región productora y estado de desarrollo (Kader, 2002).

2.2.4 Alteraciones de las membranas con daño por frío

La alteración de las membranas en la afectación de daño por frío, implica un cambio de fase de los lípidos de la membrana y una modificación de la permeabilidad de la membrana (Lyons, 1973).

En los vegetales sensibles surgió una teoría conocida como “teoría membranaria”. Según esta teoría, las modificaciones de los lípidos membranares constituyen el evento primario de los desórdenes debidos al frío. El frío provoca modificaciones de la organización molecular y estructural de la matriz lipídica de las membranas. El efecto inmediato de las bajas temperaturas es un aumento global de la microviscosidad de la matriz. Por debajo de una temperatura crítica denominada “temperatura de transición”, este fenómeno induce una organización

de los lípidos membranaarios en estructura rígida, denominada sólido-gel. Cuando la duración de esta perturbación por el frío ha sido lo suficientemente prolongada, provoca una gran extensión de zonas rígidas en las membranas, lo que conduce a pérdidas de elasticidad, rupturas, y pérdidas de agua, iones y metabolitos (Lyons, 1973).

La teoría membranaria presenta como eventos más significativos un aumento de la salida de electrolitos, una transición de fase de los lípidos a la temperatura y cambios en la composición de los lípidos. Estos últimos son similares a los que ocurren durante la senescencia del fruto, e incluyen peroxidación de lípidos, aumento del índice de saturación de los ácidos grasos, degradación de los fosfolípidos, y galactolípidos y aumento de la relación esteroides/fosfolípidos (Sevillano et al., 2008). Como consecuencia se produce una disminución en la fluidez, disminución de la funcionalidad de la membrana y de las proteínas asociadas a ella, pérdida de turgencia, salida de electrolitos, pérdida de la energía metabólica, desintegración del sistema fotosintético y finalmente la muerte de la célula.

Es interesante resaltar, la posible relación entre el cambio en la composición de los lípidos de la membrana mitocondrial y la pérdida de energía metabólica en las células afectadas por los daños por frío. En efecto las modificaciones causadas afectan también a la estructura y a la actividad de las enzimas ligadas a las membranas y en particular las que catalizan la respiración y la producción de etileno. Se puso de manifiesto (Kacperska, 1989) que las bajas temperaturas provocan una disminución de la respiración y del coeficiente respiratorio de los vegetales. En algunos casos, la bajada de la temperatura tiene tendencia, de alterar el correcto funcionamiento de las enzimas de la respiración, disminuyendo la síntesis de ATP y activando los procesos fermentativos y la acumulación de etanol y acetaldehído. Este fenómeno se explica por el hecho de que el frío disminuye el nivel de las oxidaciones respiratorias y afecta menos la glicolisis (Raison, 1980). De esta forma se favorece la acumulación de compuestos procedentes de la fermentación, tóxicos para la célula.

Por otro lado, estudios fisiológicos y bioquímicos de órganos vegetales sensibles a la enfermedad mostraron que presentan una pérdida de la semi-permeabilidad membranaria y una estimulación de las enzimas de peroxidación de lípidos, como las lipoxigenasas, asociado a una ralentización de las enzimas antioxidantes como catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasas (Lyons, 1973).

2.2.5 Sistemas de defensa antioxidante

La red de defensa antioxidante actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Esta defensa puede actuar (i) minimizando la producción de ERO; o (ii) eliminando las ERO producidas, reduciendo la posibilidad de un eventual daño celular (Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda., 2012).

El organismo posee una serie de mecanismos de defensa con carácter antioxidante, cuya misión es la de combatir las alteraciones oxidativas, intentando minimizar de esta manera, las alteraciones y lesiones celulares. Estos mecanismos actúan con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante desplazado a favor de estos últimos. El término antioxidante puede definirse como cualquier sustancia que, estando presente a una concentración más baja comparada con el sustrato oxidable, inhibe o retrasa de un modo significativo la oxidación de dicho sustrato (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, debido a que estos reaccionan o interactúan más rápidamente con las ROS que el resto de moléculas presentes, en un determinado ambiente: membrana plasmática (vitamina E, carotenoides), citosol (SOD, CAT, PX, vitamina C), núcleo o líquido extracelular (vitamina E, vitamina C). La acción del antioxidante es en sacrificio de su propia integridad para evitar alteraciones en otras moléculas: lípidos, proteínas, ADN, etc. funcionalmente vitales o más importantes (Reitter, 1995). Dicho sistema antioxidante se puede clasificar en dos grandes grupos: enzimático y no enzimático.

Sistemas enzimáticos

Los sistemas de defensa enzimáticos están constituidos principalmente por enzimas antioxidantes que actúan convirtiendo las ROS en otras especies más estables. Sus actividades están estrechamente relacionadas y requieren la presencia de otras enzimas y sustratos para su correcto funcionamiento.

Aniones superóxido se detoxifican por la enzima superóxido dismutasa (SOD), que produce peróxido de hidrógeno que puede ser eliminado por la catalasa (CAT) y varias peroxidasas (POD) como como la tiorredoxina peroxidasa y glutatión peroxidasa, así como las enzimas que pertenecen al ciclo Foyer – Halliwell – Asada (Mittler, Vanderauwera, Gollery, & Breusegem, 2004). En este ciclo, la enzima ascorbato peroxidasa (APX) utiliza ascorbato para la reducción del peróxido de hidrógeno. El ascorbato oxidado es reciclado por la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) y la enzima dehidroascorbato reductasa (DHAR), en este caso el glutatión oxidante es reducido por la glutatión reductasa (GR) (Foyer & Noctor, 2011).

Sistemas no enzimáticos

Los sistemas no enzimáticos comprenden un amplio grupo de sustancias con carácter antioxidante, que pueden actuar como captadores de radicales o como quelantes de iones metálicos. La elevada actividad antioxidante de estos compuestos se debe fundamentalmente a que poseen una potente capacidad reductora, oxidándose ellos preferentemente en presencia de sustancias oxidantes y protegiendo de esta manera, las estructuras celulares. Los productos oxidados de estas sustancias son más estables y por tanto menos reactivos que las sustancias oxidantes originales.

En cuanto a los antioxidantes no enzimáticos, existen varios metabolitos en plantas, tales como carotenoides, compuestos fenólicos, ascorbato y glutatión que pueden ser utilizados como eliminadores de ROS. En tejidos con una alta tasa de respiración como frutos en desarrollo, en adición a los mecanismos de eliminación de ROS, la oxidasa alternativa mitocondrial (AOX) provee una alternativa para el flujo de electrones y puede reducir la producción de ROS, en

situaciones donde la cadena de transporte de electrones está saturada o sufre algún daño (Vanlerberghe, 2013).

Proteínas de choque térmico

Estas proteínas específicas se denominan “de choque térmico” debido a que se confirmó su síntesis como respuesta a temperaturas elevadas, aunque también se les denomina “proteína de estrés” porque otros agentes estresantes pueden inducir su síntesis (Sevillano et al., 2008). Hoy en día se conoce que todos los organismos tienen la capacidad de sintetizar este tipo de proteínas ante la incidencia de diversos factores estresantes (Parsell & Lindquist, 1993).

Las proteínas de estrés (HSPs) engloban diversos tipos que se diferencian por su peso molecular, propiedades y estructura (Gusev, Botatchera, & Marston, 2002). Algunas HSPs son necesarias para el crecimiento en un rango normal de temperaturas y son constitutivas, otras ayudan a las células a resistir los efectos dañinos de ciertas condiciones extremas como temperaturas elevadas, el estrés oxidativo, la presencia de compuestos orgánicos, metales pesados y otros factores considerados como estresantes. También la maduración del fruto y el estrés oxidativo inducen la acumulación de HSPs (Medina-Escobar, Cardenas, Muñoz-Blanco, & Caballero, 1998; Lee et al., 2000).

El efecto protector lo ejercen actuando como chaperonas moleculares, proteínas que ayudan a otras proteínas a mantener o a recuperar su conformación nativa, estabilizando estados parcialmente desnaturalizados.

Durante el estrés, se induce la desnaturalización y disfunción de muchas proteínas, y es entonces cuando intervienen las HSPs ayudando a mantener el adecuado plegamiento y conformación de proteínas estructurales y funcionales (Sánchez-Bel et al., 2012; Vinocur & Altman, 2005).

Bajo las condiciones normales de crecimiento en los tejidos vegetativos la mayoría de las HSPs, por lo general, no se pueden detectar, pero se acumulan rápidamente en respuesta a un choque térmico. Se ha comprobado que su acumulación es proporcional a la temperatura y al periodo de tiempo que actúa

el estrés y en ocasiones está acompañada de la adquisición de la resistencia a los daños por frío (Polenta, Calvete, & González, 2007; Rozenzvieg, Elmac, Samach, Lurie, & Porat, 2004).

2.2.6 Papel del etileno

El almacenamiento a bajas temperaturas y posterior calentamiento de los frutos, promueve una rápida producción de etileno, seguida por una disminución. Estos resultados muestran que los efectos del frío sobre la síntesis de etileno implican:

- Una reducción de la actividad de ACC oxidasa sin ser limitante sobre la producción de etileno.
- Un aumento de transcritos de ACC sintetasa, que conduce durante el calentamiento al aumento de la formación de proteína ACC sintetasa seguida de un incremento de ACC y posteriormente de etileno.

El papel del etileno, junto con las bajas temperaturas se ha puesto de manifiesto en experiencias realizadas en diversos frutos. Por ejemplo, el melón transgénico “Cantalupe charentais”, que tiene inhibida la producción autocatalítica de etileno, presenta una aparente resistencia a los daños por frío, con un nivel bajo de desintegración de la membrana al ser bajo el porcentaje de salida de electrolitos. Esta baja producción de etileno también se observó en estos melones durante la maduración (Ben Amor et al., 1999; Martinez-Madrid, Flores, & Romojaro, 2002).

Se estudió la relación entre el etileno y DF en dos variedades de ciruela, una climatérica y otra no climatérica, En la ciruela climatérica se apreciaron DF, mientras que la ciruela no climatérica se mantuvo sin daños. La incidencia de los DF en la ciruela variedad climatérica está relacionada con un aumento inducido por el frío de la capacidad de producir etileno lo que confirma que los DF están relacionados con la pauta climatérica (Candan, Graell, & Larrigaudiere, 2008). Esto sugiere que el etileno está asociado a la presentación de los daños por frío y los frutos más sensibles al etileno, tienen mayor cantidad de daños por frío.

Las poliaminas que tienen una acción antagónica del etileno y la propiedad de retardar la senescencia por preservar la integridad de la membrana (Galston &

Kaur-Sawhney, 1987) están presentes en gran cantidad en los vegetales que son resistentes a la enfermedad de daño por frío (Kramer & Wang, 1989).

2.2.7 Tratamientos para la reducción de daños por frío en frutos

Se han desarrollado varios métodos para reducir los daños por frío, entre los que se encuentran el acondicionamiento de bajas o altas temperaturas, calentamiento intermitente, inmersión en agua caliente, empaçado en atmósferas modificadas, atmósferas controladas y reguladores del desarrollo (Cáceres, Rodríguez, Mulkay, & Paumier, 1990).

Los tratamientos de preacondicionamiento postcosecha a temperaturas moderadas antes del almacenamiento en frío, permiten una adaptación progresiva del fruto a las temperaturas. En calabacín se ha reportado que un preacondicionamiento a 15° C por dos días antes del almacenamiento a 4° C, reduce los síntomas de daños por frío, previniendo el deterioro de la membrana celular y mejorando el estatus antioxidante del fruto preacondicionado. Estos tratamientos son capaces de reducir la peroxidación lipídica y la fuga de iones, que son indicadores de la pérdida de integridad de la membrana, y también disminuye el contenido de H₂O₂, induciendo así las actividades de las enzimas antioxidantes como la peroxidasa de ascorbato (APX) y la catalasa (CAT) (Wang et al., 2013).

El análogo del etileno 1-metilciclopropeno (1-MCP) puede unirse irreversiblemente a los receptores de etileno, evitando la respuesta al etileno. Los tratamientos postcosecha con 1-MCP son efectivos, estables en el tiempo y no tóxicos, pero su efectividad es altamente variable y depende de la especie y cultivar, condiciones del tratamiento y estado de maduración del fruto, se ha demostrado que el 1-MCP previene el deterioro de la calidad de frutos por retraso de su maduración o senescencia, pero también induce la tolerancia al frío (Cao, Yang, & Zheng, 2012).

Recientemente se ha probado que la aplicación de ABA induce la tolerancia al frío en el cultivar de calabacín sensible al frío Sinatra, mientras que el tratamiento

con inhibidor de ABA, tungstato sódico, reduce la tolerancia al frío en la variedad Natura tolerante al enfriamiento (Valenzuela et al., 2017).

Los tratamientos utilizados para reducir el daño causado por almacenamiento en frío en frutos sensibles conducen a la reducción del estrés oxidativo aumentando la defensa antioxidante (Carvajal et al., 2011).

El ABA (ácido abscísico) se acumula en las plantas en respuesta a muchos factores de estrés, incluida la sequía, la salinidad y el frío. La acumulación de ABA previene la deshidratación celular al promover el cierre de estomas y la acumulación de moléculas osmoprotectoras, como los azúcares solubles y la prolina (Cheng et al., 2002).

La aplicación de diversos antioxidantes como la etoxiquina, la difenilamina, el benzoato sódico, el escualeno o el α -farnaseno, algunos fungicidas como benomilo, tiabendazol o imazalil, los vapores de etanol (reducen la respiración y la emisión de etileno), las disoluciones de calcio (mayores concentraciones de Ca^{++} en los tejidos se ha asociado a menor susceptibilidad a DF), la mayoría de los reguladores del crecimiento al afectar procesos bioquímicos y fisiológicos que pueden a su vez afectar la tolerancia al estrés por frío (etileno, ácido giberélico, ácido abscísico y análogos, el ácido jasmónico y jasmonato de metilo, triazoles), e incluso las poliaminas (por su actividad antioxidante y estabilizadora de las membranas, aunque con resultados contradictorios), se han mostrado eficaces para reducir algunos DF en numerosos productos hortofrutícolas climatéricos como manzana, pera y aguacate, y no climatéricos como cítricos, pimiento, pepino o calabacín (Artés & Artés, 2003).

2.2.8 Evaluación de los daños por frío

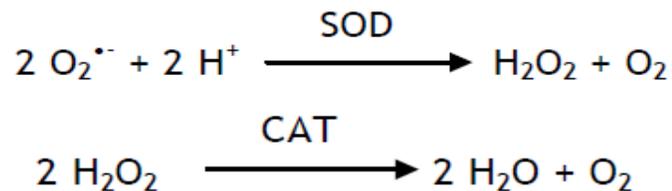
La evaluación de los daños por frío comprende además de los síntomas visibles de las lesiones como los cambios en el color, el aumento en producción de CO_2 y etileno, y metabolitos como el malondialdehído, etanol y acetaldehído, los cambios en los sistemas de defensa antioxidante que incluyen sustancias antioxidantes no enzimáticas como la vitamina C, E, compuestos fenólicos y carotenoides, y las enzimas como la superoxidodismutasa, catalasa,

lipoxigenasa, peroxidasa, polifenoloxidasa, ascorbato peroxidasa y glutatión peroxidasa, que a continuación se comentan.

Superoxido dismutasa (SOD) (EC. 1.15.1.1) y catalasa (CAT) (EC. 1.11.1.6)

Las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), son sistemas enzimáticos de defensa antioxidante en las plantas, que eliminan al radical superóxido, por lo que un aumento de éstas sugiere un estrés de daño por frío, durante las etapas de reacción de alarma y resistencia, y posteriormente una disminución en el colapso o agotamiento, con síntomas visibles de lesión.

La enzima superóxido dismutasa (SOD), elimina el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), transformándolo en peróxido de hidrógeno, también oxidante, el cual será eliminado posteriormente por acción de la catalasa (CAT) o la glutatión peroxidasa (GPX). La SOD es una metaloenzima, que elimina el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) produciendo O_2 y H_2O_2 (Mittler, 2002). La CAT es también una metaloenzima, y es la encargada de completar el proceso de eliminación del $O_2^{\cdot-}$, catalizando la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Mittler, 2002). Por medio de las siguientes reacciones:



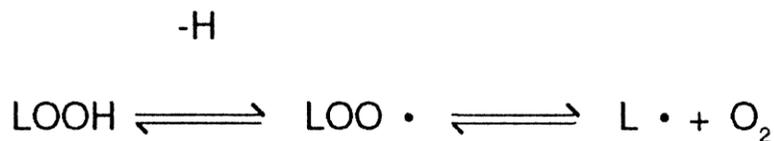
La actividad de la SOD se puede determinar espectrofotométricamente al monitorear la inhibición de la reacción fotoquímica del nitro azul tetrazolium (NBT), donde una unidad de actividad SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para provocar 50% de la inhibición de la reducción del NBT monitoreado a 560 nm. La actividad de la SOD se expresa en $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína (Machín-Suaréz, Chávez-Sánchez, Héctor-Ardisana, Santos-Cervantes, & Pérez Álvarez, 2017).

La actividad catalasa se puede determinar espectrofotométricamente por la descomposición del peróxido de hidrógeno a 240 nm, 37°C en una solución tampón de fosfato de sodio, 20 mM, pH 7,0. (Maykelis, Pérez, Prieto, Wencomo, & Lugo, 2010)

Lipoxigenasa (LOX) (EC 1.13.11.12)

Las lipoxigenasas (LOX) constituyen una familia de enzimas que contienen hierro no hemínico y que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, cuyo objetivo principal es la degradación oxidativa de ácidos grasos poliinsaturados, obteniendo metabolitos con diferentes funciones fisiológicas. Asimismo, presentan autoinactivación en condiciones anaerobias, probablemente la LOX tiene una función general en respuesta a requerimientos de la planta mediante la síntesis de hidroperóxidos de ácidos grasos poliinsaturados (Sanz, Pérez, & Olías, 1992a).

Las LOX muestran otras propiedades enzimáticas como son el intercambio de oxígeno y la doble oxigenación, así como la formación de radicales de hidroperóxidos y radicales de ácidos grasos, como se muestra en la siguiente reacción:



Existen principalmente tres grandes áreas de la fisiología vegetal donde la lipoxigenasa (LOX) ha sido implicada:

- 1) Crecimiento y desarrollo
- 2) Senescencia
- 3) Respuesta a daño y resistencia a plagas.

Algunos autores han mostrado la participación de LOX en la biosíntesis de etileno de estrés (Sanz, Pérez, & Olías, 1992b) por lo que al presentarse el estrés por frío, hay un incremento en la actividad LOX, en respuesta del mecanismo de

defensa de la planta, y en forma similar al comportamiento de las enzimas SOD y CAT, se vería incrementada, hasta el punto de que los daños por frío sean visibles.

La actividad LOX se puede determinar en base a lo publicado por Grossman & Zakut, (1979), un método espectrofotométrico en el que se incuba una solución de ácido linoleico en presencia del extracto enzimático y se mide la absorbancia a 234nm, longitud de onda característica de los dienos conjugados. Por este método, la presencia de la enzima se manifiesta por su acción peroxidante sobre el ácido linoleico que conduce a la formación de hidroperóxidos los cuales, por una reacción secundaria, dan lugar a dienos conjugados responsables del incremento de la absorbancia.

Peroxidasa (POD) (EC. 1.11.1.7)

Las peroxidasas son un tipo de enzimas que pertenecen a la categoría de las oxidorreductasas, que catalizan reacciones bisustrato de carácter redox, utilizando peróxido de hidrógeno como oxidante (a lo que deben su nombre) y un sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido, tales sustratos pueden ser fenoles, aminas aromáticas, entre otras moléculas orgánicas, se muestra la reacción a continuación (Moschos, 2007):

POD



La actividad peroxidasa se puede determinar espectrofotométricamente; midiendo la descomposición del peróxido de hidrógeno a 436 nm y a 25 °C, utilizando guayacol como agente donador de hidrógeno, preparado en una solución de concentración 0,018 mol L⁻¹ (Moschos, 2007). Los métodos utilizados para la determinación de la actividad peroxidasa son sencillos, ya que se basan en la estimación espectrofotométrica directa de la aparición de productos de reacción coloreados. Son muchos los sustratos utilizados, entre los que cabe destacar el guayacol, el 4-metoxi-a-naftol (4-MN) el ácido 2,2'-azino-di-[3-etil-benzotiazolino-(6)-sulfónico] (ABTS), la tetrametilbenzidina (TMB) y

determinadas aminas aromáticas como la odianisidina, la p-fenilendiamina o la mesidina (cada vez menos utilizadas por sus propiedades carcinogénicas) (Pomar, 2000).

Las peroxidasas son un grupo de enzimas que oxidan sustratos a expensas del peróxido de hidrógeno. En las plantas desempeñan un papel catalítico en el proceso de lignificación del xilema, expresándose también en la epidermis de los órganos aéreos (Muñoz & Barceló, 1992). El papel de las peroxidasas en los procesos de respuesta de las plantas ante los patógenos o estrés oxidativo es muy amplio, e incluye su papel regulador en la presencia de H₂O₂, la insolubilización de la extensina y síntesis de suberina, los entrecruzamientos intermoleculares en la matriz de la pared celular y la síntesis de ligninas. En el caso del control de la concentración de peróxido la peroxidasa actúa conjuntamente con otros sistemas, como la catalasa o la ascorbato peroxidasa (Pomar, 2000).

Polifenoloxidasas (PPO) (EC 1.10.3.1, 1.10.3.2, 1.14.18.1)

Las polifenol oxidasas (PPOs) son enzimas ubicuas que catalizan la reacción dependiente de oxígeno que transforma o-difenoles en o-quinonas (Morante et al., 2014).

En la degradación oxidativa de compuestos fenólicos, participan dos enzimas que son muy relevantes en términos de calidad de frutos y vegetales, por la formación de melaninas que oscurecen los frutos. Estas enzimas son la polifenol oxidasas (PPO) y la peroxidasa (POD) (Morante, Obrebska, Bru, & Carranza, 2018).

A pesar de que las funciones biológicas no se conocen todavía en detalle, la bibliografía sugiere como función más aceptada la participación de enzimas PPO en la defensa de las plantas frente a patógenos y herbívoros. Una lesión, corte o infección en un tejido vegetal produce la mezcla de la enzima con sus sustratos fenólicos, dando lugar a la formación de o-quinonas. Estas pueden unirse a proteínas inactivándolas o pueden polimerizarse dando lugar a melaninas, que oscurecen o pardean la zona afectada haciéndola poco accesible para patógenos e invasiones bióticas. Algunos autores han descrito que la PPO participa en la

generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) como productos secundarios de la oxidación de compuestos fenólicos en extractos de plantas. Entonces las enzimas PPO son indicativo del estrés por frío, por daño que une las enzimas con sus sustratos y posteriormente aparecen los colores oscuros (Morante et al., 2018).

La actividad PPO, se puede determinar espectrofotométricamente por el cambio de absorbancia a 460 nm con catecol como sustrato para la oxidación (Lamikanra, 1995).

Ascorbato peroxidasa (APX) (EC 1.11.1.11)

Esta enzima juega un papel central en el ciclo ascorbato-glutatión, principal ruta de eliminación del H_2O_2 producido a partir del superóxido, a través de una serie de reacciones redox que incluye la oxidación de glutatión en su forma reducida (GSH) y ascorbato (ASC) por H_2O_2 .

La conversión de H_2O_2 a H_2O por la enzima ascorbato peroxidasa (APX) ocurre por la oxidación del ASC a monodehidro-ascorbato (MDA), que puede regenerarse por la monodehidroascorbato reductasa (MDAR) con Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato (NADPH) como reductor. El MDA puede dismutarse espontáneamente en dehidro-ascorbato (DHA) por la oxidación de glutatión en su forma reducida a glutatión en su forma oxidada (GSH a GSSG). Finalmente, la enzima glutatión reductasa (GR) puede regenerar GSH a partir de glutatión disulfuro (GSSG), usando NADPH como agente reductor. La enzima glutatión reductasa (GR) también detoxifica H_2O_2 a H_2O , usando directamente GSH como reductor. Así, las formas oxidadas del ASC y el GSH son conducidas a sus estados reducidos iniciales, cerrando el ciclo y previniendo la acumulación de H_2O_2 (Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda., 2012).

La determinación de ascorbato peroxidasa se realiza espectrofotométricamente basándose en la reacción de H_2O_2 , registrándose el decremento en la absorbancia a 290 nm, por la oxidación del ácido ascórbico a intervalos de 30 seg durante 3 min a 26-28 °C, utilizando amortiguador de fosfato y EDTA como

coadyuvantes de la determinación (Trujillo-Villagarcía, Zavaleta-Mancera, Mora-Herrera, & López-Delgado, 2006).

Glutación peroxidasa (GPX) (EC 1.11.1.9)

La GPX (Glutación peroxidasa) una metaloenzima que tiene como función principal la eliminación del H₂O₂, y para desempeñar su función, requiere la presencia de glutación reducido (GSH), un tripéptido de glutamato, cisteína y glicina, con un grupo sulfidhirilo (-SH). El glutación reducido es utilizado como donador de un átomo de hidrógeno (electrón) y el radical tiilo que se forma se estabiliza reaccionando con otro radical tiilo formando disulfuro de glutación o glutación oxidado (GSSG). La reducción del GSSG por acción de la enzima glutación reductasa (GR) regenera el GSH. En esta reducción se invierte una molécula de NADPH, que se regenera por la acción de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de la vía de las pentosas fosfato (Mittler, 2002). Esta enzima puede determinarse mediante un método cinético compuesto NADPH-dependiente, utilizando un fotómetro automático y reactivos comerciales, tales como Ransel® (Villa, Wilson, & Ceballos, 2008).

2.3 Literatura citada

- Aguirre-Crespo, F. J., Espíndola-Ramírez, H. A., Alatraste Kurzel, D. R., Peralta, S. J. A., Zamora, C. P., Maldonado, V. M. G., Hernández, N. E. (2017). Four methods of extraction in leaves of *Byrsonima crassifolia* and their effects in gastrointestinal smooth muscle strips. *21st International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*.
- Alia, Tejacal Iran, Colinas, L. T., Martínez, D. M., & Soto, H. R. (2005). Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). I. cambios en volátiles, firmeza y azúcares totales. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(1), 17–24.
- Alia-Tejacal, I., Colinas-León, M. T., Martínez-Damián, M. T., & Soto-Hernández, M. R. (2002). Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, VIII(02), 263–271. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2001.11.083>
- Alia, T. I., Saucedo, V., Martínez, D., & Colinas, L. (2000). Temperaturas de almacenamiento y maduración en frutos de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 73–78.

- Alves, G. L., & Franco, M. R. B. (2003). Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). *Journal of Chromatography A*, 985(1–2), 297–301. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01398-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01398-5)
- Aparecido, M. V, Castro, J. C., Matias, V. J., Correia da Costa, J. M., & Clemente, E. (2016). Physicochemical quality of Murici covered with starch-based coverings and stored at different temperatures. *African Journal of Agricultural Research*, 11(15), 1344–1352. <https://doi.org/10.5897/ajar2015.9723>
- Araújo, A. C. M. A., Menezes, E. G. T., Terra, A. W. C., Dias, B. O., Oliveira, É. R., & Queiroz, F. (2018). Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits' wastes: Pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. *Food Science and Technology*, 38, 203–214. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/fst.19417>
- Arias, C. J., & Toledo, J. (2007). Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales (papaya, piña, plátano y cítricos). *Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación (FAO). Roma, Italia.*, 33p.
- Artés, F. ., & Artés, H. (2003). Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. *Avances En Ciencias y Técnicas Del Frío-1. UPCT y SECYTEF.*, 299-310.
- Bayuelo-Jiménez, J. S. (2008). *Malpigiaceae Byrsonima crassifolia* nance. In J. Janick & R. E. Paull (Eds.), *The Encyclopedia of Fruit & Nuts* (pp. 459–461). Cambridge, MA, USA: CABI.
- Belisário, C. M., & Coneglian, R. C. C. (2013). Qualidade de Frutos de Murici (*Byrsonima crassifolia*, *Malpighiaceae*) Armazenados sob Refrigeração. *Global Science and Technology*, 6(2), 95–101. <https://doi.org/10.14688/1984-3801.v06n02a11>
- Belisário, C. M., & Cavestré, C. R. C. (2013). Qualidade de frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*, *Malpighiaceae*) armazenados sob refrigeração. *Global Science and Technology*, 6(3), 95–101. <https://doi.org/10.3327/jaesj.49.209>
- Ben Amor, M., Flores, B., Latche, A., Bouzayen, M., Pech, J. C., & Romojaro, F. (1999). Inhibition of ethylene biosynthesis by antisense ACC oxidase RNA preventchiling injury in *Charentais cantaloupe* melon. *Plant. Cell. Environ.*, 22, 1579–1586.
- Biswas, P., East, A. R., Hewett, E. W., & Heyes, J. A. (2016). Chilling injury in Tomato fruit. *Horticultural Reviews*, 44, 229–278. <https://doi.org/10.1002/9781119281269.ch5>
- Caballero-Roque, A., Vela, G., Pérez, J., Escobar, R., & Ballinas, J. (2012). Uso de Nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) en Gelatina Artesanal para Niños. *Etnobiología*, 10(2), 50–55.

- Cáceres, I., Rodríguez, J., Mulkay, T., & Paumier, A. (1990). Conservación De Productos Hortofrutícolas. *Fao*, 1–19. Retrieved from <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/5012/cuf0127s.pdf>
- Candan, A. P., Graell, J., & Larrigaudiere, C. (2008). Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 107–112.
- Cao, S., Yang, Z., & Zheng, Y. (2012). Effect of 1-methylcyclopene on senescence and quality maintenance of green bell pepper fruit during storage at 20 C. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 1–6.
- Carvajal, F., Martinez, C., Jamilena, M., & Garrido, D. (2011). Differential response of zucchini varieties to low storage temperature. *Scientia Horticulturae*, 130, 90–96.
- Chen, B., & Yang, H. (2013). 6-Benzylaminopurine alleviates chilling injury of postharvest cucumber fruit through modulating antioxidant system and energy status. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 1915–1921. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5990>
- Cheng, W. H., Endo, A., Zhou, L., Penney, J., Chen, H. C., Arroyo, A., & Seo, M. (2002). A unique short-chain dehydrogenase/reductase in *Arabidopsis* glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. *Plant Cell*, 14, 2723–2743.
- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2016). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J.*, 90, 856–867.
- Come, D. (1998). Cellular and metabolic effects of cold on fruits and vegetable. *Conference Physiological and Technological Aspects of Gaseous and Thermal Treatments of Fresh Fruits and Vegetable. Madrid.*
- Conabio. (2019). *Byrsonima crassifolia*. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Gobierno de México. Retrieved from http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/35-malpi1m.pdf
- Concellón, A., Añón, M. C., & Chaves, A. R. (2007). Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). *Food Science and Technology*, 40, 389–396.
- Da Cunha, M. C., Machado, P. da S., Araújo, A. B. S., Carvalho, E. E. N., & Vilas Boas, E. V. de B. (2019). Impact of processing and packaging on the quality of murici jelly [*Byrsonima crassifolia* (L.) rich] during storage. *Nutrition and Food Science*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1108/NFS-09-2019-0293>
- Da Silva, P. M. C., Neves, L. C., Bastos, V. J., Lima, C. G. B., de Araújo, K. G. M., & Roberto, S. R. (2016). Harvesting period of Murici (*Byrsonima crassifolia* Kunth) fruit in relation to physical and chemical parameters evaluated during fruit development. *Scientia Horticulturae*, 200, 66–72.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.041>

- Darras, A. I. (2020). The chilling injury effect in cut flowers: a brief review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 95(1), 1–7. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1629340>
- De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Queiroz, F., Borges, S. V., & De Deus Souza Carneiro, J. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, 134(1), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.191>
- Del Río, L. A., & López-Huertas, E. (2016). ROS generation in peroxisomes and its role in cell signaling. *Plant Cell Physiol.*, 57, 1364–1376.
- Dias Alexandrino, V. H., Dos Santos De Sousa, J., & do Carmo Bastos, M. de N. (2011). Estudo taxonômico da família *Malpighiaceae* Juss. das restingas de Algodoal/Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brasil. In *The taxonomic study of the Malpighiaceae Juss. family of the restingas of Algodoal/Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brazil.* (pp. 335–347). Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Naturais, 6(3).
- Donadio, L. C., Moro, F. V., & Servidone, A. A. (2002). Frutas brasileiras. In *Jaboticabal*. Sao Paulo, Brasil: Editora Novos Talentos.
- Drago, S. M. (2007). Flavonoides recombinantes de relevancia farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(4), 42–47.
- Duarte, O. (2011). Nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits, Volume 4: Mangosteen to white sapote* (pp. 44–50). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Duarte, O., & Paull, R. (2015). Other families. In *Exotic fruits and nuts of the New World* (pp. 254–316). <https://doi.org/10.1079/9781780645056.0000>
- Duarte, O., & Vernon, R. (2002). Biología floral y reproductiva del nance (*Byrsonima* sp). *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 46, 40–41.
- Fan, L., Shi, J., Zuo, J., Gao, L., Lv, J., & Wang, Q. (2016). Methyl jasmonate delays postharvest ripening and senescence in the non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 120, 76–83.
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2011). Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. *Plant Physiology*, 155, 2–18.
- Galston, A. W., & Kaur-Sawhney, R. (1987). *Polyamines and senescence in plant. En Plant Senescence: Its biochemistry and physiology.* (W. N. Thompson, Ed.). Amer. Soc. Plant. Physiol.

- García, M., Michelangeli, F., Fernández, Á., Villamizar, J., Salazar, F., & Taylor, P. (2013). Anti-inflammatory effects of (+)-catechin isolated from the bark of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *79*(13). <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352069>
- García, M., Villamizar, J. E., Salazar, F., Ibarra, C., Michelangeli, F., Ruiz, M. C., & Taylor, P. (2012). Anti-inflammatory effects of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *78*, PI130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1055/s-0032-1320817>
- González-Saucedo, A., Barrera-Necha, L. L., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., & Hernández-López, M. (2019). Postharvest Biology and Technology Extension of the postharvest quality of bell pepper by applying nanostructured coatings of chitosan with *Byrsonima crassifolia* extract (L .) Kunth. *Postharvest Biology and Technology*, *149*(October 2018), 74–82. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.11.019>
- Gordon, A. (2012). *Bioactive compounds in underutilized tropical fruits from Latin America*. Doktorarbeit. Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften (IEL).
- Grossman, S., & Zakut, R. (1979). Determination of Activity of Lipoxygenase. *Methods of Biochemical Analysis.*, *25*, 303–326.
- Gualanduzzi, S., Baraldi, E., Braschi, I., Carnevali, F., Gessa, C. E., & De Santis, A. (2009). Respiration, hydrogen peroxide levels and antioxidant enzyme activities during cold storage of zucchini squash fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *52*, 16–23.
- Gusev, N. B., Botatchera, N. V., & Marston, S. B. (2002). Structure and properties of small heat shock protein and their interaction with cytoskeleton proteins. *Biochemistry*, *67*, 511–519.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1989). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press.
- Halliwell, B. (1996). Cellular stress and protective mechanisms. *Biochem. Soc. Trans.*, *24*, 1023-1027.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, *141*, 312-322.
- Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Reyes-Chilpa, R., León, E., García, M. P., Huerta-Reyes, M. (2011). Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, *18*(14), 1255–1261. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.018>
- Ibarra, D. J. A. (2016). Variabilidad genotípica de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) y manejo poscosecha de frutos tratados con 1-MCP. *Universidad*

Autónoma de Nayarit.

- Irías-Mata, A., Jiménez, V. M., Björn, C., Schweiggert, R. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2018). Carotenoids and xanthophyll esters of yellow and red nance fruits (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) from Costa Rica. *Food Research International*, 111(May), 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.063>
- Kacperska, A. (1989). *Metabolic consequences of low temperature stress physiology in crops*. (H. J. Paul, Ed.). Florida: CRC. Press.
- Kader, A. A. (2002). Postharvest biology and technology: an overview. In A. A. Kader (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops* (pp. 39–47). Davis California: University of California.
- Kramer, G. F., & Wang, C. Y. (1989). Correlation of reduced chilling injury with increased spermidine and spermine levels in zucchini squash. *Physiol. Plant*, 76, 479-484.
- Kunth, C. S. (1821). *Nova Genera et Species Plantarum Quas in Peregrinatione ad Plagam Aequinoctialem Orbis Novi Collegerunt Bonpland et Humboldt*. Paris: Chez N. Maze, Libraire.
- Lamikanra, O. (1995). Enzymatic browning of Muscadine grapes products. In C. L. Lee & J. R. Whitaker (Eds.), *Enzymatic Browning and its Prevention* (pp. 166–177). ACS. Washington, USA.
- Lee, B. H., Won, S. H., Lee, H. S., Miyao, M., Chung, W. J., & Kim, I. J. (2000). Expression of the chloroplast localized small heat shock proteins by oxidative stress in rice. *Gene*, 245, 283–290.
- Lim, C. S., Kang, S. M., Cho, J. L., & Gross, K. C. (2009). Antioxidizing enzyme activities in chilling-sensitive and chilling-tolerant pepper fruit as affected by stage of ripeness and storage temperature. *J. Am. Soc. Hortic Sci.*, 134, 156–163.
- Lukatkin, A., Brazaityte, A., Bobinas, C., & Duchovskis, P. (2012). Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Agriculture*, 99(2), 111–124.
- Lyons, J. (1973). Chilling injury in plants. *Plant Physiology*, (24), 445–466.
- Machín-Suaréz, A., Chávez-Sánchez, E., Héctor-Ardisana, E., Santos-Cervantes, M., & Pérez Álvarez, S. (2017). Actividad de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate cv. Amalia en respuesta al plomo. *Horticultura Brasileira*, 35, 216–223. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620170210>
- Maldini, M., Sosa, S., Montoro, P., Giangaspero, A., Balick, M. J., Pizza, C., & Loggia, R. Della. (2009). Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(3), 430–433.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.002>

- Maldonado, P. M. de los Á., Sánchez, S. P., Rojas, G. A. R., Valenzuela, L. J. L., Bottini, L. M. B., & Alaniz, G. L. (2020). Caracterización y evaluación de frutos de “nanche” (*Byrsonima crassifolia* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(1), 151–160.
- Mariutti, L. R. B., Rodrigues, E., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids from *Byrsonima crassifolia*: Identification , quantification and in vitro scavenging capacity against peroxy radicals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 155–160. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.005>
- Mariutti, Lilian R.B., Rodrigues, E., Chisté, R. C., Fernandes, E., & Mercadante, A. Z. (2014). The Amazonian fruit *Byrsonima crassifolia* effectively scavenges reactive oxygen and nitrogen species and protects human erythrocytes against oxidative damage. *Food Research International*, 64, 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.032>
- Martinez-Madrid, M. C., Flores, F., & Romojaro, F. (2002). Behaviour of ABA and polyamines in antisense ACC oxidase melon during ripening. *Fund Plant Biol.*, 29, 865-872.
- Martínez-Vázquez, M., González-Esquinca, A. R., Cazares Luna, L., Moreno Gutiérrez, M. N., & García-Argáez, A. N. (1999). Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K. *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 79–82.
- Martínez-Moreno, E., Corona, T. T., Avitia, G. E., González, C. A. M., Terrazas, T., Colinas, L. M., & Torres, M. R. (2010). Caracterización morfológica de hojas de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(4), 15–19.
- Maykeli, D., Pérez, Y., Prieto, M., Wencomo, H., & Lugo, Y. (2010). Determinación de antioxidantes enzimáticos en variedades e híbridos de *Morus alba*. *Pastos y Forrajes*, 33(3).
- Medina-Escobar, N., Cardenas, J., Muñoz-Blanco, J., & Caballero, J. L. (1998). Cloning and molecular characterization of strawberry fruit ripening related cDNA corresponding a mRNA for a low molecular weight heat shock protein. *Plant. Mol. Biol.*, 33, 36–42.
- Medina-Torres, R., Salazar-García, S., Ibarra-Estrada, M. E., & López-Guzmán, G. G. (2016). Descriptores morfológicos de hoja y fruto de selecciones comerciales de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK) en Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias*, 3(4), 269–285. <https://doi.org/https://doi.org/10.15741/revbio.03.04.03>
- Medina-Torres, R., Salazar-García, S., Valdivia-Bernal, R., & Martínez-Moreno, E. (2012). Fenología de la floración y ciclos reproductivos del nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK) en Nayarit. *Universidad y Ciencia*, 28(3), 259–269.

- Medina-Torres, Raúl, Ortíz-Catón, M., & Valdivia-Bernal, R. (2012). Propiedades medicinales y otros usos del nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK). *Revista Fuente Nueva Época*, 4(11), 16–22.
- Medina-Torres, Raúl, Salazar-García, S., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Fruit quality indices in eight nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) selections. *HortScience*, 39(5), 1070–1073. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.1070>
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., Garcia, A., del Mar, R. F. M., Valenzuela, J. L., & Jamilena, M. (2016). Ethylene biosynthesis and signaling elements involved in chilling injury and other postharvest quality traits in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Postharvest Biology and Technology*, 113, 48–57.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 7, 405–410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.*, 9, 490–498.
- Morante, C., Agnieszka, O., Bru-Martínez, R., Carranza, P., Pico-Saltos, R., & R., N. (2014). Distribución, localización e inhibidores de las polifenoloxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*, 7(1), 23–31.
- Morante, C., Obrebska, A., Bru, M., & Carranza, P. (2018). *Polifenol Oxidasa propiedades moleculares y función biológica*. (1a Ed). Guayaquil, Ecuador.: Editorial Grupo Compás.
- Moreno, M. J., & Vera, S. K. (2011). *Los recursos genéticos de nanche (Byrsonima crassifolia) en México*.
- Moschos, A. (2007). *Analysis of synovial fluid in the horse - in particular de activity of the enzyme myeloperoxidase in synovia from diseased joints and tendon sheats*. Doctoral Thesis, FU-Berlin Germany.
- Muñiz-Ramírez, A., Pérez-Gutiérrez, R. M., García-Báez, E., & Mota-Flores, J. M. (2014). Antimicrobial activities of diterpene labdane from seeds of *Byrsonima crassifolia*. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(1), 31–37.
- Muñoz, R., & Barceló, A. (1992). Peroxidasas vegetales. *Investigación y Ciencia.*, (184).
- Neves, L. C., da Silva, P. M. C., Lima, C. G. B., Bastos, V. J., & Roberto, S. R. (2015). Study to determine the optimum harvest date of Murici (*Byrsonima coccolobifolia* Kunth.) from quality and functional attributes. *Scientia Horticulturae*, 188, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.039>
- Neves, L. C., Tosin, J. M., Benedette, R. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chemistry*, 174, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.111>

- Oliveira, R., Dias Alves, G., Aguilera, A. L. S., Rogez, H., & Fonseca, M. J. V. (2018). Photochemoprotective effect of a fraction of a partially purified extract of *Byrsonima crassifolia* leaves against UVB-induced oxidative stress in fibroblasts and hairless mice. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *178*, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.033>
- Oliveira, R., Souza, D., Assis, G. De, Alves, D., Luiza, A., Aguilera, S., Fonseca, V. (2017). Industrial Crops & Products *Byrsonima crassifolia* extract and fraction prevent UVB-induced oxidative stress in keratinocytes culture and increase antioxidant activity on skin. *Industrial Crops & Products*, *108*(July), 485–494. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.015>
- Oliveira, R., Souza, D., Assis, G. De, Alves, D., Luiza, A., Aguilera, S., Fonseca, V. (2018). Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology Photochemoprotective effect of a fraction of a partially purified extract of *Byrsonima crassifolia* leaves against UVB-induced oxidative stress in fibroblasts and hairless mice. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, *178*(October 2017), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.033>
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0.
- Palma, F., Carvajal, F., Lluch, C., Jamilena, M., & Garrido, D. (2014). Changes in carbohydrate content in zucchini fruit (*Cucurbita pepo* L.) under low temperature stress. *Plant Science*, *217*, 78–86.
- Parsell, D. A., & Lindquist, S. (1993). The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of proteins. *Annual Review of Genetics*, *27*, 437–496.
- Paul, P., Pandey, R., & Srivastava, G. C. (2011). The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene -- An overview. *J Food Sci Technol* *49*(1):1–21. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0293-4>
- Peralta-Pérez, & Volke-Sepúlveda. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *11*(1), 75–88.
- Pérez-Gutiérrez, R. M. (2016). Anti-inflammatory effect of birsonimadiol from seeds of *Byrsonima crassifolia*. *Food Science and Biotechnology*, *25*(2), 561–566. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0078-7>
- Perez-Gutierrez, R. M., Muñoz-Ramirez, A., Gomez, Y. G., & Ramirez, E. B. (2010). Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antiglycation Effects of *Byrsonima crassifolia* Fruit and Seed in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, *65*, 350–357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11130-010-0181-5>
- Pérez, G. R. M., & Muñoz, R. A. (2016). Hypoglycemic Effects of sesquiterpene

- lactones from *Byrsonima crassifolia*. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 1135–1145. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0182-8>
- Polenta, G. A., Calvete, J. J., & González, C. B. (2007). Isolation and characterization of the main small heat shock proteins induced in tomato pericarp by thermal treatment. *FEBS J.*, 274, 6447–6455.
- Pomar, B. (2000). *Caracterización de la actividad peroxidasa implicada en los procesos de lignificación y su estudio en la interacción Capsicum annum L. var. annum-Verticillium dahliae Kleb.* Tesis Doctor en Ciencias Biológicas. Universidade da Coruña.
- Porte, A., Rezende, C. M., Antunes, O. A. C., & Maia, L. H. (2010). (Platonia insignis Mart), cupuaçu (Theobroma grandiflorum Willd ex-Spreng Schum) e murici (*Byrsonima crassifolia* L.) processado (aquecido e alcalinizado) Amino acids reduction in processed (heated and alkalinized) pulps. *Acta Amazonica*, 40(3), 573–578.
- Price, A. H., Taylor, A., & Ripley, S. J. (1994). Oxidative signal in tobacco increase with cytosolic calcium. *Plant Cell*, 6, 1301–1310.
- Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A. Raigón, M. D., & Nuez, F. (2007). Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 132, 638–646.
- Qian, C., He, Z., Zhao, Y., Mi, H., Chen, X., & Mao, L. (2013). Maturity-dependent chilling tolerance regulated by the antioxidative capacity in postharvest cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruits. *J. Sci. Food. Agric.*, 93, 626–633.
- Raison, J. K. (1980). *Effect of low temperature on respiration in the biochemistry of plants: a comprehensive treat rise.* (D. D. Davis, Ed.). New York: Academic Press Inc.
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environ. Exp. Bot.*, 137, 142–157.
- Raya-Pérez, J., Aguirre-Mancilla, C., Gil-Vega, K., & Simpson, J. (2010). La domesticación de plantas en México: comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia* (*Malpighiaceae*). *Polibotánica*, (30), 239–256.
- Reitter, R. J. (1995). Oxidative process and antioxidative mechanism. *FASEB J*, 9, 526–535.
- Rezende, C. M., & Fraga, S. R. G. (2003). Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). *Journal of the Brazilian Chemical Society.*, 14(3), 425–428. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000300014>

- Rinalducci, S., Murgiano, L., & Zolla, L. (2008). Redox proteomics: basic principles and future perspectives for the detection of protein oxidation in plants. *Journal of Experimental Botany*, *59*, 3781-3801.
- Rivas-Castro, S. F., Martínez-Moreno, E., Alia-Tejacal, I., & Pérez-López, A. (2019). Physical and physiological changes in phenotypes of nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) with different harvest maturity. *Scientia Horticulturae*, *256*(July), 108620. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108620>
- Rozenzweig, D., Elmac, C., Samach, A., Lurie, S., & Porat, R. (2004). Isolation of four heat shock protein cDNAs from grapefruit peel tissue and characterization of their expression in response to heat and chilling temperature stresses. *Plant Physiology*, *121*, 421–428.
- Sánchez-Bel, P., Egea, I., Martínez-Madrid, C., Romojaro, F., Olmos, E., & Flores, F. (2012). Understanding the mechanisms of chilling injury in bell pepper fruits using the proteomic approach. *Journal of Proteomics.*, *75*, 5463–5478.
- Santos, O. V., Cristina, N., Correa, F., Junior, R. C., Emmerson, C., Fátima, J., & Caetano, S. (2018). Quality parameters and thermogravimetric and oxidative profile of Muruci oil (*Byrsonima crassifolia* L.) obtained by supercritical CO₂. *Food Science and Technology, Campinas*, *2061*(1), 172–179. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/1678-457X.30616>
- Sanz, L., Pérez, A., & Olías, J. (1992a). La lipoxigenasa en el reino vegetal. I. Propiedades. *Instituto de La Grasa y Sus Derivados.*, *43*(4).
- Sanz, L., Pérez, A., & Olías, J. (1992b). La lipoxigenasa en el reino vegetal. II. Funciones fisiológicas asignadas. *Instituto de La Grasa y Sus Derivados.*, *43*(5).
- Scandalios, J. C. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, *101*, 7–12.
- Seabra, P. F. C., de Souza, S. A. P., Rodriguez, S. M., Almeida, C. W., Cardoso, C. H. S., Santos, L. A., & Nunes, C. J. R. (2019). Determination of process parameters and bioactive properties of the muruci pulp (*Byrsonima crassifolia*) extracts obtained by supercritical extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, *146*, 128–135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.014>
- Serrano, M., Martínez-Madrid, M. C., Pretel, M. T., Riquelme, F., & Romojaro, F. (1997). Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *5*, 1668–1672.
- Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M. Romojaro, F., & Flores, F. (2008). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulation chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. Review. *J Sci Food Agric*, *89*, 555–573.

- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/siap> Consultado en febrero de 2020.
- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, *101*, 1012–1018.
- Souza, J. N. S., Silva, E. M., Loir, A., Rees, J. F., Rogez, H., & Larandelle, Y. (2008). Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chemistry*, *106*, 331–339.
- Toivonen, P. M. A. (2004). Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience*, *39*(5), 938–942. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.938>
- Trujillo-Villagarcía, B., Zavaleta-Mancera, H., Mora-Herrera, M., & López-Delgado, H. (2006). Efecto del CaCl₂ sobre la actividad enzimática antioxidante durante la vida florero de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolux ex Hook F.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *12*(2), 203–209.
- Uekane, T. M., Nicolotti, L., Griglione, A., Bizzo, H. R., Rubiolo, P., Bicchi, C., ... Rezende, C. M. (2017). Studies on the volatile fraction composition of three native Amazonian-Brazilian fruits: Murici (*Byrsonima crassifolia* L., *Malpighiaceae*), bacuri (*Platonia insignis* M., *Clusiaceae*), and sapodilla (*Manilkara sapota* L., *Sapotaceae*). *Food Chemistry*, *219*, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.098>
- Valenzuela, J. L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D., & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: Postharvest technological and biotechnological solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18071467>
- Vanlerberghe, G. C. G. (2013). Alternative oxidase: A mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*, 6805–6847.
- Vernon, G. R. (1995). *Estudios sobre la biología floral y reproductiva del nance* (*Byrsonima crassifolia* L.). Retrieved from <http://hdl.handle.net/11036/5044>
- Villa, N. A., Wilson, M., & Ceballos, A. (2008). Actividad de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en sangre, plasma sanguíneo y plasma seminal en toros Normando. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *21*(4), 537–545.
- Vinocur, B., & Altman, A. (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievement and limitation. *Current Opinion in Biotechnology*, *16*, 123–132.
- Wang, C. Y. (2000). Postharvest techniques for reducing low temperature injury in chilling-sensitive commodities. In F. Artés, M. I. Gil, & M. A. Conesa (Eds.),

Improving Postharvest Technologies for Fruits, Vegetables and Ornamentals. (pp. 467–473). Intern. Institute of Refrigeration.

Wang, H., Qian, Z., Ma, S., Zhou, Y., Patrick, J. W., Duan, X., Qu, H. (2013). Energy status of ripening and postharvest senescent fruit of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *BMC Plant Biol.*, 13, 55.

Yong-Gui, P., Meng-Qi, Y., Wei-Min, Z., & Zheng-Ke, Z. (2017). Effect of low temperatures on chilling injury in relation to energy status in papaya fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 125, 181–187.

3. CALIDAD DE FRUTOS DE NANCHE (*Byrsonima crassifolia*) COSECHADOS EN DIFERENTE MADUREZ

3.1 Resumen

El fruto de nanche (*Byrsonima crassifolia*) es cosechado cuando ocurre la abscisión natural de la planta y su vida postcosecha es menor a cinco días en condiciones ambientales. Su maduración y comportamiento postcosecha no han sido completamente caracterizados. El objetivo de este trabajo fue evaluar la modificación de los atributos de calidad del fruto de nanche como función de la maduración en la planta, la condición fisiológica a la cosecha y la temperatura de almacenamiento. Se cosecharon frutos en tres estados de madurez, verdes (V), cambiantes (C) y amarillos (A) y se almacenaron a 15 y 25 °C. La maduración de los frutos en la planta causó modificación del ángulo de matiz hacia amarillo, acompañada por un incremento en la luminosidad, el croma y disminución del contenido de carotenoides. Los contenidos de sólidos solubles totales y azúcares totales y reductores se incrementaron, pero los fenoles solubles totales, los flavonoides y la actividad antioxidante disminuyeron. Los frutos mostraron un patrón no climatérico, pero cuando la cosecha se realizó a un estado anterior a la madurez de abscisión, hubo cambios que sugirieron un proceso de maduración durante el período posterior a la cosecha, pero los frutos no alcanzaron el contenido de azúcares y SST de los frutos en madurez alcanzada en la planta. El manejo refrigerado de frutos cambiantes pudo extender la vida postcosecha hasta por 15 d, manteniendo atributos de calidad física y composicional adecuados, incluyendo una alta concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, pero debe desarrollarse un índice adecuado de cosecha, que puede basarse en la variación de sólidos solubles totales.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, compuestos bioactivos, madurez en la cosecha, atributos de calidad, postcosecha, maduración.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: M.C. Karen Andrea Rivera Correa

Director de Tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama

QUALITY OF NANCE (*Byrsonima crassifolia*) FRUITS HARVESTED AT DIFFERENT MATURITY

Abstract

The nance (*Byrsonima crassifolia*) fruit is harvested when natural abscission from plant occurs and shelf life is less than five days at ambient conditions. Ripening and postharvest behaviors have not been completely characterized. This work aimed to evaluate the modification of quality attributes of nance fruits as a function of ripening on plant, physiological condition at harvest, and storage temperature. Fruits at three maturity stages, green, transient, and yellow, were harvested and stored at 15 and 25 °C. Ripening of fruits on plant caused hue angle modification to yellow, accompanied by an increase in lightness and chroma, although carotenoids content diminished. Contents of total soluble solids and total and reducing sugars increased, but total soluble phenols, flavonoids, and antioxidant activity diminished. Fruits showed a non-climacteric pattern, but when harvest was made at a state prior to abscission maturity, changes that suggested a ripening process occurred during the postharvest period, but fruits did not reach the sugar content and TSS relative to maturity reached in the plant. Handling of transient nance fruits under refrigeration can extend shelf life for 15 d, with adequate physical and compositional attributes including high concentration of bioactive compounds and antioxidant activity, but an adequate harvest index should be developed, which may be based on total soluble solids variation.

Key words: *Byrsonima crassifolia*, bioactive compounds, maturity at harvest, quality attributes, postharvest, ripening

Doctoral thesis. Doctorado en Ciencias Agroalimentarias. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo

Author: M.C. Karen Andrea Rivera Correa

Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

3.2 Introducción

Byrsonima crassifolia (L.) Kunth, se desarrolla en diferentes regiones tropicales y subtropicales, como Florida en USA, México, América Central y algunos países de Sudamérica. Algunos estudios han resaltado su importancia porque sus hojas, frutos, semillas y corteza contienen compuestos bioactivos que pueden ser utilizados como antiinflamatorios (García et al., 2013, 2012), antidepresivos (Herrera-Ruiz et al., 2011), antidiabéticos (Pérez & Muñiz, 2016), y en general para reducir los radicales libres debido a sus propiedades antioxidantes (Mariutti et al., 2014).

El fruto de nanche es una drupa redonda, cuyo diámetro varía de 0.9 (Da Silva et al., 2016) a 3.0 cm (Duarte & Paull, 2015), contiene una semilla que representa 10.2 - 14.4 % de su peso (Duarte, 2011), pulpa cremosa y piel que cambia de verde hacia amarillo-naranja o rojo cuando madura (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015; Rivas-Castro, Martínez-Moreno, Alia-Tejacal, & Pérez-López, 2019). Su vida postcosecha es menor de 5 d a 20 °C (Rivas-Castro et al., 2019), por lo que su comercialización está limitada a mercados locales y áreas de producción.

Debido a sus propiedades nutraceuticas, la extracción de varios componentes fitoquímicos (Séfora, Marques, & de Souza, 2019) ha sido vista como una alternativa de uso. Ya sea que el fruto sea consumido en fresco o sea procesado para extraer compuestos bioactivos, su vida postcosecha necesita ser extendida para preservar su calidad.

El fruto de nanche es colectado cuando llega el tiempo de su abscisión natural (Medina-Torres, Salazar-García, & Gómez-Aguilar, 2004), pero puede permanecer adherido a la planta durante mucho tiempo después de que haya transcurrido la maduración (Da Silva et al., 2016; Medina-Torres et al., 2012), lo que sugiere que su consumo se realiza bajo condiciones senescentes. El índice de cosecha del fruto de nanche no ha sido bien determinado y esto es debido a que su maduración no ha sido completamente caracterizada. Con base en un marcaje de flores y un monitoreo del desarrollo, Da Silva et al. (2016) identificaron

algunos cambios que corresponden a la maduración, como la reducción del contenido de almidón y el incremento en azúcares y sólidos solubles totales. Rivas-Castro et al. (2019) sugirieron que la cosecha puede realizarse en un estado anterior a la abscisión natural y así extender su vida útil. Para confirmar estos aspectos, es necesario, primero, caracterizar el proceso de maduración de los frutos cuando están unidos a la planta y, posteriormente, evaluar su comportamiento fisiológico, durante el periodo postcosecha después de una cosecha en diferentes estados de madurez. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la modificación de los atributos de calidad de los frutos de nanche, como función de su maduración en la planta, condición fisiológica en la cosecha y temperatura de almacenamiento.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de nanche (*Byrsonima crassifolia*) cultivar 'Amarillo dulce', completamente desarrollados en Cajones, Amacuzac, Morelos, México (18° 34' 29" N; 99° 20' 46" O; 900 m), la cual es una zona de clima tropical, donde durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 13 °C a 35 °C y rara vez baja a menos de 10 °C o sube a más de 38 °C, con una precipitación mensual promedio de 91mm (Weather Spark, 2020). Los frutos se cosecharon en tres estados de madurez, identificados por la coloración del epicarpio. Se asoció la coloración verde (V) con madurez fisiológica, la coloración amarilla (A) con madurez de abscisión, y una condición cambiante (C), como un estado entre ambas condiciones. Los frutos libres de daños fueron seleccionados como material experimental.

3.3.2 Organización experimental

Se formaron lotes de 100 g de frutos V, C y A y constituyeron las unidades experimentales (UE). La mitad de los lotes se colocó a 15 ± 2 °C (80 ± 3 % HR) y la otra mitad se colocó a 25 ± 1 °C (70 ± 3 % HR), formándose así los tratamientos V₁₅, C₁₅ y A₁₅, así como V₂₅, C₂₅ y A₂₅. Durante el almacenamiento de 21 d, las UE se retiraron periódicamente de los tratamientos, para evaluar

pérdida acumulada de peso, apariencia, color de epicarpio, actividad respiratoria, velocidad de producción de etileno, firmeza, acidez, y contenido de sólidos solubles totales, azúcares totales, azúcares reductores, vitamina C, carotenoides, fenoles solubles totales, flavonoides y actividad antioxidante. Los datos de los lotes retirados del almacenamiento el primer día después de la cosecha, se utilizaron para evaluar los cambios debido a la maduración en la planta. Además, el comportamiento posterior a la cosecha se evaluó considerando la madurez en la cosecha, la temperatura y el tiempo de almacenamiento como factores de variación. Se realizaron análisis de varianza y también rutinas para comparar las medias de tratamiento basadas en la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05, con apoyo del programa SAS (SAS Institute Inc.,1999). Todas las evaluaciones se realizaron por triplicado.

3.3.3 Variables de respuesta

Se midió el peso de las unidades experimentales al inicio del almacenamiento y después del retiro de éste, con una balanza granataria (Ohaus, USA) de precisión de 0.01 g y, con base en la condición inicial, se determinó la pérdida acumulada de peso. El color se midió en el epicarpio de cinco frutos utilizando un colorímetro Hunter Lab (Miniscan XE Plus, Hunter Lab®, USA) y se promedió en cada unidad experimental para expresarlo como luminosidad (L^*), ángulo de matiz (H^*) y cromaticidad (C^*) (McGuire, 1992). Se evaluó apariencia de los frutos usando una escala categórica de cinco puntos, donde 5 correspondió a excelente y 1 a pésimo.

La respiración y producción de etileno se determinaron mediante un método estático (García-Cruz, Valle-Guadarrama, Salinas-Moreno, & Luna-Morales, 2016). Los frutos de cada unidad experimental se colocaron en recipientes herméticos de 475 mL durante 1 h, se tomó una muestra del espacio de cabeza de cada recipiente y se analizó en términos de concentración de CO_2 y C_2H_4 , con apoyo de un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies® 7890A, USA), operado a 150, 80 y 170 °C de temperatura en el inyector, horno y detectores respectivamente, utilizando nitrógeno como gas de arrastre. Para la

cuantificación de concentraciones se utilizaron curvas de calibración a partir de estándares (Praxair®) de CO₂ (460 mg L⁻¹) y etileno (100 mg L⁻¹). Con base en el cambio de concentración, el tiempo de rutina y la masa de los frutos se determinó la velocidad de respiración y producción de etileno en mL kg⁻¹ h⁻¹ y en μL kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

La firmeza se determinó con un analizador de textura (Stable Micro Systems® Texture Analyzer Model XT2i, UK), utilizando una sonda esférica de 5 mm que deformó los frutos en 5 mm a velocidad de 2 mm s⁻¹. Los resultados de cinco frutos de cada Ue se promediaron y se expresaron en Newton (N). Los sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT), que se expresaron como °Brix y porcentaje de ácido cítrico, fueron determinados en el jugo extraído de cinco frutos, con un refractómetro (CVQ-4012 VelaQuin®, México), y mediante titulación con NaOH 0.1N, respectivamente. Los azúcares totales y reductores fueron cuantificados con los procedimientos de fenol-sulfúrico (Safařík & Šantrůčková, 1992), y DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) (Miller, 1959), respectivamente, ambos basados en curvas estándar de glucosa.

El contenido de fenoles solubles totales (FST) y flavonoides se evaluó en muestras ajustadas a pH 4, en un espectrofotómetro Synergy™ HTX (BioTek Instruments, Inc., USA), los primeros, con el método de Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton & Rossi, 1965) y curva estándar de ácido gálico (0-90 mg mL⁻¹). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra fresca (mg 100 g⁻¹). El contenido de flavonoides se cuantificó colorimétricamente (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002), con curva estándar de catequina (0 - 290 μg mL⁻¹) y mediciones de absorbancia a 510 nm. Para evaluar el contenido de carotenoides totales, se preparó un extracto con hexano:acetona:etanol (2:1:1) (Speek, Speek-Saichua, & Schreurs, 1988) y se midió absorbancia a 450 nm, utilizando una curva estándar de β-caroteno (60-300 μg L⁻¹). El contenido de vitamina C se determinó volumétricamente por titulación con solución de 2,6-diclorofenolindofenol al 0.02% (DIF), con apoyo de una curva estándar de vitamina C (0 - 250 mg L⁻¹) (Nielsen, 2010).

La actividad antioxidante (AA) se determinó con los métodos FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), (Benzie & Strain, 1996) y ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) (Re et al., 1999). En el primer caso, se preparó una solución amortiguadora de acetato de sodio trihidratado 300 mM, pH 3.6, mezclando cloruro férrico hexahidratado 20 mM con 2,4,6,-Tris(2-piridil)-s-triasina (TPTZ) 10 mM disuelto en HCl 40 mM. La solución se agregó a las muestras y se midió absorbancia a 530 nm en espectrofotómetro Synergy™ HTX. En el ensayo ABTS descrito por Re et al. (1999) con modificaciones, se preparó una solución saturada de ABTS 7.4 mM disuelta en una solución de persulfato de sodio 2.6 mM, la cual se dejó reaccionar por 16 h en oscuridad antes de ser utilizada. Se tomaron 20 µL del extracto y se mezclaron con 230 µL de la solución de ABTS. Se registró la disminución de absorbancia a 734 nm después de 10 min en espectrofotómetro (Synergy™). En ambos casos los resultados se expresaron como mg equivalentes de Trolox por 100 g de muestra fresca (mg 100 g⁻¹).

3.4 Resultados

3.4.1 Pérdida de peso

Los frutos perdieron peso de manera continua a lo largo del tiempo (**Figura 4A**), al término del almacenamiento se registró una pérdida promedio de 22.6%. Éste fenómeno se atribuye principalmente al flujo de vapor de agua por transpiración, derivado de un déficit de presión de vapor (Hübert & Lang, 2012). El transporte ocurre a través de las capas epidérmicas y la cutícula. Esta última forma el estrato más externo y constituye una barrera al paso de vapor de agua por su composición lipídica (Maguire, Banks, & Opara, 2001). El análisis estadístico de efectos mayores mostró que los frutos en estado verde presentaron la mayor pérdida de peso y los de estado cambiante la menor (**Cuadro 4**), pero un análisis particular mostró que al interior de cada temperatura no hubo diferencia significativa entre los frutos de distinto estado de madurez (**Figura 4A**), lo que sugirió que la estructura de las capas externas no se modificó de manera importante con la maduración. La pérdida de peso fue mayor a 25 °C que a 15 °C en una proporción de 16.5/6.7, lo cual era un resultado esperado, por la menor

humedad relativa del ambiente a 25 °C y porque la permeación de agua se incrementa con la temperatura (Bird, Stewart, & Lightfoot, 2006).

3.4.2 Apariencia

La calificación de apariencia excelente (valor de 5.0) se mantuvo por 1 d en A₂₅, por 3 d en V₂₅, C₁₅ y A₁₅ y por 6 d en V₁₅ y C₂₅ (**Figura 4B**). El desarrollo de hongos constituyó un factor importante de deterioro de la apariencia. En el caso de A₂₅ se alcanzó un valor de 3 en 6 d y calificación pésima al cumplirse 15 d de manejo. En el caso de A₁₅ la pérdida de apariencia ocurrió a menor velocidad y los frutos de este grupo mantuvieron valor de 4.0 (buena) incluso después de 9 d de manejo, pero hubo desarrollo fúngico, el cual fue menos intenso y permitió que la apariencia no alcanzara la calificación pésima.

Cuadro 4. Comparación de medias de tratamiento para variables físicas de frutos de nanche afectadas por la temperatura, y estado de madurez a la cosecha.

Fuente de Variación	PP (%)	Fir (N)	Res (mL/kg h)	Eti (µL/kg h)	L* (%)	H* (grados)	C*
<u>Efecto de la temperatura (Temp)</u>							
15 °C	6.69 b (0.602)	25.60 a (2.110)	2.24 b (0.056)	62.44 b (1.142)	64.11 a (1.527)	84.00 a (5.117)	49.69 a (0.947)
25 °C	16.53 a (1.471)	18.97 b (2.147)	4.78 a (0.154)	86.30 a (1.865)	59.40 a (1.303)	74.75 b (4.754)	45.28 a (1.456)
HSD	7.520	5.143	0.846	7.532	6.485	4.89	5.046
<u>Efecto del estado de madurez (Madu)</u>							
Verde	12.85 a (1.569)	28.72 a (2.908)	3.54 a (0.242)	76.22 a (2.596)	59.36 c (1.164)	89.06 a (6.725)	43.14 c (0.016)
Cambiante	9.94 c (1.473)	24.60 b (2.862)	3.49 a (0.254)	74.62 a (3.107)	64.21 a (1.508)	79.41 b (5.917)	51.87 a (1.211)
Amarillo	12.04 b (1.748)	13.53 c (1.163)	3.51 a (0.274)	72.27 a (2.538)	61.62 b (2.331)	72.63 c (5.362)	47.51 b (1.960)
HSD	0.364	1.313	0.395	4.153	1.073	1.12	1.304
<u>Interacciones, coeficiente de determinación (R²) y coeficiente de variación (C.V.)</u>							
Temp*Tiemp	**	**	**	*	**	**	**
Temp*Madu	**	**	ns	ns	**	**	ns
Madu*Tiemp	**	**	ns	*	**	**	**
R ²	0.997	0.985	0.859	0.866	0.968	0.979	0.947
C.V. (%)	5.552	10.446	19.898	9.899	3.066	2.465	4.841

FV: fuente de variación; R²: coeficiente de determinación correspondiente al ajuste del modelo estadístico. Los símbolos *, ** y ns significan significativo ($p \leq 0.05$), altamente significativo ($p \leq 0.01$) y no significativo ($p > 0.05$). PP: pérdida de peso; Fir: firmeza; L*: Luminosidad; H*: ángulo de matiz o hue; C* cromaticidad; Res: velocidad de respiración, Eti: velocidad de producción de etileno. Medias con la misma letra para cada variable indican que no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05). Los valores entre paréntesis corresponden a error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05).

En general, los frutos colectados en madurez de abscisión no pudieron ser manejados en un periodo mayor a 15 d, por el desarrollo fúngico. Los frutos de C₂₅ se deterioraron rápidamente a partir del día seis y su apariencia fue catalogada como mala en el día 12 y como pésima a partir del día 15. En contraste, los frutos de C₁₅ y V₁₅ tuvieron apariencia regular hasta el día 12 pero apariencia mala a partir del día 15. En el caso de V₂₅, aunque los frutos partieron del estado de madurez más atrasado, sólo mantuvieron apariencia regular por 6 d y ésta fue pésima a partir del día 15 de almacenamiento. La refrigeración permitió que la apariencia mantuviera valores más altos, por lo que constituye una buena práctica.

3.4.3 Firmeza

Los frutos en madurez de abscisión (A) tuvieron una firmeza inicial entre 20.3 y 21.7 N, lo cual contrastó ($p \leq 0.05$; **Cuadro 5**) con los frutos en estado verde (V) y cambiantes (C), con valores entre 51.6 y 55.6 N (**Figura 4C**). Después de la cosecha, todos los frutos experimentaron una reducción en firmeza. En A₂₅ y A₁₅, los valores estuvieron entre 5.6 y 8.4 N después de 15 d. En estos casos el desarrollo fúngico limitó el manejo a 15 d y la transición desde la maduración a la senescencia ya había transcurrido. El promedio de firmeza para los frutos A inmediatamente después de la cosecha fue de 21.04 N (**Cuadro 5**) y fue tomado como referencia (F_R) para evaluar el comportamiento postcosecha de los frutos V y C. Los cambios más bajos de firmeza ocurrieron en V₁₅, donde se observaron valores cercanos a F_R desde el día 12, manteniendo una condición similar hasta el final del almacenamiento. En C₁₅ la F_R se alcanzó entre 8 y 9 d (**Figura 4C**), lo cual fue un resultado esperado porque la maduración ya estaba avanzada. Después de 21 d estos frutos tuvieron firmeza alrededor de 7.3 N. En contraste, los frutos G₂₅ y T₂₅ perdieron firmeza rápidamente, alcanzando la F_R entre 5 y 6 d, y con valores entre 2.6 y 3.2 N después de 21 d, lo que indicó un efecto significativo de la temperatura (**Figura 4C**). La condición térmica afectó la tasa de pérdida de firmeza, dado que a 15 °C los valores permanecieron más altos que a 25 °C, en una proporción de 25.6/19.0 (**Cuadro 5**).

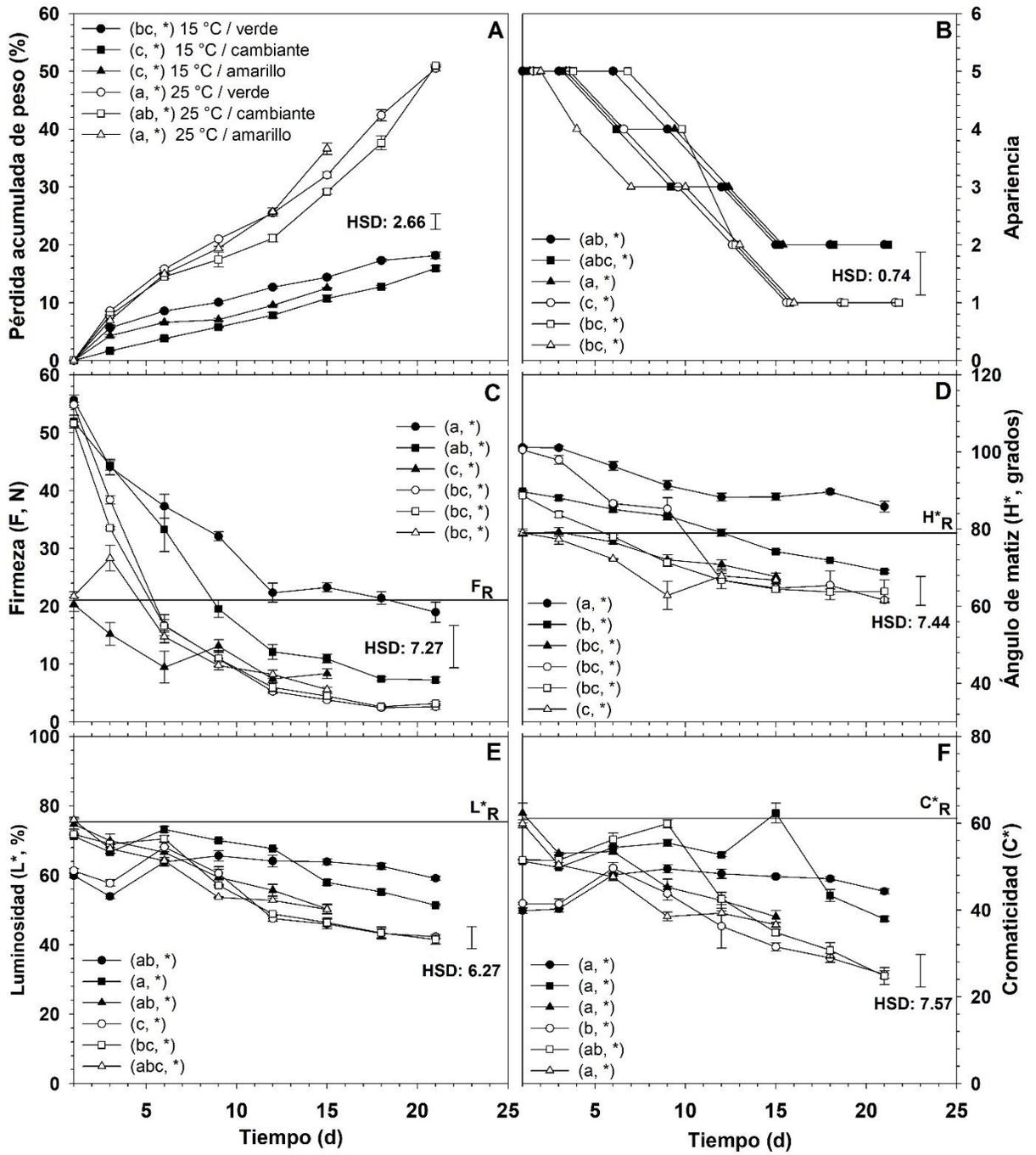


Figura 4. Pérdida de peso, apariencia, firmeza y atributos de color de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.

Cuadro 5. Atributos de calidad de frutos de nanche afectados por la maduración en planta.

Variable	Madurez			HSD
	Verde	Cambiante	Amarillo	
Firmeza (N)	55.22 a (0.46)	51.75 b (0.53)	21.04 c (0.72)	2.13
Ángulo de matiz (grados)	100.89 a (0.23)	89.23 b (0.29)	78.99 c (0.48)	1.27
Luminosidad (%)	60.57 c (0.48)	71.52 b (0.25)	75.36 a (0.78)	2.01
Cromaticidad	40.64 c (0.48)	51.39 b (0.21)	61.10 a (1.23)	2.84
SST (°Brix)	13.34 c (0.17)	17.00 b (0.42)	21.31 a (0.61)	1.62
Acidez (%)	0.23 a (0.01)	0.23 a (0.01)	0.21 a (0.01)	0.029
Azúcares totales (%)	11.47 b (0.57)	16.9 a (0.69)	19.49 a (1.27)	3.29
Azúcares reductores (%)	7.69 c (0.2)	10.39 b (0.12)	13.08 a (0.32)	0.83
Vitamina C (mg 100 g ⁻¹)	9.83 c (1.38)	49.65 a (3.37)	24.98 b (2.77)	9.69
Carotenoides (µg 100 g ⁻¹)	64.35 a (5.42)	34.35 b (1.98)	26.46 b (0.93)	12.40
FST (mg 100 g ⁻¹)	938.05 a (54.51)	581.47 b (11.89)	267.14 c (8.68)	119.74
Flavonoides (mg 100 g ⁻¹)	73.90 a (6.25)	60.44 b (1.8)	16.34 c (1.03)	13.36
AA (ABTS) (mg 100 g ⁻¹)	2151.22 a (107.79)	1849.1 a (104.65)	547.5 b (31.83)	325.70
AA (FRAP) (mg 100 g ⁻¹)	71.47 a (2.52)	61.72 b (1.88)	22.78 c (0.90)	6.93

SST: sólidos solubles totales; FST: fenoles solubles totales; AA: actividad antioxidante. Diferentes letras indican diferencia significativa. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). Valores entre paréntesis indican error estándar.

3.4.4 Color

El ángulo de matiz o ángulo hue (H^*), fue afectado por el estado de madurez (**Cuadro 4**). Al inicio del almacenamiento, hubo diferencia significativa en el ángulo hue (H^*) ($p \leq 0.05$) entre los estados de madurez (**Cuadro 5**), con valores entre 78.0 y 80.7° en A_{25} y A_{15} , 88.2 y 90.3° en C_{25} y C_{15} y entre 100.1 y 101.6° en V_{25} y V_{15} , sin diferencia significativa al interior de cada par (**Figura 4D**). Durante el almacenamiento, los frutos de A_{25} y A_{15} experimentaron una reducción en el ángulo hue hasta valores entre 65.9 y 69.1° sin diferencia entre ellos ($p > 0.05$), lo que indica que la modificación de color no se interrumpió, aunque esto se apreció como una transición de un tono amarillo a otro más bien café. El promedio del ángulo hue de los frutos A en la cosecha fue de 79.0° (**Cuadro 4**) y fue tomado como referencia (H^*_R). Los frutos de V_{15} no alcanzaron el valor de referencia durante el almacenamiento y mantuvieron valor de H^* de $85.8^\circ (\pm 1.4^\circ)$ después de 21 d. Sin embargo, los frutos V_{25} alcanzaron la tonalidad de referencia en alrededor de 10 d, pero con un cambio súbito entre 9 y 12 d y deterioro de la apariencia a valores desde el día nueve. Al final del almacenamiento estos frutos tuvieron valor de H^* de $61.6^\circ (\pm 0.5^\circ)$ y visualmente no se observó transición hacia tonos amarillos, sino más bien hacia una tonalidad café. Los frutos de C_{15} y C_{25} alcanzaron H^*_R en 12 y 6 d, respectivamente, con cambio gradual de la tonalidad, alcanzando valores de $69.0^\circ (\pm 0.4^\circ)$ y $63.9^\circ (\pm 3.0^\circ)$, lo cual fue apreciado como una transición de verde-amarillo hacia amarillo y luego a café.

Al momento de la colecta, la luminosidad (L^*) varió entre 72.0 y 77.0% en A_{15} y A_{25} , entre 70.4 y 72.1% en C_{15} y C_{25} , sin diferencia significativa ($p > 0.05$) entre estos lotes y entre 58.9 y 62.2% en V_{15} y V_{25} que fueron significativamente distintos ($p \leq 0.05$) al resto (**Cuadro 5**). Durante el almacenamiento la luminosidad se redujo en todos los lotes a partir del sexto día y entonces ninguno de los que fueron colectados en estado verde o cambiante alcanzaron el valor de referencia (L^*_R) de 75.36% . La temperatura no afectó ($p > 0.05$) los casos de A_{15} y A_{25} , donde se alcanzaron valores entre 47.7 y 49.0% al término del almacenamiento de 15 d. En contraste, la condición térmica sí afectó los casos

de V_{15} y C_{15} , donde la pérdida de luminosidad fue menor ($p \leq 0.05$) que en V_{25} y C_{25} . Al cumplirse 21 d, los valores mayores de luminosidad se encontraron en V_{15} , seguidos de C_{15} y los menores en V_{25} y C_{25} , sin diferencia entre estos dos últimos. Se ha reportado que el nanche amarillo tiene 70.25 % de luminosidad y 87.52 de ángulo de matiz (Moo-Huchin et al., 2014), los cuales fueron valores similares a los encontrados para nanche maduro amarillo en el presente trabajo.

La cromaticidad fue significativamente distinta ($p \leq 0.05$) entre los frutos de distinta madurez al corte (**Cuadro 4**), con valores entre 58.2 y 66.8 en A_{15} y A_{25} , entre 50.5 y 51.6 en C_{15} y C_{25} y entre 38.6 y 41.9 en V_{15} y V_{25} . Sin embargo, una vez que fueron cortados, los frutos experimentaron una pérdida significativa ($p \leq 0.05$) de este atributo, que dependió de la temperatura ($p \leq 0.05$) en el caso de madurez verde al corte, pero fue independiente de ella ($p > 0.05$) en los casos de madurez amarilla y cambiante (**Figura 4F**). Al término del almacenamiento, los valores mayores de cromaticidad se encontraron en V_{15} y C_{15} y los menores en V_{25} y C_{25} , aunque en todos los casos los valores se alejaron del valor de referencia (C^*_R) de 61.1 de frutos amarillos.

3.4.5 Respiración y producción de etileno

La respiración fue afectada significativamente por la condición térmica, aunque no se observó efecto del estado de madurez (**Cuadro 4**). Desde el inicio del almacenamiento se formaron dos grupos, diferentes entre ellos ($p \leq 0.05$), pero sin diferencia significativa al interior de cada uno de ellos ($p > 0.05$): uno con material colocado a 15 °C, donde se tuvo respiración (R_{Tbaja}) de 1.92 (± 0.09) mL kg⁻¹ h⁻¹ y otro a 25 °C, donde el valor (R_{Talta}) fue de 4.02 (± 0.14) mL kg⁻¹ h⁻¹ (**Figura 5A**). La actividad respiratoria fue del mismo orden de magnitud a la reportada para frutos de nanche amarillos por Rivas-Castro et al. (2019) en el rango de 7.7 a 17.3 mL kg⁻¹ h⁻¹ CO₂ y por Neves et al. (2015), alrededor de 6 mL kg⁻¹ h⁻¹. Estos datos sugieren que el nanche es un fruto con baja actividad respiratoria (< 10 mL kg⁻¹ h⁻¹ de CO₂; Kader, 2002).

La relación de la respiración con la temperatura se puede expresar por medio del factor Q_{10} (Ecuación 1) (Nunes & Emond, 2003), de donde se obtuvo que por

cada 10 °C de incremento en la temperatura, la actividad respiratoria del fruto de nanche se elevó 2.09 veces.

$$Q_{10} = \left(R_{Talta} / R_{Tbaja} \right)^{[10/(T_{alta} - T_{baja})]} \quad (1)$$

A lo largo del almacenamiento, la respiración se mantuvo sin variaciones significativas ($p > 0.05$) a 15 °C, pero mostró una tendencia ascendente a 25 °C (**Figura 5A**). La proliferación de hongos limitó la vida de anaquel y fue mayor a 25° C, lo que causó la mayor actividad respiratoria entre los días 15 y 21, cuando el contraste respecto al inicio del almacenamiento se volvió significativo.

Cuadro 6. Comparación de medias para variables químicas de frutos de nanche afectadas por la temperatura y el estado de madurez.

Fuente de Variación	SST	Ac	SST/Ac	pH	Vit C	Carot	AzT	AzR
Efecto de la temperatura (Temp)								
15 °C	16.00 a (0.385)	0.23 a (0.011)	73.58 a (2.880)	4.71 a (0.044)	26.94 a (3.119)	40.89 a (2.397)	17.10 a (0.651)	9.29 a (0.325)
25 °C	16.94 a (0.369)	0.23 a (0.013)	83.59 a (3.996)	4.69 a (0.047)	15.90 a (2.668)	33.13 b (1.775)	15.95 a (0.629)	9.09 a (0.310)
HSD	0.973	0.029	13.515	0.173	13.191	2.353	0.995	0.791
Efecto del estado de madurez (Madu)								
Verde	13.52 c (0.233)	0.19 b (0.007)	75.95 b (4.051)	4.83 a (0.021)	16.52 b (1.954)	52.63 a (2.866)	10.96 c (0.321)	6.60 c (0.152)
Cambiante	16.52 b (0.193)	0.21 b (0.007)	82.50 a (2.656)	4.79 a (0.037)	35.55 a (4.868)	32.04 b (1.404)	18.07 b (0.444)	9.41 b (0.188)
Amarillo	19.38 a (0.292)	0.30 a (0.019)	77.30 ab (5.754)	4.48 b (0.074)	12.18 c (2.131)	26.36 c (0.634)	20.55 a (0.419)	11.57 a (0.216)
HSD	0.682	0.017	6.005	0.048	3.237	3.736	0.906	0.386
Interacciones, coeficiente de determinación (R ²) y coeficiente de variación (C.V.)								
Temp*Madu	ns	*	**	**	**	**	*	ns
R ²	0.875	0.920	0.887	0.957	0.954	0.883	0.922	0.942
C.V. (%)	7.340	13.306	13.547	1.798	26.794	17.898	9.721	7.451

SST: sólidos solubles totales (°Brix), Ac: acidez (% ac. cítrico), SST/Ac: relación sólidos solubles totales/acidez, Vit C: vitamina C (mg 100 g⁻¹ fruto fresco), Carot: carotenoides (µg β-caroteno 100g⁻¹ fruto fresco), AzT: azúcares totales (%), AzR: azúcares reductores (%). R²: coeficiente de determinación correspondiente al ajuste del modelo estadístico. Los símbolos *, ** y ns significan significativo ($p \leq 0.05$), altamente significativo ($p \leq 0.01$) y no significativo ($p > 0.05$). Medias con la misma letra para cada variable indican que no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05). Los valores entre paréntesis corresponden a error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05)

Con respecto al etileno, el análisis de efectos principales indicó una mayor emisión a 25 °C que a 15 °C ($p \leq 0.05$). Sin embargo, no hubo efecto debido a la madurez (**Cuadro 4**). Los lotes emitieron 55.52 (± 0.97) y 67.50 (± 1.80) µL kg⁻¹ h⁻¹ a 15 y 25 °C, respectivamente, al principio. Los casos de A₁₅, A₂₅, C₁₅ y V₁₅ mostraron producción de etileno sin variaciones significativas ($p > 0.05$) a lo largo

del almacenamiento, pero en C₂₅ y V₂₅ hubo incrementos significativos entre 15 y 21 días (**Figura 5B**), concomitantemente con la respiración.

3.4.6 Sólidos solubles, acidez y azúcares

Los sólidos solubles totales (SST) no fueron afectados por la temperatura, pero sí por el estado de madurez ($p \leq 0.05$) (**Cuadro 6**). Los valores iniciales más altos (SST) se encontraron en A₂₅ y A₁₅, con 21.31 (± 0.61) °Brix, seguidos por C₂₅ y C₁₅ con 17.00 (± 0.42) °Brix; finalmente los menores valores se encontraron en V₂₅ y V₁₅ con 13.34 (± 0.17) °Brix, sin diferencia al interior de cada par (**Cuadro 5**).

La acidez titulable (AT) no se afectó por la temperatura, pero sí por el estado de madurez (**Cuadro 6**). Al inicio no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los frutos de distinta madurez y los valores fueron de 0.228 % (± 0.004 %) en V₁₅ y V₂₅, de 0.231 % (± 0.008 %) en C₁₅ y C₂₅ y de 0.211 % (± 0.010 %) en A₁₅ y A₂₅. Además, la AT se incrementó en los frutos A₁₅, A₂₅ y C₂₅, hasta valores cercanos a 0.5 % en los dos primeros casos y entre 0.3 y 0.4 % en el último, en tanto que la AT permaneció sin cambios significativos en los casos de C₁₅, V₁₅ y V₂₅ (**Figura 5D**). La acidez se reportó como contenido de ácido cítrico. Sin embargo, los frutos de A₁₅, A₂₅ y C₂₅ experimentaron mayor desarrollo de hongos en postcosecha y ello causó incremento gradual de la respiración.

Es probable que la fijación de CO₂ en el tejido de los frutos haya afectado la acidez, causando un incremento gradual de ésta conforme avanzó el almacenamiento. Asimismo, el comportamiento observado podría ser causado por un proceso de fermentación en el tejido de los frutos (Vicente, Martínez, Civello, & Chaves, 2002) derivado del desarrollo microbiano en condiciones de senescencia. Por otra parte, Moo-Huchin et al. (2014) reportaron acidez de 0.47 %, lo cual fue similar a los valores del presente trabajo. Del mismo modo, la acidez de nanche fue similar a la manzana, cuyo valor se ha reportado entre 0.26 y 0.51 % (Huang et al., 2018).

La relación SST/acidez tuvo valores iniciales de 56.08 (± 1.73) en V_{15} , 60.88 (± 1.29) en V_{25} , 76.28 (± 6.79) en C_{15} , 72.12 (± 2.83) en C_{25} , 108.61 (± 1.94) en A_{15} y 94.52 (± 3.13) en A_{25} , sin efecto significativo de la temperatura, pero sí por el estado de madurez al corte. Medina-Torres et al. (2004), propusieron que con valores entre 5.1 y 8.0 se tienen frutos agrios, de 8.1 a 10 el fruto es agridulce y con valores mayores a 10.0 el fruto se clasifica como dulce.

Los frutos del presente estudio, que provienen de la región de Morelos, México, pueden ser clasificados como dulces. Sin embargo, durante el almacenamiento los lotes se comportaron con distinta tendencia. Con base en la información de las **Figuras 5C y 5D**, los frutos de A_{15} y A_{25} experimentaron un descenso en la relación SST/Acidez a valores entre 41.0 y 44.6, los frutos de C_{15} y C_{25} se mantuvieron sin cambios importantes y los frutos de V_{15} y V_{25} exhibieron un incremento temporal en esta relación a los 12 d de almacenamiento, con valores promedio máximos de 90.3 y 126.6, respectivamente, que correspondió a una reducción de la acidez en ese periodo, lo cual requiere más investigación para ser clarificado.

El contenido de azúcares totales (AzT) y reductores (AzR), no se afectó por la condición térmica, pero sí por el estado de madurez al corte (**Cuadro 6**). Los valores al inicio del almacenamiento (%) de AzT y AzR fueron 11.47 (± 0.57) y 7.69 (± 0.20) para V_{15} y V_{25} , 16.90 (± 0.69) y 10.39 (± 0.12) en C_{15} y C_{25} , y 19.49 (± 1.27) y 13.08 (± 0.32) en A_{15} y A_{25} , respectivamente, sin diferencia significativa al interior de cada par (**Figura 5E Y F**). Durante el almacenamiento, el contenido de azúcares de los frutos de A_{15} , A_{25} y C_{15} tendió a mantenerse constante. Sin embargo, los frutos de C_{25} , V_{15} y V_{25} experimentaron un descenso en el contenido de azúcares, tanto totales como reductores y se alejaron más del estado de referencia de frutos colectados en tonalidad amarilla, de 19.49 y 13.08%, respectivamente.

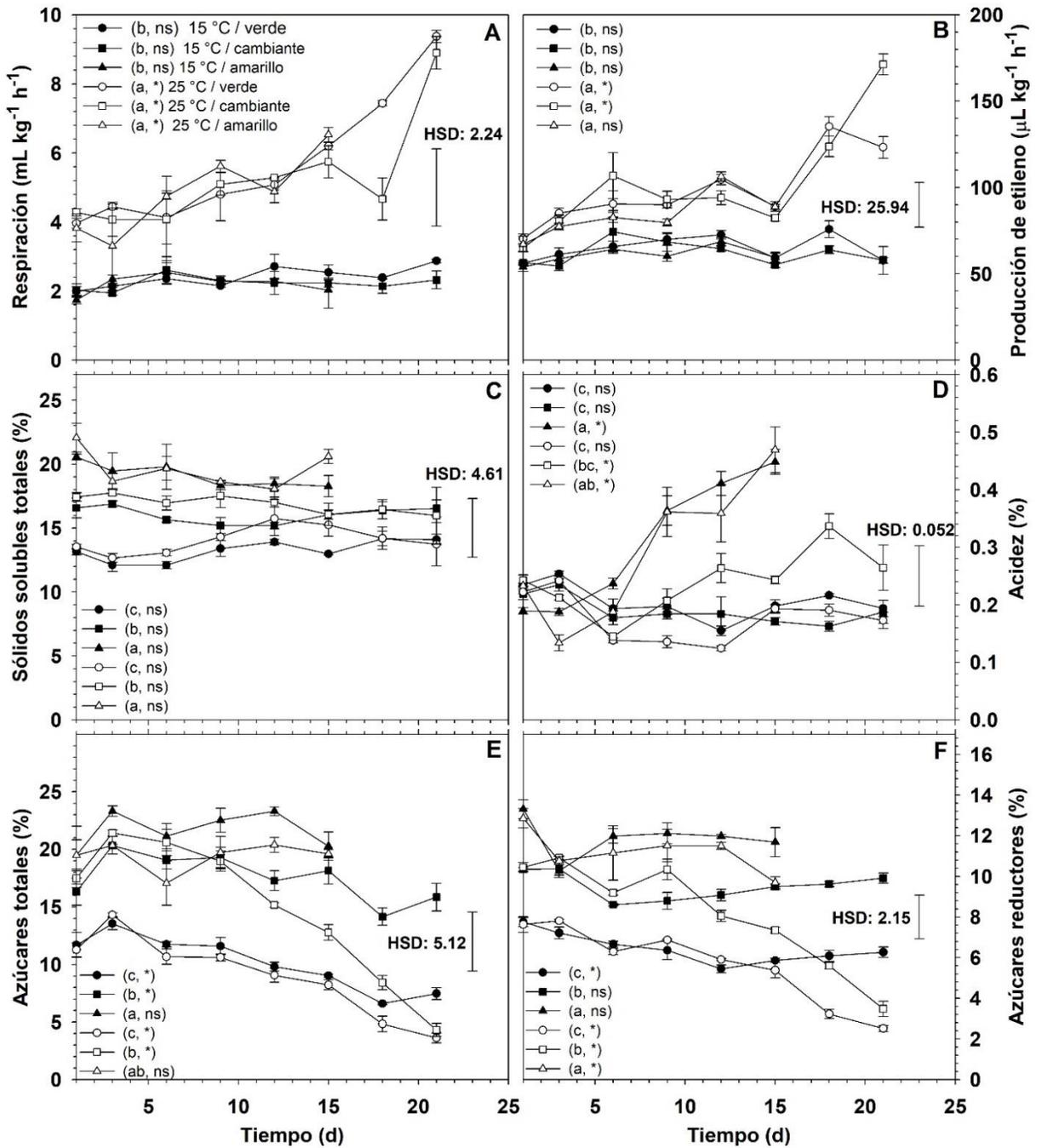


Figura 5. Actividad respiratoria, producción de etileno y contenido de sólidos solubles totales, acidez, azúcares totales y azúcares reductores de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.

3.4.7 Vitamina C

La condición térmica no afectó el contenido de vitamina C (V_C) ($p > 0.05$), pero sí la madurez de los frutos (**Cuadro 6**). En la cosecha, el contenido de V_C fue de 9.83 (± 1.39) en V_{15} y V_{25} , de 49.65 (± 3.37) en C_{15} y C_{25} y de 24.98 (± 2.77) mg 100 g^{-1} en A_{15} y A_{25} , sin diferencia significativa al interior de cada par ($p \leq 0.05$).

El estado cambiante tuvo el mayor contenido y el verde el menor (**Cuadro 4**). Con excepción de A_{25} , se observó un incremento del contenido de V_C en la etapa inmediata al corte, que fue muy pronunciada en los frutos colectados en madurez cambiante, donde se alcanzaron valores máximos de 79.9 y 68.7 mg 100 g^{-1} en C_{15} y C_{25} , respectivamente, en tanto que este aumento fue moderado en el resto. Fenech, Amaya, Valpuesta, & Botella (2019), mostraron que el ácido ascórbico puede aumentar con la maduración como ocurre en el tomate, la uva y la fresa. Sin embargo, también puede mostrar un valor máximo en la etapa inmadura como resultado de un fenómeno de biosíntesis como ocurre en el kiwi y el melocotón. Los autores explicaron que el contenido está correlacionado con el estado oxidativo de la fruta, que a menudo se detona al comienzo de la maduración.

Por lo tanto, las frutas de nanche en estado cambiante pueden experimentar la biosíntesis de V_C como parte del metabolismo de carbohidratos que se desarrolla principalmente en asociación con la vía de la glucólisis (Etienne, Génard, Lobit, Mbéguié-A-Mbéguié, & Bugaud, 2013). Posteriormente, V_C (mg 100 g^{-1}) disminuyó de 24.3 a 21.5 en V_{15} , de 79.9 a 5.3 en C_{15} , de 30.6 a 5.3 en A_{15} , de 35.6 a 2.4 en V_{25} , de 68.7 a 3.8 en C_{25} y de 29.9 a 2.4 en A_{25} (**Figura 6A**). De forma semejante, Neves et al. (2015) reportaron una reducción de 186.5 a 4.1 mg 100 mL^{-1} a 15 °C durante un almacenamiento de 12 d.

3.4.8 Carotenoides

La tonalidad verde o amarilla de los frutos de nanche se debe a la presencia de carotenoides y clorofilas (Shewfelt, 2003). El contenido de carotenoides fue inversamente afectado por la temperatura y los valores máximos se encontraron

a 15 °C. También se tuvo efecto significativo por el estado de madurez, ya que los valores mayores se encontraron en los frutos colectados en estado verde, seguidos del material colectado en estado cambiante y finalmente por los frutos que iniciaron almacenamiento en estado amarillo (**Cuadro 6**). Inicialmente el contenido fue de 64.35 (± 5.42) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ en V₁₅ y V₂₅, de 34.35 (± 1.98) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ en C₁₅ y C₂₅ y de 26.46 (± 0.93) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ en A₁₅ y A₂₅, sin diferencia al interior de cada par ($p \leq 0.05$) (**Cuadro 5**). En ese momento, el contenido de carotenoides de C y A fue estadísticamente similar ($p > 0.05$) y éstos se distinguieron de V ($p \leq 0.05$).

A lo largo del almacenamiento los frutos de A₁₅, A₂₅ y C₂₅ no presentaron cambios significativos ($p > 0.05$) en el contenido de carotenoides, lo que indicó que no ocurrió nueva acumulación de estos compuestos. Por otro lado, los frutos de V₁₅, V₂₅ y C₁₅, experimentaron un decremento significativo ($p \leq 0.05$) con el paso del tiempo en el contenido de carotenoides (**Figura 6B**), lo que sugiere que se desarrollaron cambios acordes con un proceso de maduración. Al final, el contenido de carotenoides de todos los lotes fue similar y tendió a un valor promedio de 28.53 (± 6.56) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$. Este valor fue similar al reportado como 39.4 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ por Irías-Mata et al. (2018), para frutos de nanche en estado maduro.

3.4.9 Compuestos fenólicos

El comportamiento de fenoles solubles totales (FST) y flavonoides (Flav) fue similar al de carotenoides con relación al efecto de la condición térmica y la madurez de los frutos (**Cuadro 7**).

Al inicio, el contenido de FST fue de 938.05 (± 54.51) en V₁₅ y V₂₅, de 581.47 (± 11.89) en C₁₅ y C₂₅ y de 267.14 (± 8.68) $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ en A₁₅ y A₂₅, sin diferencia al interior de cada par, pero con contraste significativo entre estados de madurez (**Cuadro 5**). El contenido de compuestos fenólicos de frutos de nanche en madurez de consumo se ha reportado en otros trabajos como 2219.3 mg equivalentes de ácido gálico (GAE) 100 g^{-1} peso seco (p.s.) (Neves et al., 2015), 2900.0 mg GAE 100 g^{-1} p.s. (Souza et al., 2008) o como 800 mg GAE 100 g^{-1} p.f.

(Silva, Souza, Rogez, Rees, & Larondelle, 2007) o 334.4 mg GAE 100 g⁻¹ p.f. (de Souza, Aparecida, Pereira, Queiroz, & Borges, 2012).

El contenido total de compuestos fenólicos puede incrementar (Guofang, Xiaoyan, Xiaoli, Yongling, & Zhibing, 2019) o puede disminuir (Hu, Dars, Liu, Xie, & Sun, 2018; Torres-Rodríguez, Salinas-Moreno, Valle-Guadarrama, Soto-Hernández, & Alia-Tejacal, 2019) con la maduración, en función del metabolismo oxidativo del fruto. En el caso del nanche, si los frutos colectados en estado verde y cambiante se mantienen unidos a la planta pueden experimentar una reducción en el contenido de FST con la maduración. Sin embargo, una vez separados de la planta, en los frutos en madurez de consumo (A₁₅ y A₂₅) no se modificó significativamente el contenido de FST, pero sí se redujo en los otros lotes con madurez más atrasada. En ese comportamiento, los frutos de V₁₅ no alcanzaron los valores de los frutos en madurez amarilla y finalizaron el almacenamiento con 513.43 (±64.95) mg 100 g⁻¹. En tanto, el resto de los lotes presentaron, al final, contenido promedio de 122.3 (±49.7) mg 100 g⁻¹, sin diferencia significativa entre ellos ($p > 0.05$; **Figura 6C**).

El contenido de flavonoides (mg 100 g⁻¹) tuvo valor inicial de 73.90 (±6.25) en V₁₅ y V₂₅, de 60.44 (±1.79) en C₁₅ y C₂₅ y de 16.34 (±1.03) en A₁₅ y A₂₅, sin diferencia significativa ($p > 0.05$) al interior de cada par, pero con contraste significativo entre estados de madurez (**Cuadro 5**). A partir de allí los frutos de A₁₅ y A₂₅ se mantuvieron sin cambios significativos, pero los materiales de V₂₅, C₁₅ y C₂₅ experimentaron una reducción en el contenido de flavonoides, en forma paralela a la reducción de FST, de manera que al final del almacenamiento éstos tendieron a los valores de los frutos colectados en tonalidad amarilla, sin diferencia significativa entre los distintos lotes ($p > 0.05$; **Figura 6D**). En el caso de V₁₅ se tuvo un incremento temporal del contenido de flavonoides y luego una reducción, pero la concentración final no alcanzó la de los frutos colectados en madurez de abscisión, lo que indicó que, si bien presentaron cambios tendientes a la maduración, ésta fue incompleta.

La composición fenólica de la parte comestible del fruto de nanche ha sido reportada por Gordon (2012), de donde se reveló la presencia de 24 constituyentes, incluyendo galotaninos, galatos de ácido quínico, proantocianidinas y derivados de quercetina. En el caso de otros vegetales, se ha explicado que un incremento de flavonoides puede estar asociado a una respuesta fisiológica en defensa hacia el frío (Crifò, Puglisi, Petrone, Recupero, & Lo Piero, 2011). Asimismo, se observó que el contenido de flavonoides está correlacionado con la actividad antioxidante FRAP (**Figura 6D** y **6F**).

Cuadro 7. Comparación de medias de tratamiento para variables fitoquímicas y actividad antioxidante de frutos de nanche afectados por la temperatura y el estado de madurez.

Fuente de Variación	TSP	Flav	ABTS	FRAP
Efecto de la temperatura (Temp)				
15 °C	463.0 a (53.8)	445.35 a (67.981)	1129.1 a (142.9)	43.96 a (5.55)
25 °C	310.7 b (44.9)	287.79 b (41.844)	711.2 b (121.3)	27.03 b (3.55)
HSD	110.6	156.710	366.6	15.64
Efecto del estado de madurez (Madu)				
Verde	670.9 a (64.9)	617.18 a (73.393)	1646.8 a (155.4)	61.45 a (6.12)
Cambiante	338.8 b (39.1)	306.48 b (42.240)	835.1 b (138.7)	32.02 b (4.189)
Amarillo	154.0 c (0.158)	96.05 c (9.663)	278.69. c (36.4)	13.02 c (1.28)
HSD	36.8	42.673	122.8	3.81
Interacciones, coeficiente de determinación (R ²) y coeficiente de variación (C.V.)				
Temp*Madu	*	*	*	*
R ²	0.980	0.978	0.969	0.976
C.V. (%)	13.62	16.67	19.11	15.37

TSP: Contenido de fenoles solubles totales (mg 100 g⁻¹), Fla: contenido de flavonoides (mg 100 g⁻¹), ABTS: actividad antioxidante del radical ABTS (mg 100 g⁻¹), FRAP: actividad antioxidante reductora de hierro (mg 100 g⁻¹). R²: coeficiente de determinación correspondiente al ajuste del modelo estadístico. El símbolo *, significa significativo ($p \leq 0.05$). Medias con la misma letra para cada variable indican que no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05). Los valores entre paréntesis corresponden a error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05).

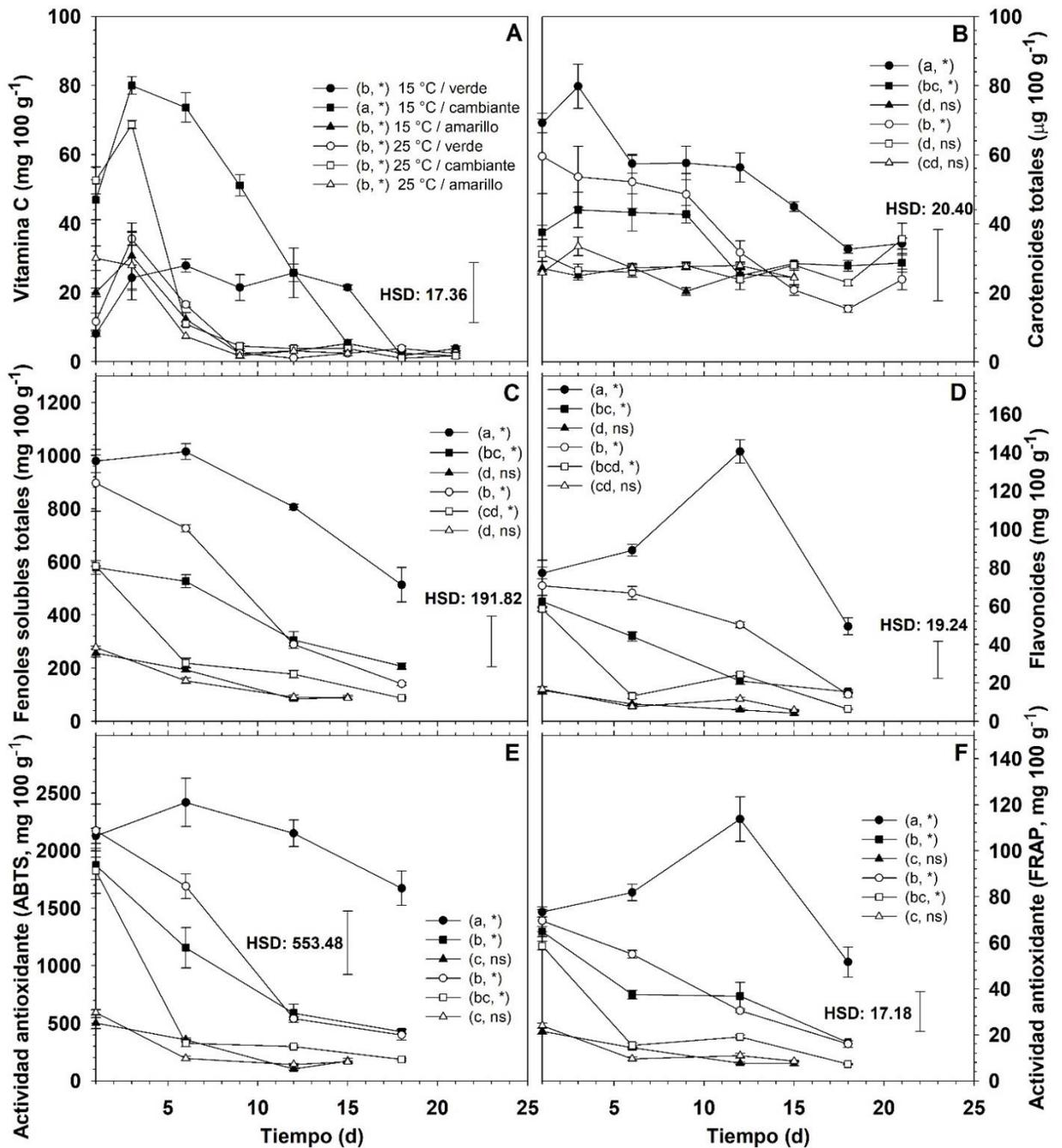


Figura 6. Contenido de vitamina C, carotenoides, fenoles solubles totales, flavonoides y actividad antioxidante de frutos de nanche en postcosecha. Los símbolos * y ns indican modificaciones significativas y no significativas a lo largo del tiempo. Letras iguales indican diferencia no significativa ($p > 0.05$) entre lotes. HSD es diferencia significativa honesta. Las barras de error indican error estándar.

3.4.10 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AA) fue determinada por dos métodos. Con el método ABTS, los valores iniciales fueron 2151.22 (± 107.79) en V₁₅ y V₂₅, 1849.10 (± 104.65) en C₁₅ y C₂₅ y 547.50 (± 31.83) mg 100 g⁻¹ en A₁₅ y A₂₅. Con el método FRAP los valores iniciales fueron 71.47 (± 2.52), 61.72 (± 1.88) y 22.78 (± 0.90) mg 100 g⁻¹, respectivamente (**Figura 6E** y **6F**). Las diferencias entre métodos se deben a que el método ABTS se basa en la evaluación de transferencia de electrones, en tanto que el método FRAP se enfoca en la evaluación de la transferencia de átomos de hidrógeno (Apak, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2016). Y los flavonoides que son compuestos polifenólicos con una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado (Drago, 2007), contribuyen a la actividad antioxidante FRAP.

La vitamina C, los carotenoides y los compuestos fenólicos son factores importantes en la AA del fruto de nanche. Si los frutos en estado verde y cambiante se mantienen unidos a la planta, en la medida que estos compuestos se reducen con la maduración, también lo hace la capacidad antioxidante (**Cuadro 4**). Aunque los compuestos bioactivos del nanche pueden causar efectos benéficos en la salud (Aguirre-Crespo et al., 2017; Herrera-Ruiz et al., 2011; Maldini et al., 2009; Raúl Medina-Torres et al., 2012; Oliveira et al., 2017; Oliveira, Souza, et al., 2018), en realidad son las hojas y la corteza del árbol y ramas los que exhiben los valores mayores. Al respecto, Silva et al. (2007), determinaron la AA mediante el método TEAC y determinaron valores de 347.1, 261.3 y 4.2 en las hojas, la corteza y el fruto, en tanto que con el método ORAC determinaron valores de 778.8, 590.8 y 11.8, respectivamente, expresando esta propiedad en μmol equivalentes de Trolox (TE) g⁻¹ p.f. Asimismo, Souza et al. (2008) reportaron valores de 736, 1145 y 26.5 μmol TE g⁻¹ p.s. en hojas, corteza y fruto, en tanto que los datos que obtuvieron con el método TRAP fueron 288, 1621 y 6.4 μmol TE g⁻¹ p.s., respectivamente, confirmando la menor AA del fruto de nanche que otras partes de la planta.

El manejo a 15 °C favoreció la conservación de mayor AA, en una proporción de 11.3/7.1, respecto a un manejo a 25 °C en el método ABTS y una relación de 4.4/2.7 en el método FRAP (**Cuadro 7**). En los frutos de A₁₅ y A₂₅ no se modificó significativamente la AA ($p > 0.05$) durante el almacenamiento en postcosecha. Sin embargo, en forma similar a como ocurrió con los compuestos fenólicos, la AA de V₂₅, C₁₅ y C₂₅ se redujo durante el almacenamiento y al final quedaron valores similares estadísticamente a los frutos colectados en madurez de abscisión, con valor promedio de 295.72 (± 33.34) mg 100 g⁻¹, según el método ABTS y de 11.20 (± 4.58) mg 100 g⁻¹, según el método FRAP. En el caso de los frutos de V₁₅, aunque la AA se redujo en forma general, los valores alcanzados al final del almacenamiento fueron muy distintos al resto, sugiriendo que en este caso hubo una tendencia a la maduración, pero ésta no se desarrolló en forma completa (**Figura 6E y 6F**).

3.5 Discusión

La maduración de la fruta se caracteriza comúnmente por el ablandamiento, la modificación del color del epicarpio y el cambio de composición (Cherian, Figueroa, & Nair, 2014).

La tonalidad fue el criterio utilizado para clasificar la condición fisiológica de los frutos como verde (V), cambiante (C) y condición de abscisión o estado amarillo (A). Esto implicaba que, si las frutas V y C permanecen unidas a la planta, podrían experimentar una modificación del ángulo de tono hacia amarillo, como fruto en madurez de abscisión, que es un rasgo característico de los frutos de nanche estudiados, acompañado por un aumento en la luminosidad y la cromaticidad.

La maduración comúnmente implica la degradación de clorofila y biosíntesis concomitante o desenmascaramiento de carotenoides (Shewfelt, 2003). Aunque se ha mencionado que los frutos V se cosecharon en estado verde, el ángulo de tono tenía valor inicial promedio de 100.9°, que estaba más cerca del amarillo absoluto (90°) que del verde (180°) (McGuire, 1992) e indicó la presencia de clorofilas y carotenoides. La mayor presencia de carotenoides en estado verde y menor en frutos amarillos al comienzo del almacenamiento indicó la pérdida de

estos compuestos con la maduración. Además, si los frutos desarrollan maduración en la planta, pueden experimentar un aumento de SST, aumento en azúcares totales y reductores, y reducción en fenoles solubles totales, flavonoides y actividad antioxidante (**Cuadro 5**).

Por otro lado, las tasas de respiración y producción de etileno se mantuvieron sin afectación a medida que avanzó la maduración de los frutos unidos a la planta. Con base en la tasa de respiración, Rivas-Castro et al. (2019) informaron sobre el comportamiento climatérico de los frutos de nanche cosechados en madurez cambiante en Tabasco, México. Una situación similar informaron Da Silva et al. (2016) para frutos de Roraima, Brasil. Por otro lado, Neves et al. (2015) informaron que los frutos de nanche recolectados en Roraima, Brasil, mostraron un comportamiento no climatérico, aunque los frutos estaban en madurez comestible. Como se informó anteriormente (Rivas-Castro et al., 2019), la maduración de los frutos estuvo acompañada de ablandamiento, que es un proceso fisiológico que ocurre a través de enzimas pectolíticas que degradan los polímeros de la pared celular (Wang, Yeats, Uluisik, Rose, & Seymour, 2018), y esto se ha asociado fuertemente con la calidad y el potencial de comercialización en frutos como el tomate (Tolesa, Workneh, & Melesse, 2018).

Los frutos de los lotes V y C experimentaron rápidamente cambios de firmeza durante los primeros nueve días de almacenamiento después de la cosecha. Se esperaba un aumento temporal de la respiración durante dicho período, pero este comportamiento no ocurrió y el comportamiento climatérico no pudo confirmarse. Una situación similar ocurrió con la producción de etileno, ya que Rivas-Castro et al. (2019) informaron un aumento temporal en dicha variable, pero este comportamiento no se verificó en el presente trabajo.

El índice de cosecha de los frutos de nanche no ha sido bien determinado. La modificación de la composición química se ha asociado frecuentemente con la calidad del fruto, (Abeer, Mridha, & Al-Huqail, 2013). Medina-Torres et al. (2004), sugirieron que el mejor índice de calidad es la relación SST/AT; sin embargo, la AT no se vio afectada cuando los frutos pasaron por la maduración de la planta,

lo que contrastó con SST, que experimentaron un claro incremento, y después de la cosecha, esta variable permaneció sin una variación significativa en todos los lotes. Debido a esto, los SST pueden ser una variable adecuada para establecer un índice de cosecha.

La madurez en la cosecha, determinó el comportamiento a lo largo del almacenamiento. Los lotes de frutos en madurez A comenzaron a almacenarse en madurez de la abscisión, por lo que la condición correspondió a la etapa de senescencia, caracterizada por un ablandamiento excesivo, reducción del ángulo de matiz a tonos marrones y pérdida de luminosidad y cromaticidad.

Debido a que la maduración ya había transcurrido, las variables de composición permanecieron sin modificaciones significativas, independientemente de la condición térmica. La acidez fue una excepción y algunos lotes experimentaron un aumento a medida que avanzó el almacenamiento, lo que podría haber sido causado por el desarrollo microbiano (Vicente et al., 2002).

Los atributos de calidad de los frutos en la madurez de abscisión (A) se consideraron como referencia para evaluar el comportamiento postcosecha de los frutos cosechados en los estados verde (V) y cambiante (C). Aunque los frutos V alcanzaron la firmeza de referencia, en general no desarrollaron atributos de color adecuados y no alcanzaron el contenido de SST y azúcares, lo que sugiere que no se desarrollaron atributos sensoriales adecuados. Aunque estos frutos retuvieron altos valores de compuestos asociados con la actividad antioxidante, particularmente a 15 °C, la cosecha en este estado de madurez no favoreció la maduración adecuada de los mismos. Sin embargo, los frutos cosechados en madurez cambiante, experimentaron un ablandamiento normal, y el ángulo de matiz y la cromaticidad tendieron a los valores de referencia, aunque la luminosidad disminuyó.

El contenido de SST se mantuvo sin cambios significativos. Aunque el contenido de azúcares no aumentó hasta los valores de referencia, el manejo bajo refrigeración permitió la preservación de estos compuestos, en contraste con el

manejo a 25 °C, donde hubo una reducción notable en dicho contenido. Asimismo, el contenido de fenoles solubles, flavonoides, carotenoides y actividad antioxidante disminuyó de manera similar a las frutas en la madurez de abscisión.

Por otro lado, el manejo refrigerado causó cambios a un ritmo más lento, lo que sugiere que favoreció el alargamiento de la vida útil. Rivas-Castro et al. (2019) argumentaron que los frutos de nanche se pueden cosechar en una etapa previa a la madurez de la abscisión.

Los resultados del presente trabajo mostraron que las frutas cosechadas en estado de madurez cambiante pueden sufrir algunos cambios que conducen a la maduración cuando se separan de la planta y pueden manipularse hasta por 15 días en las condiciones refrigeradas aplicadas. Sin embargo, el estado de madurez que permite un desarrollo óptimo de la maduración debe determinarse para favorecer el logro de atributos de calidad como los de los frutos en la madurez de consumo.

3.6 Conclusiones

Los frutos de nanche mostraron un patrón respiratorio típico de un material no-climatérico. Sin embargo, si la cosecha se realiza en un estado fisiológico anterior al de madurez de consumo, los frutos pueden experimentar cambios que sugieren el desarrollo de un proceso de maduración. El manejo de frutos de nanche cosechados en un estado cambiante entre madurez fisiológica y madurez de consumo, en condiciones de refrigeración, puede favorecer el alargamiento de la vida de anaquel hasta por 15 d, con adecuados atributos físicos y composicionales que incluyen alta concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, pero deben emprenderse acciones para controlar el desarrollo fúngico y determinarse un índice de cosecha adecuado, el cual puede basarse en el contenido de sólidos solubles totales.

3.7 Literatura citada

Abeer, H., Mridha, M. A. U., & Al-Huqail, A. A. (2013). Non-chemical strategies to control postharvest losses and extend the shelf life of table grape fruits. *Biol Agric Hortic.*, 29(2), 82–90. <https://doi.org/10.1080/01448765.2013.763735>

- Aguirre-Crespo, F. J., Espíndola-Ramírez, H. A., Alatríste Kurzel, D. R., Peralta, S. J. A., Zamora, C. P., Maldonado, V. M. G., & Hernández, N. E. (2017). Four methods of extraction in leaves of *Byrsonima crassifolia* and their effects in gastrointestinal smooth muscle strips. *21st International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bird, R. B., Stewart, W. E., & Lightfoot, E. N. (2006). *Transport phenomena* (Second ed.). New York: John Wiley & Sons Inc.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*, 178–182.
- Cherian, S., Figueroa, C. R., & Nair, H. (2014). “Movers and shakers” in the regulation of fruit ripening: A cross-dissection of climacteric versus non-climacteric fruit. *J Exp Bot.*, *65*(17), 4705–4722. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru280>
- Crifò, T., Puglisi, I., Petrone, G., Recupero, G. R., & Lo Piero, A. R. (2011). Expression analysis in response to low temperature stress in blood oranges: Implication of the flavonoid biosynthetic pathway. *Gene*, *476*(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.02.005>
- Da Silva, P. M. C., Neves, L. C., Bastos, V. J., Lima, C. G. B., de Araújo, K. G. M., & Roberto, S. R. (2016). Harvesting period of Murici (*Byrsonima crassifolia* Kunth) fruit in relation to physical and chemical parameters evaluated during fruit development. *Scientia Horticulturae*, *200*, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.041>
- Drago, S. M. (2007). Flavonoides recombinantes de relevancia farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, *38*(4), 42–47.
- De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Queiroz, F., Borges, S. V., & De Deus Souza Carneiro, J. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, *134*(1), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.191>
- Duarte, O. (2011). Nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits, Volume 4: Mangosteen to white sapote* (pp. 44–50). Cambridge, UK: Woodhead

Publishing Limited.

- Duarte, O., & Paull, R. (2015). Other families. In *Exotic fruits and nuts of the New World* (pp. 254–316). <https://doi.org/10.1079/9781780645056.0000>
- Etienne, A., Génard, M., Lobit, P., Mbéguié-A-Mbéguié, D., & Bugaud, C. (2013). What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *Journal of Experimental Botany*, *64*(6), 1451–1469. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert035>
- Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta, V., & Botella, M. A. (2019). Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and regulation. *Frontiers in Plant Science*, *9*(January), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02006>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Luna-Morales, C. del C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *111*, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.004>
- García, M., Michelangeli, F., Fernández, Á., Villamizar, J., Salazar, F., & Taylor, P. (2013). Anti-inflammatory effects of (+)-catechin isolated from the bark of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *79*(13). <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352069>
- García, M., Villamizar, J. E., Salazar, F., Ibarra, C., Michelangeli, F., Ruiz, M. C., & Taylor, P. (2012). Anti-inflammatory effects of *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, *78*, PI130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1055/s-0032-1320817>
- Gordon, A. (2012). *Bioactive compounds in underutilized tropical fruits from Latin America*. Doktorarbeit. Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften (IEL).
- Guofang, X., Xiaoyan, X., Xiaoli, Z., Yongling, L., & Zhibing, Z. (2019). Changes in phenolic profiles and antioxidant activity in rabbiteye blueberries during ripening. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 320–329. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1580718>
- Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Reyes-Chilpa, R., León, E., García, M. P., & Huerta-Reyes, M. (2011). Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, *18*(14), 1255–1261. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.018>
- Hu, K., Dars, A. G., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2018). Phytochemical profiling of the ripening of Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. *Food Chemistry*, *256*(February), 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.014>

- Huang, Z., Hu, H., Shen, F., Wu, B., Wang, X., Zhang, B., & Zhang, X. (2018). Relatively high acidity is an important breeding objective for fresh juice-specific apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 233(October 2017), 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.026>
- Hübert, T., & Lang, C. (2012). Artificial fruit: Postharvest online monitoring of agricultural food by measuring humidity and temperature. *International Journal of Thermophysics*, 33(8–9), 1606–1615. <https://doi.org/10.1007/s10765-011-1101-0>
- Irías-Mata, A., Jiménez, V. M., Björn, C., Schweiggert, R. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2018). Carotenoids and xanthophyll esters of yellow and red nance fruits (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) from Costa Rica. *Food Research International*, 111(May), 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.063>
- Kader, A. A. (2002). Postharvest biology and technology: an overview. In A. A. Kader (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops* (pp. 39–47). Davis California: University of California.
- Maguire, K. M., Banks, N. H., & Opara, L. U. (2001). Factors affecting weight loss of apples. *Horticultural Reviews*, 25, 197–233. <https://doi.org/10.1002/9780470650783.ch4>
- Maldini, M., Sosa, S., Montoro, P., Giangaspero, A., Balick, M. J., Pizza, C., & Loggia, R. Della. (2009). Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(3), 430–433. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.002>
- Mariutti, L. R. B., Rodrigues, E., Chisté, R. C., Fernandes, E., & Mercadante, A. Z. (2014). The Amazonian fruit *Byrsonima crassifolia* effectively scavenges reactive oxygen and nitrogen species and protects human erythrocytes against oxidative damage. *Food Research International*, 64, 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.032>
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- Medina-Torres, R., Salazar-García, S., Valdivia-Bernal, R., & Martínez-Moreno, E. (2012). Fenología de la floración y ciclos reproductivos del nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK) en Nayarit. *Universidad y Ciencia*, 28(3), 259–269.
- Medina-Torres, Raúl, Ortíz-Catón, M., & Valdivia-Bernal, R. (2012). Propiedades medicinales y otros usos del nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK). *Revista Fuente Nueva Época*, 4(11), 16–22.
- Medina-Torres, Raúl, Salazar-García, S., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Fruit quality indices in eight nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) selections.

- HortScience*, 39(5), 1070–1073. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.1070>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., De Lourdes Vargas Y Vargas, M., & Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Neves, L. C., Tosin, J. M., Benedette, R. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chemistry*, 174, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.111>
- Nielsen, S. S. (2010). Vitamin C determination by indophenol method. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis Laboratory Manual. Food Science Texts Series*. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_7
- Nunes, M. C. N., & Emond, J. P. (2003). Storage temperature. In J. A. Bartz & J. K. Brecht (Eds.), *Postharvest physiology and pathology of vegetables* (Second edi, pp. 209–228). Gainesville, Florida: University of Florida.
- Oliveira, R., Souza, D., Assis, G. De, Alves, D., Luiza, A., Aguilera, S., & Fonseca, V. (2017). Industrial Crops & Products *Byrsonima crassifolia* extract and fraction prevent UVB-induced oxidative stress in keratinocytes culture and increase antioxidant activity on skin. *Industrial Crops & Products*, 108(July), 485–494. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.015>
- Oliveira, R., Souza, D., Assis, G. De, Alves, D., Luiza, A., Aguilera, S., & Fonseca, V. (2018). Journal of Photochemistry & Photobiology , B : Biology Photochemoprotective effect of a fraction of a partially purified extract of *Byrsonima crassifolia* leaves against UVB-induced oxidative stress in fibroblasts and hairless mice. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 178(October 2017), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.033>
- Pérez, G. R. M., & Muñoz, R. A. (2016). Hypoglycemic Effects of sesquiterpene lactones from *Byrsonima crassifolia*. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 1135–1145. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0182-8>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rivas-Castro, S. F., Martínez-Moreno, E., Alia-Tejacal, I., & Pérez-López, A. (2019). Physical and physiological changes in phenotypes of nance

- (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) with different harvest maturity. *Scientia Horticulturae*, 256(July). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108620>
- Safařík, I. V. O., & Šantrůčková, H. (1992). Direct determination of total soil carbohydrate content. *Plant and Soil*, 143(1), 109–114. <https://doi.org/10.1007/BF00009135>
- Séfora, B. S. M., Marques, L. J. J., & de Souza, B. D. (2019). Optimization of the Extraction of Polyphenols and Antioxidant Capacity from *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth Fruit by Response Surface Methodology. In *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83457>
- Shewfelt, R. L. (2003). Color. In J. A. Bartz & J. K. Brencht (Eds.), *Postharvest physiology and pathology of vegetables* (2th. Ed., pp. 287–296). Gainesville, Florida: University of Florida.
- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101, 1012–1018.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3).
- Souza, J. N. S., Silva, E. M., Loir, A., Rees, J. F., Rogez, H., & Larandelle, Y. (2008). Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 106, 331–339.
- Speek, A. J., Speek-Saichua, S., & Schreurs, W. H. P. (1988). Total carotenoid and β -carotene contents of Thai vegetables and the effect of processing. *Food Chemistry*, 27, 245–257. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(88\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0308-8146(88)90010-6)
- Tolesa, G. N., Workneh, T. S., & Melesse, S. F. (2018). Logistic regression analysis of marketability of tomato fruit harvested at different maturity stages and subjected to disinfection, storage condition and storage period treatments. *Biol Agric Hortic.*, 87(65), 1–13. <https://doi.org/10.1080/01448765.2017.1368414>
- Torres-Rodríguez, A., Salinas-Moreno, Y., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., & Alía-Tejagal, I. (2019). Proanthocyanidins and enzymatic activity in mamey sapote (*Pouteria sapota*) fruit during ripening. *Revista Bio Ciencias*, 6, e565. <https://doi.org/10.15741/ revbio.06.01.22>
- Vicente, A. R., Martínez, G. A., Civello, P. M., & Chaves, A. R. (2002). Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biol Technol.*, 25(1), 59–71. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00142-9)
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K. C., & Seymour, G. B. (2018). Fruit

Softening: Revisiting the Role of Pectin. *Trends in Plant Science*, 23(4), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>

Weather Spark. (2020) Servicio de Información Climatológica. Recuperado de: <https://es.weatherspark.com/y/5475/Clima-promedio-en-Amacuzac-M%C3%A9xico-durante-todo-el-a%C3%B1o#Sections-Precipitation>
Consultado en octubre de 2020.

4. ESTUDIO DE DAÑOS POR FRÍO EN FRUTOS DE NANCHE (*Byrsonima crassifolia*): VARIABLES POSTCOSECHA, COMPOSICIÓN Y ENZIMAS

4.1 Resumen

El fruto de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) se cosecha cuando ocurre la abscisión de los frutos de la panícula y tiene vida de anaquel menor a 5 d a 20 °C. El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento postcosecha de frutos de nanche manejados en refrigeración, a través de la caracterización de variables que tipifican los daños por frío, para determinar condiciones adecuadas de almacenamiento. Con base en un manejo de frutos de nanche en madurez de consumo a 4, 8 y 20 °C durante 20 d, se determinó que el uso de refrigeración prolonga la vida de anaquel. Sin embargo, el manejo a 4 °C causó daño por frío, lo cual se evidenció con aumento de la producción de etileno después del traslado a una condición térmica ambiental, aumento de fuga de electrolitos, alteración de la velocidad de cambio de atributos de color, mayor ablandamiento, mayor concentración de sólidos solubles totales, mayor contenido de flavonoides, menor contenido de azúcares y carotenoides, así como alteración de enzimas antioxidantes como peroxidasa y catalasa. Los frutos manejados a 8 °C también presentaron síntomas de daños por frío, pero como sólo algunas variables se afectaron, el desorden fisiológico se calificó como leve.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, actividad enzimática, daño por frío, fuga de electrolitos, postcosecha, refrigeración.

CHILLING INJURY STUDY IN NANCE FRUITS (*Byrsonima crassifolia*): POSTHARVEST VARIABLES, COMPOSITION, AND ENZYMES

Abstract

The nance (*Byrsonima crassifolia* L.) fruit is harvested when abscission from the panicle occurs and has a shelf life of less than 5 d at 20 °C. The objective of the work was to evaluate the postharvest behavior of nance fruits handled in refrigeration, through the characterization of variables that typify chilling injury, to determine adequate storage conditions. Based on a handling of nance fruits at consumption maturity at 4, 8, and 20 °C for 20 d, it was determined that the use of refrigeration prolongs shelf life. However, handling at 4 °C caused chilling injury, which was evidenced by increase in the rate of ethylene production after transfer to an environmental thermal condition, increase in electrolyte leakage, alteration of the rate of change of color attributes, greater softening, higher concentration of total soluble solids, higher content of flavonoids, lower content of sugars and carotenoids, as well as alteration of antioxidant enzymes such as peroxidase and catalase. The fruits handled at 8 °C also showed symptoms of chilling injury, but due to only some variables were affected, the physiological disorder was qualified as mild.

Key words: *Byrsonima crassifolia*, chilling injury, electrolyte leakage, enzyme activity, postharvest, refrigeration.

Doctoral thesis. Doctorado en Ciencias Agroalimentarias. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo

Author: M.C. Karen Andrea Rivera Correa

Thesis Director: Dr. Salvador Valle Guadarrama

4.2 Introducción

El nanche (*Byrsonima crassifolia*; Malpighiaceae) se desarrolla principalmente en regiones de clima tropical y subtropical del continente americano, donde resaltan algunas de Estados Unidos, México y Brasil (Bayuelo-Jiménez, 2008). En México, los principales estados productores son Guerrero, Michoacán y Nayarit. La superficie total sembrada fue de 1544.2 Ha, con una producción de 8021.3 ton (SIAP, 2018).

El fruto de nanche tiene comportamiento no-climatérico (Rivera-Correa, 2020; Capítulo 3; presente documento) y se cosecha comúnmente cuando ocurre la abscisión de la panícula (Medina-Torres, Salazar-García, & Gómez-Aguilar, 2004). Es un fruto perecedero, cuya vida útil es de 5–6 d a 20–25 °C (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015). El manejo refrigerado constituye una alternativa para alargar la vida de anaquel de productos hortofrutícolas en fresco (Do Nascimento & Emond, 2002; Nunes & Emond, 2003).

En el caso de frutos de nanche se ha probado que el manejo a 15 °C permite alargar la vida postcosecha hasta 12 d de almacenamiento (Neves, et al., 2015). Incluso se ha sugerido que pueden almacenarse a 9 °C (Duarte, 2011). Sin embargo, no se ha evaluado si una condición térmica menor puede utilizarse y tampoco se han hecho evaluaciones sobre el eventual daño por frío en un manejo de baja temperatura. Martins & Cavestré (2013), determinaron el impacto de la refrigeración sobre la calidad de frutos de nanche. Los experimentos se llevaron a cabo desde cuatro días después de la cosecha y continuaron hasta el día 16 para frutos refrigerados a 12 °C y hasta el día ocho para frutos mantenidos a temperatura ambiente a 25 °C. Se encontró que el ácido ascórbico y la acidez titulable sufrieron una disminución más lenta en refrigeración. Asimismo, los frutos en refrigeración mantuvieron buen aspecto durante el almacenamiento. Los autores concluyeron que el fruto de nanche puede almacenarse a 12 °C para extender su vida de anaquel, sin experimentar daños por baja temperatura.

El daño por frío (CI) es un desorden fisiológico que involucra varios eventos y características reconocibles como picado de la superficie, deshidratación y áreas

hundidas, así como decoloración, aunque estos síntomas varían dependiendo de la especie, cultivar, condiciones de frío, prácticas agrícolas, entre otros. Si bien no hay un tipo de daño común para todos los frutos, hay algunos síntomas característicos que pueden ser reconocidos como daño por frío. Algunos cambios ocurren a nivel celular e incluyen alteraciones de la membrana celular y plasmólisis e incremento de fuga de electrolitos (Fernández-Trujillo & Martínez, 2006; Kratsch & Wise, 2000; Valenzuela et al., 2017). Otros cambios implican alteraciones en el metabolismo, incluyendo mayor producción de etileno y la acumulación de compuestos anormales como malonildialdehído (MDA), resultado de la respiración anaeróbica o daño oxidativo (Megías et al., 2016). Por ser el nanche un fruto tropical, el uso de temperaturas bajas durante un almacenamiento puede producir daño por frío. Con base en el conocimiento disponible para otros materiales, se prevé que la fruta afectada por daño por frío puede presentar decoloración de la cáscara y oscurecimiento de la pulpa.

Los síntomas del daño por frío se hacen más evidentes cuando el fruto es expuesto a temperaturas normales, después del almacenamiento. La lesión por frío se presenta en función del tiempo y la temperatura (Arias & Toledo, 2007). En algunos casos se presenta oscurecimiento debido a una reacción enzimática que usa compuestos fenólicos disueltos en la vacuola como sustrato. Este oscurecimiento está relacionado con un aumento en la actividad de enzimas como polifenol oxidasa (PPO) y fenil alanina amonio liasa (PAL) y una disminución de los fenoles libres (Come, 1998). Asimismo, el daño por frío se ha asociado también con una modificación de la actividad de enzimas como peroxidasa (POD) y catalasa (CAT). Si bien a medida que se reduce la temperatura de manejo, la actividad metabólica se reduce y se incrementa la vida de anaquel (Do Nascimento & Emond, 2002; Nunes & Emond, 2003; Nunes et al., 2003), también el uso de temperaturas bajas, puede causar daño por frío si se rebasa el umbral de tolerancia. En este sentido, el presente trabajo consideró la evaluación de variables asociadas a este desorden en frutos de nanche, particularmente aquéllas relacionadas con la afectación de la permeabilidad de membrana, como fuga de electrolitos, la variación del contenido de compuestos

antioxidantes de defensa como vitamina C y la actividad de enzimas como POD y CAT, con la hipótesis de que los frutos almacenados a temperaturas menores a 9 °C presentarían un comportamiento asociado a daños por frío. En tal contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de frutos de nanche en postcosecha, mediante un manejo controlado a distintas temperaturas, para determinar la factibilidad de alargamiento de la vida de anaquel en condiciones de refrigeración.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de nanche (*Byrsonima crassifolia*) cultivar ‘Amarillo dulce’ (**Figura 7**), provenientes del Campo Experimental de la Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, México, 920 m, región de clima subtropical, donde la temperatura generalmente varía de 8 a 31 °C, y precipitación promedio mensual de 218 mm (Weather Spark, 2020).



Figura 7. Frutos de nanche (*Byrsonima crassifolia*) de la región de Tepic, Nayarit, en el árbol (izquierda) y en madurez de consumo (derecha).

Los frutos se encontraban en madurez de consumo, con tonalidad amarilla, con peso promedio unitario de 4.93 g, contenido de sólidos solubles totales de 11.5 °Brix, acidez de 0.97 % ácido cítrico, contenido de azúcares totales de 116.58 mg Gluc g⁻¹ y relación SST/acidez en promedio de 11.86, lo cual los clasifica como dulces, de acuerdo a Medina-Torres et al. (2004), que propusieron frutos agrios

con valores entre 5.1 y 8.0, frutos agridulces de 8.1 a 10 y con valores mayores a 10.0 el fruto se clasifica como dulce. Cada unidad experimental constó de 100 g y con tres repeticiones se aplicó un tratamiento de manera completamente al azar. El material vegetal se transportó a la Universidad Autónoma de Chapingo, donde se acondicionó a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) por 5 h, para después ser almacenado de acuerdo al tratamiento correspondiente (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Tratamientos de bajas temperaturas en frutos de nanche.

Tratamiento	Identificación
Hasta 7 d a 20 °C; HR de 50-60% (testigo)	Control
Hasta 20 d a 8 °C; HR de 85% + 1 d a 20 °C; HR de 50-60%	T ₈₁
Hasta 20 d a 8 °C; HR de 85% + 2 d a 20 °C; HR de 50-60%	T ₈₂
Hasta 20 d a 4 °C; HR de 85% + 1 d a 20 °C; HR de 50-60%	T ₄₁
Hasta 20 d a 4 °C; HR de 85% + 2 d a 20 °C; HR de 50-60%	T ₄₂

HR: humedad relativa.

4.3.2 Organización experimental

Las condiciones de almacenamiento fueron: 20 ± 2 °C (50 – 60 % HR); 8 ± 2 °C (85 \pm 3 % HR) y 4 ± 2 °C (85 \pm 3 % HR). Los frutos se retiraron del almacenamiento a los días 2, 3, 4, 5 y 20 para su evaluación. Los frutos manejados a 20 °C se evaluaron el día del retiro y formaron el tratamiento Control. Los frutos manejados a 4 y 8 °C se evaluaron un día y dos días después del retiro y formaron los tratamientos T₄₁, T₄₂, T₈₁ y T₈₂, respectivamente. En cada caso, se evaluaron: pérdida acumulada de peso, firmeza, color, contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable, pH, tasas de respiración y producción de etileno, vitamina C, carotenoides, azúcares totales y reductores, fenoles solubles totales, flavonoides, proteína soluble, fuga de electrolitos, y actividad enzimática (polifenol oxidasa (PFO), peroxidasa (POD) y catalasa (CAT)).

Los datos se sometieron a un análisis de varianza considerando dos fuentes de variación, el tipo de tratamiento (Control, T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂) y el tiempo de almacenamiento. Se realizó una comparación de medias con el estadístico de Tukey ($\alpha=0.05$) y un análisis de correlación de Pearson entre las variables

estudiadas, utilizando los procedimientos proc corr, proc means y proc glm. El análisis se realizó con el programa SAS (SAS Institute Inc., 1999).

4.3.3 Variables de respuesta

La firmeza se determinó con un analizador de textura (Stable Micro Systems® Texture Analyzer Model XT2i, UK), con sonda esférica de 5 mm de diámetro que deformó los frutos 5 mm a velocidad de 2 mm s⁻¹. La firmeza de cinco frutos se promedió en cada unidad experimental y los resultados se expresaron en Newton (N).

El color se midió en el epicarpio de cinco frutos utilizando un colorímetro Hunter Lab (Miniscan XE Plus, Hunter Lab®, USA) y se promedió en cada unidad experimental para expresarlo como luminosidad (L*), ángulo de tono o matiz (H*) y cromaticidad (C*) (McGuire, 1992). La acidez titulable se midió mediante titulación (Ladaniya, 2008) y el pH mediante un potenciómetro. Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron en °Brix, utilizando un refractómetro CVQ-4012 (VelaQuin®, México).

Las tasas de respiración y producción de etileno se determinaron con un método estático (Bolívar-Fernández, Saucedo-Veloz, & Sauri-Duch, 2011; Saltveit, 2016). Los frutos de cada unidad experimental se colocaron en recipientes herméticos de 475 mL durante 1 h; se tomó una muestra del espacio de cabeza de cada recipiente y se analizó en términos de concentración de CO₂ y C₂H₄, mediante un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® 7890A. Las condiciones de temperatura del inyector, horno y detectores TCD (Detector de Conductividad Térmica) y FID (Detector de Ionización de Flama) para la determinación de CO₂ y etileno, respectivamente, fueron de 150, 80 y 170 °C, respectivamente. Se utilizó nitrógeno como gas de arrastre. La cuantificación se apoyó en mezclas estándar (Praxair de México, S.A. de C.V.) de CO₂ (460 mg L⁻¹) y etileno (100 mg L⁻¹).

Los azúcares totales y reductores fueron cuantificados con los procedimientos de fenol-sulfúrico (Safařík & Šantrůčková, 1992), y DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) (Miller, 1959), respectivamente, ambos basados en curvas estándar de glucosa.

El contenido de fenoles solubles totales (FST) se evaluó con el método de Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton & Rossi, 1965), utilizando un espectrofotómetro y curva estándar de ácido gálico (0-90 mg mL⁻¹). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra fresca (mg 100 g⁻¹). El contenido de flavonoides se cuantificó con un método colorimétrico (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002), utilizando curva estándar de catequina (0 - 290 µg mL⁻¹) y mediciones de absorbancia a 510 nm con un espectrofotómetro. Para evaluar el contenido de carotenoides totales, se preparó un extracto con hexano:acetona:etanol (2:1:1) (Speek, Speek-Saichua, & Schreurs, 1988) y se midió absorbancia a 450 nm, utilizando una curva estándar de β-caroteno (60-300 µg L⁻¹).

Se determinó contenido de proteína soluble y actividad de las enzimas polifenol oxidasa (EC 1.10.3.1, 1.10.3.2, 1.14.18.1; PFO), peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD) y catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT). Se preparó polvo de acetona (Balois-Morales et al., 2019) a partir de fruto de nanche molido con acetona fría. La proteína soluble se determinó por el método de Bradford (1976).

La actividad de PFO se determinó con el método descrito por Alia-Tejacal, Colinas-León, Martínez-Damián, & Soto-Hernández (2002) y Lamikanra (1995), con modificaciones. La enzima se extrajo a partir de 0.1 g de polvo de acetona, con 5 mL de Tris-HCl frío (100 mM; pH 7.1; 1 % polivinilpirrolidona (PVP)). La mezcla se centrifugó por 30 min a 4500 rpm y 4 °C y se evaluó el cambio de absorbancia a 460 nm en el espectrofotómetro. Para el ensayo de la actividad enzimática se emplearon 2.8 mL de catecol (60 mM) disuelto en buffer Tris-HCl (100 mM; pH 7.1), con 0.2 mL del sobrenadante. Los ensayos se realizaron a temperatura de 22 - 24 °C. La actividad enzimática se reportó como unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína (U mg⁻¹ proteína), donde una

unidad de actividad enzimática es igual a la formación de 1 μmol de o-benzoquinona min^{-1} .

La extracción de POD fue similar a PFO y el ensayo se hizo de acuerdo con el método descrito por Alia-Tejacal et al. (2002) y Flurkey & Jen (1978), con modificaciones. La mezcla de ensayo tuvo un volumen total de 3 mL, de los cuales 2.6 mL eran de buffer TrisHCl (100 mM; pH 7.1), 0.25 mL de guayacol (0.1 M), 0.1 mL de peróxido de hidrógeno (0.25 %) y 0.05 mL del sobrenadante. Se determinó el cambio de absorbancia a 460 nm durante 3 min. La actividad enzimática se reportó como unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína (U mg^{-1} proteína), donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de 1 μmol de tetraguaiacol min^{-1} . Los ensayos se hicieron a temperatura ambiente, entre 22 y 24 °C.

Para medir actividad de CAT, la enzima se extrajo a partir de polvo de acetona, donde 0.15 g de éste se mezclaron con 5 mL de Tris HCl (0.1 M; pH 8.5; 1 %PVP), en un homogeneizador de tejidos. La actividad de CAT se evaluó mediante el método descrito por Alia-Tejacal et al. (2002) y Balois-Morales et al. (2019). La actividad enzimática se reportó como unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína (U mg^{-1} proteína), donde una unidad de actividad enzimática es igual a la descomposición de 1 μmol de H_2O_2 .

Se cuantificó el contenido de vitamina C espectrofotométricamente a 760 nm, siguiendo la metodología propuesta por Jagota & Dani (1982). La fuga de electrolitos se determinó con base en la metodología descrita por Quiroz-González, Corrales-García, Colinas-León, & Ybarra-Moncada (2017) y Rodríguez-Verástegui et al. (2015) con modificaciones. Se cortaron mitades de fruto de peso de 1.0 g, las cuales se agregaron a 20 mL de agua destilada y, mediante un conductímetro YSI Professional Series Pro 30®, se determinó la conductividad eléctrica (CE, mS) a las 24 h de almacenamiento y después de someter el material en autoclave por 50 min para obtener la máxima fuga de electrolitos (FE). El porcentaje de FE se realizó con el cálculo

$(\%FE)=100*CE_1/CE_2]$, donde CE_1 es la conductividad inicial y CE_2 la conductividad final. Se aceptó que el %FE refleja el daño en membrana.

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Pérdida de peso

Todos los frutos perdieron peso a lo largo del almacenamiento, pero las mayores tasas de pérdida ocurrieron en el tratamiento Control, con 4.18 % por día, en contraste con el material de los tratamientos T_{81} , T_{82} , T_{41} y T_{42} , donde tuvieron 1.70, 1.99, 0.08 y 1.44 % por día, en promedio, respectivamente, durante los primeros 5 d, de manera que, al término del almacenamiento de 20 d, se tuvo pérdida de masa mayor a 76 % en la condición de 20 °C, entre 30.2 y 33.2 % en el manejo a 8 °C y entre 17.2 y 19.9 % en la condición de 4 °C (**Cuadro 9**). Se tuvieron pérdidas de peso mayores a 10 % en el Control después del día tres, después del día 4 en T_{81} y T_{42} , y después del día 5 en T_{41} , que fue el tratamiento con menor pérdida de peso, pero en T_{82} desde el día 2, que es el tratamiento que inició con mayor pérdida de peso, pero se mantuvo en valores cercanos.

Este comportamiento indicó que, si bien la pérdida de peso es un fenómeno continuo a lo largo del tiempo, el uso de una condición térmica más baja permitió reducir la velocidad a la que ocurrió. La pérdida fisiológica de peso está asociada principalmente con un fenómeno de transpiración. Además, es la mayor causa de deterioro en términos cuantitativos (pérdidas de peso comercializable) y cualitativos, como deshidratación de la epidermis, pérdida de textura y calidad nutritiva (Di Santo, Pagano, & Sozzi, 2009). La transpiración es resultado de la presencia de un gradiente de presión de vapor del ambiente externo respecto del interno, con una resistencia determinada por la epidermis y la capa de aire en contacto con la superficie del fruto (Taiz & Zeiger, 2007). En el presente trabajo, la diferencia en pérdida de peso se explica con el hecho de que la humedad relativa varió entre 50 y 60 % en la condición de 20 °C, en tanto que en el manejo refrigerado la condición fue de 85 % HR.

4.4.2 Firmeza

En la primera etapa del almacenamiento, los frutos presentaron firmeza de 2.35 (± 0.14) N y durante el almacenamiento el valor se redujo a razón de 1.12 N d⁻¹ a 20 °C, lo cual contrastó con la variación de 0.06, 0.14, 0.08 y 0.20 N d⁻¹ en los tratamientos T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂, respectivamente, donde no hubo contraste significativo entre los manejos a 8 °C, pero sí lo hubo entre los materiales manejados a 4 °C. Al cumplirse 20 d de almacenamiento, los frutos del tratamiento Control exhibieron un incremento significativo de la firmeza, lo cual correspondió a un endurecimiento por deshidratación originado por la alta pérdida de peso que causó la transpiración. Al respecto, el análisis de Pearson mostró una correlación positiva altamente significativa entre la firmeza y la pérdida de peso (**Cuadro 10**). Los frutos del presente trabajo tuvieron madurez de consumo al inicio del almacenamiento, es decir, que los cambios encontrados ocurrieron en la fase de senescencia. La firmeza de los frutos de nanche amarillo en madurez comestible se ha reportado de 0.75 a 1.35 N, indicando que son frágiles en esta fase y resisten poca manipulación (Maldonado et al., 2020), lo cual es similar a los valores encontrados (**Cuadro 9**). Uno de los síntomas de daño por frío incluye la pérdida significativa de firmeza, por daño a la membrana (Valenzuela et al., 2017). En el presente experimento, la variación de firmeza en los tratamientos de almacenamiento a baja temperatura contrastó con el comportamiento de los frutos del tratamiento Control. La pérdida de firmeza es un fenómeno que comúnmente acompaña al proceso de maduración de un fruto (Valero & Serrano, 2010), pero continúa aun después de esta etapa, lo cual se encontró en el presente trabajo. Aunque el ablandamiento puede reflejar una pérdida de turgencia derivado de la pérdida de agua, está más bien asociado con la degradación de los polímeros de la pared celular, por la acción de enzimas pectolíticas (Wang, Yeats, Uluisik, Rose, & Seymour, 2018).

Cuadro 9. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la pérdida de peso y la firmeza, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Pérdida de peso (%)					
Control	6.78 b (0.53)	9.45 b (0.96)	15.81 a (0.31)	19.32 a (0.46)	76.18 a (0.64)
T ₈₁	6.08 c (0.24)	8.36 bc (0.23)	9.96 c (0.12)	11.17 b (0.88)	30.10 b (0.63)
T ₈₂	11.22 a (0.38)	13.86 a (0.69)	14.17 b (0.22)	17.19 a (0.54)	33.18 b (1.24)
T ₄₁	6.78 d (0.06)	5.55 c (0.18)	5.75 d (0.41)	7.01 c (0.29)	17.17 c (1.06)
T ₄₂	9.26 b (0.18)	10.99 ab (0.45)	9.88 c (0.36)	13.59 b (0.65)	19.86 c (0.48)
HSD	1.716	3.085	1.429	2.697	3.930
CV (%)	8.556	12.444	4.867	7.497	4.529
Firmeza (N)					
Control	2.35 a (0.11)	2.08 ab (0.10)	1.76 b (0.07)	1.34 b (0.07)	6.82 a (0.43)
T ₈₁	2.20 a (0.11)	2.27 ab (0.11)	2.19 ab (0.07)	1.80 b (0.07)	1.96 b (0.43)
T ₈₂	2.25 a (0.30)	1.89 ab (0.23)	2.26 ab (0.16)	1.78 b (0.08)	1.68 b (0.16)
T ₄₁	2.43 a (0.10)	2.80 a (0.36)	2.41 a (0.09)	2.81 a (0.22)	2.09 b (0.20)
T ₄₂	2.52 a (0.05)	1.53 b (0.12)	2.02 ab (0.18)	1.64 b (0.07)	1.70 b (0.09)
HSD	0.750	0.960	0.556	0.598	1.128
CV (%)	5.47	18.714	10.545	13.252	17.933

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

Cuadro 10. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables de frutos de nanche almacenados en temperaturas bajas.

	pp	fir	lum	hue	cro	res	eti	fe	pH	viC	ato	are	fen	fla	car	pro	pod	ppo	cat	aci	sst	
pp	1.00																					
fir	0.39**	1.00																				
lum	-0.86**	-0.35**	1.00																			
hue	-0.88**	-0.37**	0.91**	1.00																		
cro	-0.72**	-0.26*	0.90**	0.85**	1.00																	
res	0.86**	0.63**	-0.77**	-0.76**	-0.61**	1.00																
eti	0.71**	0.56**	-0.61**	-0.66**	-0.53**	0.76**	1.00															
fe	-0.10ns	-0.13ns	0.04ns	0.09ns	0.07ns	-0.09ns	-0.26**	1.00														
pH	-0.02ns	0.23*	0.04ns	-0.14ns	-0.05ns	-0.22ns	0.18ns	-0.08ns	1.00													
viC	-0.54**	0.34**	0.54**	0.53**	0.53**	-0.14ns	-0.09ns	0.13ns	-0.17ns	1.00												
ato	0.27**	-0.32**	-0.41**	-0.34**	-0.37**	0.06ns	0.31**	-0.10ns	0.07ns	-0.30**	1.00											
are	0.55**	-0.35**	-0.48**	-0.42**	-0.32**	0.14ns	0.25*	-0.08ns	0.11ns	-0.54**	0.45**	1.00										
fen	0.49**	-0.21*	-0.41**	-0.43**	-0.29**	0.30**	0.16ns	-0.06ns	-0.14ns	-0.31**	0.06ns	0.31**	1.00									
fla	0.27**	-0.17ns	-0.33**	-0.26*	-0.24*	0.41**	0.12ns	0.09ns	-0.14ns	-0.26*	0.11ns	0.33**	0.27*	1.00								
car	0.44**	-0.01ns	-0.18ns	-0.29**	-0.10ns	0.05ns	0.13ns	-0.15ns	0.18ns	-0.27*	-0.03ns	0.09ns	0.43**	-0.03ns	1.00							
pro	-0.18ns	0.29**	0.12ns	0.09ns	0.20ns	-0.08ns	0.18ns	-0.05ns	0.01ns	0.13ns	-0.03ns	0.01ns	0.03ns	0.04ns	-0.12ns	1.00						
pod	-0.12ns	0.09ns	0.08ns	0.07ns	-0.01ns	-0.08ns	0.28**	-0.21*	0.04ns	0.07ns	0.08ns	-0.03ns	0.06ns	-0.08ns	-0.12ns	0.22*	1.00					
ppo	0.09ns	-0.08ns	0.01ns	-0.06ns	0.02ns	0.06ns	-0.16ns	-0.11ns	0.13ns	-0.11ns	0.04ns	-0.07ns	0.09ns	-0.14ns	0.11ns	-0.16ns	0.003ns	1.00				
cat	0.22*	0.34**	-0.08ns	-0.13ns	0.01ns	-0.10ns	-0.07ns	-0.01ns	0.23*	-0.22*	-0.08ns	0.05ns	0.14ns	-0.01ns	0.53**	0.11ns	-0.15ns	0.12ns	1.00			
aci	0.34**	-0.41**	-0.24*	-0.12ns	-0.07ns	0.43**	-0.14ns	0.18ns	-0.47**	-0.19ns	-0.07ns	0.20ns	0.24*	0.40**	-0.02ns	-0.03ns	-0.21*	0.03ns	-0.02ns	1.00		
sst	0.31**	-0.13ns	-0.31**	-0.20ns	-0.12ns	0.36**	-0.05ns	0.11ns	-0.16ns	-0.23*	0.03ns	0.40**	0.42**	0.27**	0.22*	-0.09ns	-0.11ns	0.02ns	-0.001ns	0.40**	1.00	

Símbolos de variables; pp: pérdida de peso, fir: firmeza, lum: luminosidad, hue: ángulo de tono, cro: croma, res: respiración, eti: etileno, fe: fuga de electrolitos, viC: vitamina C, ato: azúcares totales, are: azúcares reductores, fen: fenoles, fla: flavonoides, car: carotenoides, pro: proteína, pod: peroxidasa, ppo: polifenoloxidasas, cat: catalasa, aci: acidez, sst: sólidos solubles totales. Símbolos de significancia; ns: no significativo ($p > 0.05$), *significativo ($p \leq 0.05$), y **altamente significativo ($p \leq 0.01$).

Cuadro 11. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para los parámetros de color, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Luminosidad					
Control	64.98 a (0.39)	64.42 a (0.85)	61.41 ab (1.05)	60.84 a (0.63)	44.30 c (0.45)
T ₈₁	64.88 ab (1.01)	59.89 b (0.39)	63.78 a (0.75)	60.61 a (1.06)	57.59 b (1.20)
T ₈₂	62.24 b (0.59)	60.60 ab (1.19)	58.51 b (1.64)	61.66 a (2.17)	57.03 b (0.72)
T ₄₁	64.21 ab (0.34)	60.50 ab (1.03)	62.51 ab (0.86)	63.29 a (1.10)	64.32 a (0.58)
T ₄₂	63.22 ab (0.47)	63.40 ab (1.23)	61.41 ab (0.99)	64.50 a (0.51)	56.09 b (1.08)
HSD	2.705	4.517	5.102	5.435	3.818
CV (%)	1.643	2.834	3.220	3.400	2.915
Angulo de tono					
Control	79.65 a (0.44)	79.21 ab (0.21)	79.10 a (0.58)	77.49 a (0.57)	65.45 c (0.70)
T ₈₁	79.86 a (0.49)	80.25 a (0.23)	78.98 a (0.17)	77.42 a (0.45)	76.08 ab (1.07)
T ₈₂	79.44 a (0.81)	76.66 b (0.69)	75.88 b (0.55)	78.67 a (1.97)	74.46 b (1.12)
T ₄₁	79.39 a (0.26)	80.01 a (0.66)	79.18 a (0.74)	78.67 a (0.18)	79.91 a (1.05)
T ₄₂	79.92 a (0.88)	79.20 ab (0.90)	78.59 a (0.35)	79.93 a (0.18)	74.80 b (0.92)
HSD	2.796	2.610	2.471	4.186	4.410
CV (%)	1.363	1.282	1.224	2.074	2.524
Croma					
Control	56.625 ab (0.76)	55.897 a (1.72)	56.606 a (2.54)	52.066 ab (0.77)	34.400 c (1.13)
T ₈₁	57.39 a (1.44)	52.99 a (1.09)	56.03 a (1.64)	49.41 b (1.83)	48.37 ab (2.03)
T ₈₂	56.78 ab (0.80)	49.39 a (1.46)	47.17 a (2.47)	55.97 ab (3.51)	48.38 ab (1.74)
T ₄₁	52.89 b (0.75)	54.54 a (1.52)	52.51 a (2.01)	52.78 ab (1.77)	55.70 a (1.89)
T ₄₂	60.76 a (0.82)	54.63 a (1.53)	51.38 a (2.15)	60.21 a (1.45)	46.04 b (1.94)
HSD	4.331	7.110	10.501	8.954	7.889
CV (%)	2.958	5.151	7.700	6.445	7.239

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

Se ha tipificado que la pérdida de firmeza depende de la anatomía de los tejidos vegetales, en particular del tamaño de las células, su forma y disposición en el fruto, la respuesta a la presión de turgencia y del espesor y resistencia de las paredes celulares (Chanliaud, Burrows, Jeronimidis, & Gidley, 2002). El fruto de nanche es una drupa, el exocarpio es delgado y de color amarillo y el mesocarpio es de consistencia pastosa (Moreno, 2000).

El comportamiento del material manejado a 8 °C fue similar en los días uno y dos posteriores al término del almacenamiento. Sin embargo, en el material manejado a 4 °C se observó una alteración de la velocidad de pérdida de firmeza entre los días uno y dos post-almacenamiento, lo cual puede ser indicativo de que, en esa condición, hubo una alteración de la estructura física, que puede estar asociada a un daño por frío.

4.4.3 Color

En el día 2 los frutos Control presentaron luminosidad (L^*) de 64.98 (± 0.39) %, ángulo de matiz (H^*) de 79.65° ($\pm 0.44^\circ$) y cromaticidad (C^*) de 56.62 (± 0.76). Estos valores coincidieron con los reportados por Rivera-Correa (2020; Capítulo 3, presente documento) para frutos de nanche provenientes de Amacuzac, Morelos, y tipifican los atributos de color en estado de madurez de consumo.

Durante el almacenamiento, los componentes del color que más cambio mostraron fueron la luminosidad y la cromaticidad. El ángulo de matiz o hue se vio menos afectado debido a que los carotenoides que dan color son pigmentos relativamente estables al almacenamiento, solo la deshidratación los hace susceptibles a la descomposición por oxidación (Rodríguez-Amaya, 1999). En general, los frutos del tratamiento Control fueron los que más se vieron afectados (**Cuadro 11**). De estos resultados se desprenden dos aspectos. Primero, con el uso de una temperatura más baja, los cambios en los atributos de color se hacen más lentos, lo que permite conservar por más tiempo la apariencia externa de los frutos. Segundo, en la transición entre los días uno y dos posteriores al retiro de las condiciones de 8 °C la variación de los tres atributos mantuvo el mismo ritmo

de cambio. Sin embargo, la velocidad de cambio se alteró en el caso de la condición de 4 °C y ello sugirió que en esta temperatura hubo una modificación de la fisiología, que puede estar asociada con un daño por frío, porque se ha reportado que la sintomatología correspondiente puede incluir pérdidas de color, manchas anómalas, así como decoloración (Valenzuela et al., 2017).

El análisis de Pearson mostró correlación significativa de los atributos de color con la pérdida de peso y la firmeza, en ambos casos en forma negativa (**Cuadro 10**). El color de un material depende de la presencia de sustancias cromóforas. El valor del ángulo de matiz indicó que la tonalidad de los frutos fue cercana al amarillo por la presencia de carotenoides. Sin embargo, el análisis de Pearson mostró que sólo la tonalidad se correlacionó con el contenido de estos compuestos, pero no así la luminosidad ni la cromaticidad (**Cuadro 10**). Aunque los carotenoides exhiben carácter lipofílico, en la medida que el fruto pierde peso, su estructura puede modificarse y con ello causar alteración en la capacidad para reflejar, absorber o refractar la luz derivada de la presencia de sustancias cromóforas. Por otro lado, la correlación del color con la firmeza se explica más bien con la relación de ésta con la pérdida de peso en el fruto.

4.4.4 Tasa de respiración y producción de etileno

El nanche es un fruto que reporta una tasa de respiración baja ($< 10 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de CO_2 ; Kader, 2002). Los frutos del tratamiento Control tuvieron valores entre 1.37 y 1.73 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ durante los primeros cinco días de almacenamiento, sin ninguna tendencia clara. Resultados previos de frutos provenientes de Amacuzac, Morelos, México, fueron del mismo orden de magnitud a los obtenidos y mostraron tasas de respiración de 4.02 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Capítulo 3, presente documento). Otros trabajos reportaron valores entre 7.7 a 17.3 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en frutos de la región de Tabasco, México (Rivas-Castro, Martínez-Moreno, Alia-Tejacal, & Pérez-López, 2019) y de 6.0 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para frutos de Roraima, Brasil (Neves, Tosin, et al., 2015), lo que muestra que el comportamiento puede variar entre regiones. Sin embargo, después de 20 d de almacenamiento, los frutos de este grupo mostraron incremento en la actividad respiratoria hasta 7.90

mL kg⁻¹ h⁻¹, lo cual se debió probablemente a proliferación fúngica y a que en esa etapa el material vegetal presentaba avanzada senescencia. Si bien el material de los otros tratamientos, T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂, tuvo un manejo refrigerado (8 y 4 °C); la evaluación se hizo a 20 °C, uno (T₈₁ y T₄₁) y dos días (T₈₂ y T₄₂) después del retiro de la condición de baja temperatura, con el fin de evaluar la manifestación de síntomas indicativos de daño por frío, que se observarían en un aumento en producción de CO₂ y etileno y posterior disminución (Alia, Colinas, Martínez, & Soto, 2005b). El tratamiento T₄₂ presentó al día 2 la mayor tasa de respiración, la cual disminuyó al día siguiente. Una situación similar, aunque de menor magnitud, sucedió en T₈₂, lo que puede sugerir un daño por frío.

Desde el día dos de almacenamiento los frutos de T₈₁ y T₄₁ exhibieron tendencia a experimentar elevación de la respiración, lo cual se observó de manera más pronunciada en el material de T₈₂ y T₄₂ (**Cuadro 12**), aunque la variación fue estadísticamente significativa hasta el día 5, con respecto al tratamiento Control. Por otro lado, tras 20 d de almacenamiento, los frutos de T₈₁, T₄₁, T₈₂ y T₄₂ mantuvieron valores similares de respiración a los del periodo inicial, debido a que la refrigeración evitó el desarrollo fúngico.

Los frutos del tratamiento Control exhibieron producción de etileno promedio de 44.11 µL kg⁻¹ h⁻¹ en el primer periodo de 5 d de almacenamiento, lo cual fue menor al reporte de Rivera-Correa (2020; Capítulo 3, presente documento) y ello puede ser debido a una variabilidad del material vegetal entre regiones. En forma congruente con la respiración, en el Control se observó un incremento súbito en la producción de etileno al cumplirse 20 d de almacenamiento, debido al desarrollo fúngico (**Cuadro 12**). Por otro lado, desde el día 2 de almacenamiento se produjo un incremento notable en la producción de etileno de los frutos, cuando éstos se retiraron del almacenamiento de baja temperatura, el cual mostró, tanto aumento como disminución entre los días uno y dos posteriores al retiro. Este hecho sugirió que hubo daño por frío en los frutos, en virtud de que un el incremento súbito temporal de la producción de etileno del material vegetal es un síntoma típico de ello (Alia, Colinas, Martínez, & Soto, 2005b).

Cuadro 12. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para respiración y etileno, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Respiración (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)					
Control	1.478 a (0.063)	1.725 a (0.223)	1.650 a (0.139)	1.376 c (0.030)	7.895 a (0.210)
T ₈₁	1.697 a (0.151)	1.899 a (0.043)	2.354 a (0.169)	1.584 bc (0.024)	1.798 b (0.093)
T ₈₂	1.931 a (0.119)	1.411 a (0.083)	1.592 a (0.078)	1.875 ab (0.013)	2.295 b (0.114)
T ₄₁	1.623 a (0.081)	1.964 a (0.150)	1.577 a (0.060)	1.636 bc (0.127)	2.045 b (0.200)
T ₄₂	2.094 a (0.041)	1.681 a (0.106)	2.110 a (0.298)	2.028 ab (0.074)	1.907 b (0.019)
HSD	0.641	0.717	0.775	0.297	0.651
CV (%)	16.043	12.46	18.033	6.875	8.919
Etileno (µL kg ⁻¹ h ⁻¹)					
Control	46.68 bc (1.713)	14.84 b (0.933)	80.35 a (7.933)	34.58 c (1.863)	236.82 a (6.469)
T ₈₁	126.94 a (12.907)	13.21 b (1.165)	60.47 ab (0.597)	53.01 b (0.950)	76.95 bc (5.179)
T ₈₂	76.29 b (5.782)	62.53 a (1.106)	43.33 b (2.311)	73.16 a (2.154)	92.61 bc (6.594)
T ₄₁	117.64 a (12.285)	41.78 a (11.103)	50.23 b (2.664)	65.71 a (3.125)	16.75 d (0.846)
T ₄₂	35.77 c (3.921)	44.32 a (1.684)	41.42 b (4.261)	66.07 a (1.778)	53.46 c (5.474)
HSD	36.670	21.711	23.803	9.582	25.870
CV (%)	18.141	24.767	16.301	6.531	10.838

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

El análisis de Pearson mostró que la actividad respiratoria y la producción de etileno estuvieron correlacionados de manera significativa (**Cuadro 10**), lo cual es común en la actividad fisiológica de frutos, pues la mayoría de los procesos bioquímicos que caracterizan el metabolismo de vegetales son fuertemente dependientes de la presencia del gas. También se encontró que la actividad respiratoria y la producción de etileno se correlacionaron positivamente con la pérdida de peso, lo cual sugiere que esta última puede inducir estrés en el tejido y causar estos procesos. Otras variables que se correlacionaron significativamente con la respiración y la producción de etileno fueron la firmeza, los atributos de color, los contenidos de fenoles solubles (sólo con respiración) y flavonoides (sólo con respiración), el contenido de sólidos solubles totales y la

acidez. En el caso de los atributos de color, la correlación fue negativa y ello puede estar inducido por la presencia de etileno, que tiende a incrementarse derivado de una afectación por frío y por un estado senescente al final del almacenamiento. Rivera-Correa (2020; Capítulo 3, presente documento) también encontró que los atributos de color experimentan reducción de su valor durante el periodo postcosecha, lo que puede estar asociado a la senescencia.

La correlación positiva en el caso de la firmeza requiere ser interpretada con cuidado, pues sugiere que cuanto mayores son la respiración y la producción de etileno mayor es esta propiedad mecánica. En realidad, los mayores valores de firmeza se encontraron en los tratamientos refrigerados, pero el incremento en respiración y producción de etileno con el traslado de los frutos a la condición de temperatura mayor creó esa correlación positiva.

Por otro lado, las interacciones positivas con la acidez y el contenido de sólidos solubles totales requieren de más investigación, en virtud de que ni el pH ni el contenido de azúcares totales y reductores resultaron correlacionados con la actividad respiratoria y la producción de etileno.

4.4.5 Fuga de electrolitos

La evaluación de fuga de electrolitos (FE) causada por un vaciado del contenido celular no se afectó por el tipo de tratamiento aplicado en la primera etapa de cuatro días de almacenamiento. Sin embargo, al cumplirse 20 d de almacenamiento, los frutos del tratamiento Control exhibieron menor FE, en comparación con el resto de los materiales (**Cuadro 13**), lo cual pudo deberse a la deshidratación que los frutos experimentaron en un estado de senescencia avanzada.

La fuga de electrolitos tuvo un comportamiento prácticamente constante en el material del tratamiento Control, donde inició en 70.45 % y se mantuvo con valor similar hasta el día 5 con 70.79 %. Este comportamiento fue similar en el material de T₈₁ y T₈₂ (**Cuadro 13**) y sólo se observó un aumento claro en T₄₁ y T₄₂, donde al término de 20 d de almacenamiento se tuvieron valores de 21.24 y 14.58 %

más de FE. En promedio, durante todo el almacenamiento, el material del tratamiento Control tuvo 74.98 %, mientras que en los tratamientos T₈₁, T₄₁, T₈₂ y T₄₂ los valores fueron 66.57, 70.99, 74.79 y 76.87 %, respectivamente, lo que indicó que, en los almacenamientos a temperaturas más bajas, se tuvo mayor fuga de electrolitos ($P \leq 0.1$), indicativo de un posible daño por frío.

Cuadro 13. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la fuga de electrolitos, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Fuga de Electrolitos (%)					
Control	70.45 a (3.01)	72.34 a (4.73)	72.40 a (2.25)	70.79 a (2.59)	68.50 c (6.11)
T ₈₁	71.99 a (2.34)	67.53 a (2.95)	67.53 a (2.92)	73.49 a (1.97)	72.06 abc (1.56)
T ₈₂	73.45 a (6.45)	73.24 a (5.68)	72.44 a (2.02)	72.45 a (2.19)	65.79 c (1.97)
T ₄₁	62.81 a (2.69)	71.39 a (3.73)	71.40 a (1.44)	80.52 a (2.12)	84.05 ab (6.06)
T ₄₂	74.31 a (6.12)	70.66 a (2.56)	75.02 a (6.43)	75.03 a (1.01)	88.89 a (1.43)
HSD	19.946	19.614	15.474	9.997	18.076
CV (%)	6.51	3.08	8.373	5.373	10.025

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

La evaluación de FE se usa con frecuencia como variable indicadora de la presencia de daños por frío, debido al daño en las membranas (Toivonen, 2004). Sin embargo, no se puede utilizar el aumento de la fuga de iones como un indicador inequívoco de tal desorden fisiológico. Al respecto, tanto la senescencia como la lesión por frío, pueden causar los mismos cambios físicos, donde las células pierden eventualmente su integridad y estructura, cuyas consecuencias se miden como una mayor fuga de iones. Así, es necesario diferenciar entre los aumentos en la fuga de electrolitos asociados con la senescencia de aquéllos que reflejan el daño por frío (Biswas et al., 2016). En los resultados obtenidos (**Cuadro 13**) se observan valores mayores de FE en los tratamientos de almacenamiento a bajas temperaturas con respecto al Control en el día 5 y el día 20 en T₈₂, T₄₁ y T₄₂, lo que indica un daño por frío que afectó a las membranas mayormente a 4 °C, ya que fueron valores superiores que los del Control.

Por otro lado, podrían producirse algunas inconsistencias al utilizar la medición de fuga de electrolitos como indicador de daño por frío. Los resultados inconsistentes pueden surgir porque no todos los estudios siguen algunas condiciones necesarias para calcular la tasa de fuga de iones. Saltveit (2002) indicó que se deben considerar tres condiciones para garantizar una representación precisa de la permeabilidad de la membrana: (1) el tejido debe sumergirse en una solución acuosa isotónica, (2) la tasa de fuga de iones debe ser lineal durante el período de muestreo, y (3) si el tejido está recién cortado, debe lavarse y se debe utilizar una solución isotónica para reducir el estrés adicional. En este caso, los resultados obtenidos poco notables podrían deberse a la dificultad para obtener rodajas homogéneas del tejido de los frutos, que por su tamaño pequeño, se optó por cortar fragmentos de 1 g, que contenían epidermis de un lado y pulpa en el lado opuesto, y las células de la epidermis podrían representar una barrera frente a la fuga de electrolitos.

4.4.6 Acidez y pH

Se observó que la acidez tiende a aumentar y el pH a disminuir en los frutos del tratamiento Control, que se almacenó a mayor temperatura (**Cuadro 14**). Un comportamiento similar fue observado en frutos amarillos (**Figura 5**, Rivera-Correa, 2020; Capítulo 3; presente documento), debido a condiciones de senescencia, mientras que en los frutos mantenidos en refrigeración la tendencia fue de un comportamiento más estable.

La acidez de los frutos se debe principalmente a la presencia de ácidos orgánicos que se almacenan en la vacuola, los cuales participan comúnmente en la respiración y generalmente disminuyen durante la maduración del fruto. La acidez de los frutos se expresa en función del ácido que predomine, que puede ser cítrico, málico, oxaloacético, láctico, entre otros. Sin embargo, el contenido de acidez también puede ser resultado de fermentación causada por el desarrollo fúngico (Jiménez et al., 2011) y por las condiciones de senescencia de los frutos, en virtud de que el estado fisiológico del material del presente trabajo correspondió a madurez de consumo.

Cuadro 14. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para las variables químicas de acidez y pH, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
% Ac. cítrico					
Control	1.019 c (0.035)	1.137 b (0.066)	1.172 b (0.015)	1.253 ab (0.043)	-
T ₈₁	1.310 ab (0.070)	1.396 a (0.034)	1.193 b (0.038)	1.114 b (0.016)	1.214 b (0.031)
T ₈₂	1.184 abc (0.034)	1.127 b (0.042)	1.357 a (0.074)	1.427 a (0.071)	1.163 b (0.009)
T ₄₁	1.097 bc (0.098)	1.219 ab (0.017)	1.109 b (0.037)	1.266 ab (0.045)	1.436 a (0.025)
T ₄₂	1.408 a (0.014)	1.258 ab (0.058)	1.356 a (0.104)	1.374 a (0.043)	1.298 ab (0.059)
HSD	0.280	0.254	0.142	0.233	0.142
CV (%)	9.122	8.084	4.482	7.032	4.77
pH					
Control	3.415 a (0.056)	3.365 ab (0.029)	3.330 a (0.050)	3.305 a (0.038)	-
T ₈₁	3.383 a (0.083)	3.250 b (0.016)	3.350 a (0.094)	3.443 a (0.058)	3.383 a (0.073)
T ₈₂	3.336 a (0.044)	3.433 a (0.071)	3.380 a (0.063)	3.323 a (0.018)	3.375 a (0.024)
T ₄₁	3.300 a (0.092)	3.316 ab (0.045)	3.320 a (0.040)	3.346 a (0.038)	3.246 a (0.026)
T ₄₂	3.290 a (0.057)	3.290 ab (0.006)	3.263 a (0.028)	3.286 a (0.041)	3.352 a (0.021)
HSD	0.312	0.181	0.278	0.188	0.163
CV (%)	3.619	2.11	3.172	2.181	2.092

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

En promedio, durante todo el almacenamiento, el material del tratamiento Control tuvo 1.145 % y 3.35 de acidez y pH, mientras que en los tratamientos se tuvieron valores de 1.246 % y 3.36 en T₈₁, 1.252 % y 3.37 en T₈₂, 1.247 % y 3.31 en T₄₁, y 1.328 % y 3.29 en T₄₂, respectivamente, los cuales constituyen valores muy similares. El pH tuvo valores de 3.49 al inicio del almacenamiento, pero, a diferencia de la acidez, se mantuvo sin cambios significativos en la primera etapa de almacenamiento de cinco días en los frutos de todos los tratamientos, incluyendo el tratamiento Control, sin diferencia significativa entre ellos, lo cual sugirió que los cambios en acidez en realidad no fueron importantes, ya que no

hay un aumento significativo de la respiración y glicólisis, que incremente la acidez de los frutos.

Moo-Huchin et al. (2014) encontraron que el nanche 'Amarillo' tiene acidez titulable de 0.47 ± 0.008 g de ácido cítrico 100 g^{-1} de peso fresco, lo cual fue menor a lo encontrado en el presente estudio, debido a variaciones entre frutos. Para el caso de nanche, la acidez se ha reportado como ácido cítrico (Aparecido, Castro, Matias, Correia da Costa, & Clemente, 2016; De Souza et al., 2012; Ibarra, 2016; Medina-Torres et al., 2004; Neves, Tosin, et al., 2015), aunque en su valor pueden participar otros ácidos, como el ascórbico. El fruto de nanche se ha clasificado como altamente ácido, con una acidez total de 1.72 a 2.88 Cmol L^{-1} , de alto contenido de sólidos solubles totales, cuyo valor reportado es de 21.8 °Brix, y de contenido intermedio de azúcares, que va de 4.2 a $5.2 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (Neves, Tosin, et al., 2015).

El análisis de Pearson indicó que la acidez se correlacionó con el pH, lo cual era un resultado esperado, pero también con el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. En virtud de que también se identificó correlación entre la acidez y la actividad respiratoria, se cree que esta relación explica la asociación con compuestos fenólicos, por la dependencia de éstos con la respiración a través de la ruta de la glicólisis.

4.4.7 Sólidos solubles totales, azúcares totales y azúcares reductores

El contenido de sólidos solubles totales (SST) fue de $11.2 (\pm 1.4)$ °Brix al inicio del almacenamiento. Los frutos del tratamiento Control experimentaron variaciones en el rango de 10.5 a 13.5 °Brix en los primeros cinco días de almacenamiento, pero sin una tendencia clara (**Cuadro 15**).

Rivera-Correa (2020; Capítulo 3, presente documento) encontró que el contenido de SST del fruto de nanche cambia con la maduración, pero se mantiene sin cambios significativos una vez que ocurre la separación de la planta.

Cuadro 15. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para SST, azúcares totales y reductores.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
SST (° Brix)					
Control	10.50 b (0.50)	11.50 b (0.50)	12.00 ab (0.81)	13.50 a (0.95)	-
T ₈₁	10.66 b (0.66)	12.00 ab (0.00)	10.00 b (0.00)	11.33 a (0.66)	12.00 a (1.15)
T ₈₂	16.00 a (1.15)	14.00 ab (1.15)	12.66 ab (0.66)	14.66 a (1.13)	13.50 a (0.50)
T ₄₁	12.50 b (0.00)	14.66 a (0.66)	11.33 b (0.67)	12.66 a (0.65)	12.66 a (0.66)
T ₄₂	13.00 ab (0.66)	11.33 b (0.65)	14.66 a (0.67)	13.33 a (0.66)	14.00 a (0.81)
HSD	3.136	3.136	3.104	4.227	3.439
CV (%)	9.846	9.651	9.945	9.330	11.199
Azúcares totales (Gluc mg g⁻¹)					
Control	131.87 a (11.28)	180.25 a (6.18)	184.32 a (2.80)	160.76 ab (7.03)	-
T ₈₁	171.84 a (10.33)	167.81 a (11.21)	193.63 a (13.27)	176.85 a (15.15)	248.46 a (19.37)
T ₈₂	187.12 a (8.29)	174.54 a (22.83)	130.92 c (12.27)	186.76 a (15.39)	180.06 b (17.01)
T ₄₁	175.67 a (17.41)	132.07 a (6.67)	137.65 bc (2.44)	125.17 b (4.08)	99.39 c (6.42)
T ₄₂	136.83 a (4.73)	169.81 a (13.61)	172.59 ab (11.02)	116.11 b (5.71)	206.96 ab (1.67)
HSD	52.269	58.700	41.214	47.134	57.269
CV (%)	12.591	13.752	9.699	11.922	13.240
Azúcares reductores (Gluc mg g⁻¹)					
Control	43.98 c (1.34)	58.55 cd (2.25)	81.24 ab (5.14)	112.35 a (7.45)	-
T ₈₁	74.57 b (5.84)	80.11 b (5.80)	82.35 ab (10.23)	91.88 ab (11.79)	147.94 a (19.33)
T ₈₂	163.55 a (12.55)	123.85 a (1.17)	88.84 a (7.69)	119.32 a (6.22)	106.14 ab (7.92)
T ₄₁	55.77 b (0.41)	71.26 bc (3.61)	57.93 bc (4.53)	65.89 b (5.29)	55.22 c (2.32)
T ₄₂	63.32 b (6.56)	45.73 d (3.32)	32.45 c (1.78)	70.54 b (1.16)	88.11 bc (6.58)
HSD	29.360	15.827	29.485	33.841	44.009
CV (%)	14.722	8.218	16.517	14.098	19.017

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

Los sólidos solubles totales están constituidos en un 80 a 95 % de azúcares (Almenar et al., 2013). El aumento de los sólidos solubles totales es una característica definida de maduración del fruto, la cual se da como una respuesta al desdoblamiento de polisacáridos de mayor tamaño como el almidón, que se degrada a glucosa, fructosa y sacarosa (Arrieta, Baquero, & Barrera, 2006). Al respecto, se encontró correlación significativa entre SST y el contenido de azúcares reductores, pero no así con el contenido de azúcares totales (**Cuadro 10**), por lo que la participación de azúcares en SST está más bien dada por los de tipo reductor. Por otro lado, también se encontró correlación entre SST con los contenidos de vitamina C, fenoles solubles y flavonoides, lo que sugirió que éstos contribuyen al valor de los sólidos solubles.

El manejo refrigerado, tanto a 4 como a 8 °C, causó alteración en SST con relación al tratamiento Control, lo cual fue más evidente en los primeros días de almacenamiento, principalmente al cumplirse dos días del retiro de la condición de baja temperatura. Es decir que, en el periodo de uno a dos días del retiro, se incrementó el contenido de SST. Lo anterior sugiere que hubo una alteración en las características de los frutos, derivado de la exposición a baja temperatura. El evento primario de un daño por frío corresponde a una alteración de la estructura física de las membranas (Lyons, 1973; Valenzuela et al., 2017), de forma que todos los procesos asociados con ellas se modifican. Al respecto, un daño por frío puede causar desacoplamiento de la fosforilación oxidativa por causa del daño de la membrana interna de la mitocondria (Lyons, 1973). Con ello, la generación de energía en la forma de ATP queda limitada a la ruta de glicólisis, lo que causa mayor consumo de sustratos para producir una cantidad equivalente de energía en relación al caso de funcionamiento normal de la fosforilación oxidativa, lo cual debería causar una reducción de SST.

En otro sentido, el incremento de SST puede explicarse por una mayor deshidratación, derivada de una mayor transpiración, principalmente en la transición del primero al segundo días posteriores al retiro del almacenamiento

refrigerado. Al respecto, el análisis de Pearson confirmó una correlación significativa entre SST y la pérdida acumulada de peso (**Cuadro 10**).

El contenido total de azúcares fue de 118.25 (± 13.23) mg g⁻¹ en los frutos del tratamiento Control al inicio del almacenamiento, en tanto que el contenido de azúcares reductores fue de 42.59 (± 1.25) mg g⁻¹, lo que significa un alto contenido de sacarosa y otros azúcares no reductores. En la mayoría de los frutos, los principales azúcares que se pueden encontrar son: sacarosa, glucosa y fructosa, en ese orden de concentración (Novoa, Bojacá, Galvis, & Fischer, 2006). La sacarosa es producto de la fotosíntesis y en esta forma el carbono se transporta de las hojas a otras partes de la planta y a los frutos (Taiz & Zeiger, 2007).

Los azúcares pueden ser metabolizados en procesos biosintéticos y/o pueden estar almacenados en forma de almidón (Neves, Da Silva, Lima, Bastos, & Roberto, 2015). Sin embargo, existen frutos en los que no se acumula almidón, sino sacarosa y, en estos frutos, si son cosechados antes de su punto óptimo, no se incrementarán los azúcares (Santamaría et al., 2009). Neves, Tosin, et al. (2015) determinaron características de calidad en el almacenamiento de *Byrsonima crassifolia* a 15 \pm 1 °C (95 \pm 3 % HR), hasta 12 d, haciendo determinaciones a los 0, 3, 9 y 12 d, y obtuvieron que no hay cambios significativos en el contenido de sólidos solubles totales, que tuvieron de 21.8, 21.2, 21.5, 21.8 °Brix, y tampoco en el contenido de azúcares solubles, que fueron de 4.2, 4.3, 4.2, 4.4 g glucosa equivalente 100 g⁻¹ de peso fresco, ni en acidez titulable, con valores de 2.72, 2.72, 2.74, 2.75 % ac. cítrico, respectivamente.

Durante el almacenamiento, el contenido de azúcares, tanto totales como reductores, se incrementó en los frutos del tratamiento Control (**Cuadro 15**), debido a la deshidratación por transpiración. Sin embargo, ello no ocurrió en el material de los tratamientos refrigerados, donde se observó reducción en el contenido de estos componentes, con valores promedio de 164.5 mg g⁻¹ y 82.5 mg g⁻¹, respectivamente. Esta pérdida de azúcares se observó más claramente en los tratamientos T₈₂ y T₄₂, lo cual puede ser indicativo de daño por frío (Couee,

Sulmon, Gouesbet, & El Amrani, 2006), debido a que estos compuestos aportan energía y se requiere un estatus energético incrementado en los frutos como respuesta al estrés por frío. Estos hechos sugieren que, debido al aumento de azúcares totales en el tratamiento Control y reducción en los tratamientos refrigerados, la correlación entre SST y azúcares totales no se confirmó. En adición, aunque el análisis de Pearson indicó correlación no significativa entre azúcares reductores y la actividad respiratoria, por la misma razón dada antes, la reducción de tales compuestos en los tratamientos refrigerados sugiere un incremento de la actividad respiratoria, como consecuencia de una alteración derivada del daño por frío. Al respecto, el fruto de calabacín (*Cucurbita pepo*), una variante tolerante al frío, acumula niveles elevados de azúcares solubles bajo condiciones de estrés por frío y éstos están asociados con un incremento de la defensa antioxidante. Por lo tanto, un estado energético mayor mejora la calidad y tolerancia al frío en ese material (Palma, Carvajal, Lluch, Jamilena, & Garrido, 2014).

En contraste, se ha estudiado un índice de daño por frío (CI), nivel de energía y enzimas relacionadas al metabolismo energético en frutos de papaya (*Carica papaya* L.), un fruto tropical susceptible a daños por frío (CI), donde se encontraron síntomas típicos, incluyendo picado de la piel, escaldado y zonas acuosas en frutos almacenados a 11 y 6 °C, mientras que en frutos almacenados a 1 °C no se observó este tipo de síntomas durante el almacenamiento. Además, se encontró que las enzimas relacionadas al metabolismo energético y el contenido de AXP (ATP + ADP + AMP) fueron mayores en los frutos almacenados a 1 °C, lo que sugiere que un estatus energético más alto en los frutos contribuye a una resistencia de daños por frío (Yong-Gui et al., 2017).

4.4.8 Vitamina C y carotenoides

Los frutos presentaron contenido de vitamina C (Vc) con valor inicial de 101.23 (± 10.83) mg 100 g⁻¹ p.f. Este valor fue significativamente mayor al de 25.0 mg 100 g⁻¹ p.f. para frutos amarillos en madurez de consumo, reportado por Rivera-Correa (2020; Capítulo 3, presente documento), y puede deberse a una

variabilidad de atributos de calidad entre regiones de producción. Asimismo, esto explica el bajo pH encontrado en los frutos. A lo largo del almacenamiento Vc experimentó cambios sin ninguna tendencia clara. En el caso del material de los tratamientos T₈₁, T₄₁, T₈₂ y T₄₂, la exposición a baja temperatura causó incremento de Vc en unos casos y decremento en otros (**Cuadro 16**). Por ello, tampoco se pudo identificar un efecto claro del manejo refrigerado. El contenido de Vc puede aumentar y luego disminuir en frutos durante la maduración, en forma asociada a fenómenos de biosíntesis y el estado oxidativo de la fruta (Fenech, Amaya, Valpuesta, & Botella, 2019). Sin embargo, los frutos del presente estudio tenían un estado fisiológico posterior al de maduración, por lo que ese tipo de comportamiento ya no se observó. Las fluctuaciones en el contenido de vitamina C sin una tendencia clara, pueden explicarse porque es un compuesto antioxidante y de defensa al estrés, lo que causaría una disminución y posiblemente una síntesis que provocaría estas fluctuaciones.

Asimismo, para pitahaya (*Hylocereus undatus* (haw.) Britton & Rose), un fruto no climatérico, en un estudio de daño por frío, a través de un estudio realizado a varias temperaturas, que el daño por frío no ocurre progresivamente y se pueden almacenar los frutos con calidad adecuada (Balois-Morales, Peña-Valdivia, & Arroyo-Peña, 2013). Estos resultados ejemplifican que los frutos no climatéricos, son menos susceptibles de sufrir los síntomas de daño por frío

En los casos de kiwi (*Actinidia deliciosa*) y guayaba (*Psidium guajava*), dos materiales susceptibles al daño por frío, que el almacenamiento a bajas temperaturas y el posterior manejo a temperatura ambiente produce pérdida de vitamina C (Suárez, Pérez de Camacaro, & Giménez, 2009; Tavarini, Degl'Innocenti, Remorini, Massai, & Guidi, 2008).

El análisis de correlación de Pearson indicó que el contenido de vitamina C se asoció con la pérdida de peso, con la firmeza y con los atributos de color (**Cuadro 10**). Sin embargo, la identificación de una relación causa-efecto con estas variables requiere de mayor investigación. Por otro lado, aunque la vitamina C exhibe potencial antioxidante, la falta de una tendencia clara en los tratamientos

impidió relacionar su contenido con un eventual daño por frío, excepto porque se identificó asociación con la actividad de la enzima catalasa, que sí puede ser relacionada con el desarrollo de tal desorden fisiológico.

Cuadro 16. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para vitamina C y carotenoides, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Vitamina C (mg 100g ⁻¹ pf.)					
Control	109.51 a (3.93)	78.86 ab (5.45)	115.05 a (1.77)	67.36 c (4.35)	-
T ₈₁	92.03 ab (1.83)	77.22 b (6.55)	100.74 a (5.19)	77.09 bc (6.47)	75.23 b (3.89)
T ₈₂	74.04 b (2.29)	88.68 ab (5.74)	65.19 b (5.77)	76.76 ab (5.95)	59.37 b (3.11)
T ₄₁	92.10 ab (8.38)	103.68 a (5.29)	109.98 a (4.71)	91.96 ab (4.56)	106.03 a (4.95)
T ₄₂	101.16 ab (7.62)	94.60 ab (5.05)	106.38 a (3.16)	104.83 a (4.57)	73.13 b (4.35)
HSD	24.630	26.130	18.898	23.817	17.835
CV (%)	10.163	11.539	7.313	11.204	9.951
Carotenoides (mg 100g ⁻¹)					
Control	139.58 a (5.86)	109.88 a (8.78)	100.23 ab (7.50)	114.12 b (9.18)	-
T ₈₁	97.53 b (0.77)	82.10 a (5.06)	87.50 b (3.81)	97.53 b (5.56)	95.21 c (7.77)
T ₈₂	97.53 b (2.78)	80.56 a (7.07)	105.77 ab (9.40)	159.26 a (6.68)	167.07 a (4.30)
T ₄₁	81.13 b (5.56)	94.44 a (7.44)	78.24 b (4.00)	90.59 b (7.59)	68.73 d (4.58)
T ₄₂	53.93 c (4.01)	90.06 a (6.05)	122.22 a (1.33)	126.85 ab (10.69)	122.22 b (5.26)
HSD	21.178	34.097	29.033	38.79	23.862
CV (%)	8.354	14.313	11.408	12.833	8.667

Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

El contenido de carotenoides fue de 152.25 (± 13.43) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ al inicio del almacenamiento y en los primeros cuatro días ocurrió una disminución de la cantidad encontrada en los frutos de nanche hasta de 100.23 (± 7.50) $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$; para luego incrementar nuevamente, incluso hasta valores mayores que los

iniciales en el día siete de manejo. Estos valores fueron significativamente mayores al contenido de $39.4 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$, reportada por Irías-Mata et al. (2018), también en frutos de nanche en estado maduro, pero provenientes de Turrialba, Costa Rica, el contraste puede corresponder a variabilidad entre regiones.

Resultados previos (Capítulo 3, presente documento) mostraron que el contenido de carotenoides de frutos en estado maduro no se modifica durante el periodo postcosecha, por lo que los resultados encontrados aquí sugieren que se requiere más investigación para clarificar el comportamiento observado. En el caso de los tratamientos de refrigeración, se observó contenido de carotenoides menor al del material del tratamiento Control después de un día del retiro del almacenamiento, pero la concentración encontrada se incrementó al alcanzar dos días posteriores a dicho retiro.

Con base en los datos del **Cuadro 16**, en promedio, durante todo el almacenamiento, los frutos del tratamiento Control contuvieron $115.953 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de carotenoides, mientras que en los frutos de T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂, hubo 91.975, 122.039, 82.628, y $103.0578 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente.

El daño por frío se caracteriza por inducir un estrés oxidativo (Valenzuela et al., 2017) y, por su potencial antioxidante; los carotenoides pueden actuar en el secuestro de los radicales libres presentes (Drago-Serrano, López-López, & Saíñz-Espuñes, 2006). En tal sentido, la disminución de la concentración de carotenoides en los frutos de los tratamientos T₈₁ y T₄₁ puede ser indicativo de daño por frío. Al respecto, Alía-Tejacal et al. (2002) reportaron que el contenido de carotenoides se reduce en frutos de zapote mamey cuando se exponen a bajas temperaturas menores al umbral del daño por frío. Por otro lado, el posterior incremento pudo ser causado por un fenómeno de deshidratación, debido a que, por el daño en membranas, el agua libre se incrementa y se favorece su transporte hacia el exterior por transpiración. Al respecto, el análisis de Pearson indicó que existió correlación positiva entre el contenido de carotenoides y la pérdida de peso (**Cuadro 10**). Por otro lado, la biosíntesis de carotenoides ocurre a partir de sustratos producidos en la ruta de la glicólisis, particularmente a partir

de acetil-CoA (Taiz & Zeiger, 2007) y el hecho de que la correlación entre el contenido de carotenoides y la actividad respiratoria fue no significativa sugiere que no hubo síntesis *de novo* de estos compuestos.

4.4.9 Fenoles solubles totales y flavonoides

El nanche es un fruto no climatérico, rico en compuestos fenólicos, vitamina C y otros compuestos antioxidantes. Para un almacenamiento postcosecha realizado por 12 d a 15 °C, se ha reportado un incremento de compuestos fenólicos de 2219.3 a 2991.3 mg GAE 100 g⁻¹ p.s. pulpa y disminución de ácido ascórbico y actividad antioxidante (Neves, Tosin, et al., 2015).

En el presente trabajo, el contenido de fenoles solubles totales (FST) varió entre 15.0 y 17.0 µg g⁻¹ en los frutos del tratamiento Control y las variaciones en el periodo postcosecha no fueron significativas. Por otro lado, el contenido de flavonoides fluctuó entre 2.73 y 3.37 µg g⁻¹, con una tendencia ascendente durante el almacenamiento, que no afectó de manera significativa el contenido fenólico total.

La biosíntesis de compuestos fenólicos en general y flavonoides en particular, está directamente relacionada con la ruta de la glicólisis (Taiz & Zeiger, 2007). En la medida que se afecta la estructura de las membranas mitocondriales por causa de un daño por frío puede ocurrir un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y la producción de energía puede quedar limitada a la glicólisis, de forma que para poder generar la cantidad necesaria de ATP ésta ruta bioquímica debe desarrollarse con mayor intensidad, con lo cual se sintetizan los sustratos que darán como resultado la biosíntesis de compuestos fenólicos. Esta situación explica la correlación positiva entre la respiración y el contenido de fenoles solubles y flavonoides, pero el comportamiento de estos últimos, puede ser indicativo de presencia moderada de daño por frío en las condiciones de manejo refrigerado.

Cuadro 17. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para fenoles solubles totales y flavonoides, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
FST ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
Control	17.00 a (1.46)	16.15 ab (1.13)	15.02 ab (0.61)	16.96 abc (1.25)	-
T ₈₁	15.53 a (1.60)	12.82 b (0.71)	12.10 b (1.05)	12.13 c (1.11)	17.23 b (0.69)
T ₈₂	18.76 a (0.81)	18.32 a (1.55)	17.67 ab (1.79)	20.91 a (1.24)	22.64 a (0.76)
T ₄₁	18.16 a (1.36)	16.56 ab (1.40)	17.95 a (1.79)	17.06 ab (0.55)	15.06 b (0.93)
T ₄₂	19.83 a (0.67)	12.57 b (0.16)	18.79 a (0.99)	13.48 bc (0.49)	18.08 b (1.03)
HSD	5.956	5.205	5.793	4.851	3.918
CV (%)	13.074	13.181	13.866	11.659	9.063
Flavonoides ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$)					
Control	272.67 b (15.29)	287.21 c (10.07)	281.40 b (15.74)	336.63 b (11.98)	-
T ₈₁	417.05 a (27.13)	423.26 ab (9.30)	413.18 a (16.89)	397.67 b (29.26)	393.80 ab (10.25)
T ₈₂	393.80 a (21.58)	440.31 a (13.97)	432.56 a (29.26)	529.46 a (10.25)	455.81 a (22.76)
T ₄₁	365.70 ab (16.89)	389.92 ab (25.41)	351.16 ab (20.14)	393.80 b (3.87)	424.81 ab (36.97)
T ₄₂	386.05 a (13.42)	374.42 b (0.04)	413.18 a (10.25)	351.16 b (24.20)	362.79 b (4.74)
HSD	87.831	63.914	88.102	81.75	91.468
CV (%)	9.483	6.586	9.196	7.987	9.563

FST: fenoles solubles totales. Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a temperatura ambiente. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

Si bien se ha mostrado que el contenido de compuestos fenólicos se correlacionó positivamente con la actividad respiratoria y se ha explicado que el fundamento de esto está dado en el desarrollo de la glicólisis, en realidad, la tendencia ascendente del metabolismo respiratorio no fue suficiente para alterar la concentración de compuestos fenólicos. En el caso de flavonoides, para otros procesos, como ocurre en los de tipo fotosintético, para proteger de la exposición al frío se produce un aumento en los niveles de plastoquinona A y de flavonoides (Crifò, Puglisi, Petrone, Recupero, & Lo Piero, 2011). Al respecto, los materiales

de los tratamientos refrigerados del presente trabajo mostraron valores más altos de flavonoides con relación al tratamiento Control (**Cuadro 17**).

4.4.10 Proteína y actividad enzimática

El contenido de proteína de los frutos del tratamiento Control, varió entre 5.0 y 5.3 mg g⁻¹ y no ocurrieron variaciones significativas (**Cuadro 18**). En los frutos almacenados en refrigeración, el rango de variación fue de 4.86 a 5.48 mg g⁻¹, sin diferencia significativa en la mayor parte del almacenamiento respecto del tratamiento Control, excepto en el día cinco, aunque los contrastes no tuvieron importancia práctica. En otros frutos, como el zapote mamey, se ha observado una reducción en el contenido de proteína derivado de una afectación por daños por frío (Alia, Colinas, Martínez, & Soto, 2005a). Sin embargo, tal situación no fue evidente en el caso de los frutos de nanche del presente trabajo. De hecho, el contenido de proteína no se asoció con ninguna de las otras variables evaluadas (**Cuadro 10**), lo que sugiere que este tipo de compuestos no altera de manera significativa el metabolismo de los frutos en postcosecha.

Con objeto de evaluar sintomatología correspondiente a daños por frío se evaluó la actividad de tres enzimas normalmente asociadas con el estrés oxidativo en frutos, polifenol oxidasa (PFO), peroxidasa (POD) y catalasa (CAT) (Alia, Colinas, Martínez, & Soto, 2005a). Al respecto y con excepción de un caso que pudo corresponder a un error experimental, la actividad de la enzima PFO fue nula, lo cual fue congruente con el hecho de que el contenido fenólico total no experimentó variaciones significativas.

El fruto de nanche no se caracteriza por experimentar oscurecimiento derivado de la acción de PFO sobre los compuestos fenólicos. De hecho, la actividad de esta enzima no se correlacionó con ninguna de las variables (**Cuadro 10**), lo que confirmó que prácticamente está ausente. En otros frutos, como en el caso de berenjena (*Solanum melongena*), se ha reportado que durante el almacenamiento en frío ocurre un aumento en la disrupción de la membrana y organelos, lo que hace a los fenoles accesibles a la PFO (Fan et al., 2016).

Cuadro 18. Comparaciones de medias entre tratamientos para cada día, para la proteína y enzimas, en frutos de nanche almacenados a bajas temperaturas.

Variable	Días de tratamiento				
	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 20
Proteína (mg g ⁻¹ p.f.)					
Control	5.178 a (0.072)	5.066 ab (0.048)	5.256 a (0.047)	5.013 ab (0.071)	-
T ₈₁	5.488 a (0.186)	5.290 ab (0.092)	5.316 a (0.094)	5.292 a (0.068)	5.153 a (0.156)
T ₈₂	5.280 a (0.055)	5.115 ab (0.241)	4.981 a (0.048)	5.023 ab (0.046)	5.170 a (0.122)
T ₄₁	5.211 a (0.100)	5.448 a (0.101)	5.211 a (0.139)	5.190 ab (0.104)	5.179 a (0.207)
T ₄₂	5.320 a (0.198)	4.887 b (0.026)	5.062 a (0.146)	4.868 b (0.101)	4.971 a (0.061)
HSD	0.593	0.545	0.452	0.371	0.586
CV (%)	4.364	4.109	3.398	2.837	4.908
POD (UAE mg ⁻¹ de Prot.)					
Control	3.380 a (1.358)	0.890 a (0.890)	2.515 a (1.589)	2.610 a (1.646)	-
T ₈₁	4.167 a (2.086)	1.104 a (1.104)	1.073 a (1.172)	2.169 a (2.169)	2.388 a (2.387)
T ₈₂	1.100 a (1.100)	0.000 a (0.000)	0.000 a (0.000)	1.151 a (1.151)	2.520 a (1.637)
T ₄₁	3.428 a (2.289)	4.265 a (2.835)	3.395 a (0.093)	4.589 a (1.251)	1.204 a (1.204)
T ₄₂	0.000 a (0.000)	0.000 a (0.000)	0.000 a (0.000)	0.000 a (0.000)	1.779 a (1.027)
HSD	7.236	6.258	4.736	6.859	6.922
CV (%)	73.461	140.462	108.890	81.543	52.030
CAT (UAE mg ⁻¹ de Prot.)					
Control	3.755 c (0.633)	28.967 b (2.136)	22.970 b (0.683)	22.915 c (2.103)	-
T ₈₁	12.325 b (0.312)	59.394 a (1.035)	34.288 ab (5.878)	41.362 b (3.643)	21.690 bc (0.969)
T ₈₂	0.000 d (0.000)	16.607 c (3.210)	5.035 c (1.061)	75.582 a (6.238)	56.966 a (6.333)
T ₄₁	3.597 cd (0.692)	0.000 d (0.000)	37.200 a (3.172)	15.597 c (0.584)	6.265 c (1.126)
T ₄₂	25.512 a (1.151)	27.364 bc (4.298)	0.000 c (0.000)	0.000 d (0.000)	32.225 b (4.790)
HSD	3.638	11.869	12.987	14.892	19.083
CV (%)	16.615	17.321	25.117	18.921	25.948

POD: Peroxidasa. CAT: Catalasa. Prot: Proteína. Control: 20 °C. T₈₁: 8 °C + 1 día a 20 °C. T₈₂: 8 °C + 2 d a 20 °C. T₄₁: 4 °C + 1 día a 20 °C. T₄₂: 4 °C + 2 d a 20 °C. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$). Valores entre paréntesis indican error estándar. Valores entre paréntesis indican error estándar. HSD: Diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05). CV: Coeficiente de variación.

En el caso de la enzima peroxidasa, se reportó actividad en los frutos del tratamiento Control, que varió en el rango de 0.89 a 3.38 U mg⁻¹ y estos valores fueron del mismo orden de magnitud que los determinados en frutos de los tratamientos T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂, donde varió en el rango de cero a 4.17 U mg⁻¹. En el análisis estadístico, POD presentó un alto coeficiente de variación, pero se observó que se redujeron los valores del día uno al día dos posteriores al retiro de la condición refrigerada en las temperaturas 4 y 8 °C (**Cuadro 18**), lo que puede ser indicativo de una alteración fisiológica por un daño por frío. La enzima POD actúa a través de la remoción de especies reactivas en una situación de estrés oxidativo. Sin embargo, su actividad no se correlacionó con ninguna de las variables evaluadas, lo que sugiere que, si bien hay evidencias que apuntan a un posible daño por frío derivado de la exposición a las bajas temperaturas, principalmente a 4 °C, esta enzima no tuvo participación evidente.

En el caso de la enzima CAT, el comportamiento de los frutos del tratamiento Control se caracterizó por actividad baja en la primera etapa y luego por un incremento súbito a partir del tercer día de evaluación (**Cuadro 18**). Bajo estrés oxidativo, la enzima CAT puede experimentar disminución de su actividad (Qian et al., 2013). Dado que los frutos tenían estado fisiológico de madurez de consumo, posterior a la maduración y estaban ya en fase de senescencia, los resultados indican que, en la primera etapa del almacenamiento, el estrés oxidativo fue mayor que en las posteriores. En el caso de los frutos de los tratamientos T₈₁, T₈₂, T₄₁ y T₄₂, ocurrió una disminución de la actividad de CAT en la transición del día uno al día dos posteriores al retiro de la condición térmica refrigerada (**Cuadro 18**), lo que puede también ser indicativo de la presencia de un estrés oxidativo e indicativo de un daño por frío. La actividad de la enzima CAT estuvo correlacionada con el contenido de vitamina C y el de carotenoides, que constituyen compuestos con actividad antioxidante reportada, lo cual sugiere que, junto con este tipo de sustancias, su actividad se modificó en asociación con procesos de estrés oxidativo. En otros frutos, como ocurre en el caso de chícharos (*Pisum sativum*), como consecuencia de un almacenamiento en frío, se han reportado bajos niveles de CAT y POD, pero altos niveles de las enzimas

superóxido dismutasa (SOD), lipoxigenasa (LOX), fenilalanina amonía liasa (PAL) y polifenoloxidasa (PPO), y los niveles de fenoles se han correlacionado positivamente con la incidencia de manchas (Prohens et al., 2007). En el caso de zapote mamey, la síntesis de proteína y las actividades de polifenol oxidasa, catalasa y superóxido dismutasa se han visto reducidas por el almacenamiento a 5 °C durante 20 d, lo que se atribuye a daños por frío (Alia, Colinas, Martínez, & Soto, 2005a). En el presente trabajo no se encontró actividad de PFO, pero sí una reducción en la actividad de POD y CAT en los frutos retirados del almacenamiento refrigerado.

4.5 Conclusiones

El almacenamiento refrigerado a 4 °C causó daño por frío en los frutos de nanche manejados en postcosecha en estado de madurez de consumo, lo cual se evidenció en una modificación de la velocidad de cambio de los atributos de color, un mayor ablandamiento, mayor concentración de sólidos solubles totales, flavonoides, menor contenido de azúcares y carotenoides, así como una alteración de enzimas antioxidantes como peroxidasa y catalasa. Asimismo, se presentó un aumento en la producción de etileno y en la fuga de electrolitos, aunque esta última no fue confirmada al nivel de significancia evaluado. El manejo a 8 °C presentó también sintomatología de daños por frío, pero sólo algunas variables fueron afectadas, por lo que se consideró de magnitud leve.

4.6 Literatura citada

- Alia-Tejacal, I., Colinas-León, M. T., Martínez-Damián, M. T., & Soto-Hernández, M. R. (2002). Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, VIII(02), 263–271. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2001.11.083>
- Alia, T. I., Colinas, L. T., Martínez, D. M., & Soto, H. R. (2005a). Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). I. Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(1), 25–32.
- Alia, T. I., Colinas, L. T., Martínez, D. M., & Soto, H. R. (2005b). Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). I. cambios en volátiles, firmeza y azúcares totales. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(1), 17–24.

- Almenar, M. I. V., Rodie, J. U., Cortada, G. E., Sarle, J. G., Ayala, I. ., & Ginjuan, D. I. R. (2013). *Postcosecha de pera, manzana y melocotón*. Mundi-Prensa Libros.
- Aparecido, M. V, Castro, J. C., Matias, V. J., Correia da Costa, J. M., & Clemente, E. (2016). Physicochemical quality of Murici covered with starch-based coverings and stored at different temperatures. *African Journal of Agricultural Research*, 11(15), 1344–1352. <https://doi.org/10.5897/ajar2015.9723>
- Arias, C. J., & Toledo, J. (2007). Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales (papaya, piña, plátano y cítricos). *Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación (FAO). Roma, Italia.*, 33p.
- Arrieta, A. J., Baquero, U. M., & Barrera, J. L. (2006). Caracterización fisicoquímica del proceso de maduración del plátano Papocho (*Musa ABB Simmonds*). *Agronomía Colombiana*, 24(1), 48–53.
- Balois-Morales, R., Peña-Valdivia, C. B., & Arroyo-Peña, V. B. (2013). Symptoms and sensitivity to chilling injury of pitahaya (*Hylocereus undatus* (haw.) britton & rose) fruits during postharvest. *Agrociencia*, 47(8), 795-813.
- Balois-Morales, R., Jiménez-Zurita, J. O., Alia-Tejacal, I., López-Guzmán, G. G., Palomino-Hermosillo, Y. A., & Sánchez-Herrera, L. M. (2019). Antioxidant enzymes and antioxidant activity in two soursop selections (*Annona muricata* L.) from nayarit, Mexico stored at 15 °c. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(1), 1–12. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019083>
- Bayuelo-Jiménez, J. S. (2008). *Malpigiaceae Byrsonima crassifolia* nance. In J. Janick & R. E. Paull (Eds.), *The Encyclopedia of Fruit & Nuts* (pp. 459–461). Cambridge, MA, USA: CABI.
- Biswas, P., East, A. R., Hewett, E. W., & Heyes, J. A. (2016). Chilling injury in Tomato fruit. *Horticultural Reviews*, 44, 229–278. <https://doi.org/10.1002/9781119281269.ch5>
- Bolívar-Fernández, N., Saucedo-Veloz, C., & Sauri-Duch, E. (2011). Respiración y Parámetros Relacionados Durante la Maduración del Chicozapote Cosechado en la Península de Yucatán. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(SPEC. ISSUE 1), 261–266. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000032>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178–182.
- Chanliaud, E., Burrows, K. M., Jeronimidis, G., & Gidley, M. J. (2002). Mechanical

- properties of primary plant cell wall analogues. *Plant J.*, 215(6), 989–996.
- Come, D. (1998). Cellular and metabolic effects of cold on fruits and vegetable. *Conference Physiological and Technological Aspects of Gaseous and Thermal Treatments of Fresh Fruits and Vegetable. Madrid.*
- Couee, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., & El Amrani, A. (2006). Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57, 449–459.
- Crifò, T., Puglisi, I., Petrone, G., Recupero, G. R., & Lo Piero, A. R. (2011). Expression analysis in response to low temperature stress in blood oranges: Implication of the flavonoid biosynthetic pathway. *Gene*, 476(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.02.005>
- De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Queiroz, F., Borges, S. V., & De Deus Souza Carneiro, J. (2012). Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry*, 134(1), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.191>
- Di Santo, C., Pagano, E., & Sozzi, G. (2009). Differential expression of –L-arabinofuranosidase and –L-arabinofuranosidase-D-Xylosidase genes during peach growth and ripening. *Plant Physiol. Biochem.*, 47, 562–569.
- Do Nascimento, N. M., & Emond, P. J. (2002). Storage Temperature. *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*, (December 2002). <https://doi.org/10.1201/9780203910092.ch8>
- Drago-Serrano, M. E., López-López, M., & Saínez-Espuñes, T. D. R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Duarte, O. (2011). Nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits, Volume 4: Mangosteen to white sapote* (pp. 44–50). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Fan, L., Shi, J., Zuo, J., Gao, L., Lv, J., & Wang, Q. (2016). Methyl jasmonate delays postharvest ripening and senescence in the non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 120, 76–83.
- Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta, V., & Botella, M. A. (2019). Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 9(January), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02006>
- Fernández-Trujillo, J. P., & Martínez, J. A. (2006). Ultrastructure of the onset of chilling injury in cucumber fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 80(2), 100–110.
- Flurkey, W. H., & Jen, J. J. (1978). Peroxidase and polyphenol oxidase activities

- in developing peaches. *Journal of Food Science*, 43(6), 1826–1828. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb07424.x>
- Ibarra, D. J. A. (2016). Variabilidad genotípica de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) y manejo poscosecha de frutos tratados con 1-MCP. *Universidad Autónoma de Nayarit*.
- Irías-Mata, A., Jiménez, V. M., Björn, C., Schweiggert, R. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2018). Carotenoids and xanthophyll esters of yellow and red nance fruits (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) from Costa Rica. *Food Research International*, 111(May), 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.063>
- Jagota, S. K., & Dani, H. M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*, 127(1), 178–182. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90162-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90162-2)
- Jiménez, A. M., Sierra, C. A., Rodríguez, P. F. J., González, M. M. L., Heredia, F., & Osorio, C. (2011). Physicochemical characterization of gulupa (*Passiflora edulis* Sims, fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, 44(7), 1912–1918.
- Kader, A. A. (2002). Postharvest biology and technology: an overview. In A. A. Kader (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops* (pp. 39–47). Davis California: University of California.
- Kratsch, H. A., & Wise, R. R. (2000). The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell and Environment*, 23(4), 337–350. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x>
- Ladaniya, M. S. (2008). Citrus Fruit Biology, Technology and Evaluation. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012374130-1.50003-6>
- Lamikanra, O. (1995). Enzymatic browning of Muscadine grapes products. In C. L. Lee & J. R. Whitaker (Eds.), *Enzymatic Browning and its Prevention* (pp. 166–177). ACS. Washington, USA.
- Lyons, J. (1973). Chilling injury in plants. *Plant Physiology*, (24), 445–466.
- Maldonado, P. M. D. los Á., Santillán, P. S., García, A. R. R., Lagarda, J. L. V., Luzardo, M. B. B., & Gutiérrez, L. A. (2020). Caracterización y evaluación de frutos de 'nanche' (*Byrsonima crassifolia* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(1), 151–160. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.1950>
- Martins, B., & Cavestré, R. (2013). Qualidade de frutos de murici (*Byrsonima Crassifolia*, *Malpighiaceae*) armazenados sob refrigeracao. *Global Science and Technology*, 6(2), 95–101.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>
- Medina-Torres, R., Salazar-García, S., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Fruit

- quality indices in eight nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) selections. *HortScience*, 39(5), 1070–1073. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.1070>
- Megías, Z., Martínez, C., Manzano, S., García, A., del Mar Reboloso-Fuentes, M., Valenzuela, J. L., & Jamilena, M. (2016). Ethylene biosynthesis and signaling elements involved in chilling injury and other postharvest quality traits in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo*). *Postharvest Biology and Technology*, 113, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.001>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., De Lourdes Vargas Y Vargas, M., & Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Moreno, G. M. N. (2000). *El nance [(Byrsonima crassifolia L.) H.B.K.] como recurso natural antimicrobiano en enfermedades gastrointestinales y respiratorias*. Universidad de Ciencias y Artes del estado de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. 74 p.
- Neves, L. C., da Silva, P. M. C., Lima, C. G. B., Bastos, V. J., & Roberto, S. R. (2015). Study to determine the optimum harvest date of Murici (*Byrsonima coccolobifolia* Kunth.) from quality and functional attributes. *Scientia Horticulturae*, 188, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.039>
- Neves, L. C., Tosin, J. M., Benedette, R. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chemistry*, 174, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.111>
- Novoa, R. ., Bojacá, M., Galvis, J. A., & Fischer, G. (2006). Fruit maturity and calix drying influence postharvest behavior of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) stored at 12o C. *Agronomia Colombiana*, 24(1), 77–86.
- Nunes, M. C. N., & Emond, J. P. (2003). Storage temperature. In J. A. Bartz & J. K. Brencht (Eds.), *Postharvest physiology and pathology of vegetables* (Second edi, pp. 209–228). Gainesville, Florida: University of Florida.
- Nunes, M. C. N., Emond, J. P., & Brecht, J. K. (2003). Quality of strawberries as affected by temperature abuse during ground, in-flight and retail handling operations. *Acta Horticulturae*, 604(February 2014), 239–246. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.604.24>
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*.

- Palma, F., Carvajal, F., Lluch, C., Jamilena, M., & Garrido, D. (2014). Changes in carbohydrate content in zucchini fruit (*Cucurbita pepo* L.) under low temperature stress. *Plant Science*, *217*, 78–86.
- Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A. Raigón, M. D., & Nuez, F. (2007). Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, *132*, 638–646.
- Qian, C., He, Z., Zhao, Y., Mi, H., Chen, X., & Mao, L. (2013). Maturity-dependent chilling tolerance regulated by the antioxidative capacity in postharvest cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruits. *J. Sci. Food. Agric.*, *93*, 626–633.
- Quiroz-González, B., Joel, J., Corrales-García, E., Beryl Colinas-León, M. T., & Ybarra-Moncada, M. C. (2017). Identification of variables correlated with chilling injury in pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth) Identificación de variables correlacionadas con el daño por frío en pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth). *Agrociencia*, *51*, 153–172.
- Rivas-Castro, S. F., Martínez-Moreno, E., Alia-Tejacal, I., & Pérez-López, A. (2019). Physical and physiological changes in phenotypes of nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) with different harvest maturity. *Scientia Horticulturae*, *256*(July). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108620>
- Rodríguez-Amaya, D. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1999; *49*(1): 38–47.
- Rodríguez-Verástegui, L. L., Osorio-Córdoba, J., de León-Sánchez, F. D., Pelayo-Zaldívar, C., Díaz-Pontones, D. M., Bosquez-Molina, E., & Pérez-Flores, L. J. (2015). Biochemical and visual changes in cactus stems (*Opuntia ficus-indica* Mill.) stored at 4, 12 and 26C. *Journal of Food Biochemistry*, *39*(4), 449–461. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12144>
- Safařík, I. V. O., & Šantrůčková, H. (1992). Direct determination of total soil carbohydrate content. *Plant and Soil*, *143*(1), 109–114. <https://doi.org/10.1007/BF00009135>
- Saltveit, M.E. (2002). The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, *26*, 295–304.
- Saltveit, Mikal E. (2016). Respiratory metabolism. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 73–91). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00004-X>
- Santamaría, B. F., Diaz, P. R., Sauri, D. E., Espadas, G. F., Santamaria, F. J. M., & Larqué, S. A. (2009). Características de calidad de frutos de papaya Maradol en la madurez de consumo. *Agricultura Técnica de México*, *35*(3), 347–353.

- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/siap> Consultado en febrero de 2020.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3).
- Speek, A. J., Speek-Saichua, S., & Schreurs, W. H. P. (1988). Total carotenoid and β -carotene contents of Thai vegetables and the effect of processing. *Food Chemistry*, 27, 245–257. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(88\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0308-8146(88)90010-6)
- Suárez, J., Pérez de Camacaro, M., & Giménez, A. (2009). Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L .) procedente de MERCABAR , estado Lara , Venezuela. *Revista UDO Agrícola*, 9(1), 60–69.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2007). *Fisiología Vegetal* (Traducción). España: Universidad Jaume I. Castellón de la Plana.
- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., & Guidi, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107(1), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.015>
- Toivonen, P. M. A. (2004). Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience*, 39(5), 938–942. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.5.938>
- Valenzuela, J. L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D., & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: Postharvest technological and biotechnological solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18071467>
- Valero, D., & Serrano, M. (2010). Postharvest biology and technology for preserving fruit quality. *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*, (November 2014), 1–271. <https://doi.org/10.1201/9781439802670>
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K. C., & Seymour, G. B. (2018). Fruit Softening: Revisiting the Role of Pectin. *Trends in Plant Science*, 23(4), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>
- Weather Spark. (2020) Servicio de Información Climatológica. Recuperado de: <https://es.weatherspark.com/y/3633/Clima-promedio-en-Tepic-M%C3%A9xico-durante-todo-el-a%C3%B1o> Consultado en octubre de 2020.
- Yong-Gui, P., Meng-Qi, Y., Wei-Min, Z., & Zheng-Ke, Z. (2017). Effect of low temperatures on chilling injury in relation to energy status in papaya fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 125, 181–187.

5. CONCLUSIONES GENERALES

Los frutos de nanche mostraron un patrón respiratorio típico de un material no-climatérico. Pero si la cosecha se realiza en un estado fisiológico anterior al de madurez de consumo, los frutos pueden experimentar cambios que sugieren un proceso de maduración.

El manejo de frutos de nanche, cosechados en un estado cambiante entre madurez fisiológica y madurez de consumo, en condiciones de refrigeración, puede alargar la vida de anaquel hasta por 15 d, con atributos físicos y composicionales adecuados que incluyen alta concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante, pero deben emprenderse acciones para controlar el desarrollo fúngico y se sugiere determinar un índice de cosecha adecuado, basado en el contenido de sólidos solubles totales.

El almacenamiento refrigerado a 4 °C, causó daño por frío moderado en los frutos de nanche manejados en postcosecha en estado de madurez de consumo, lo cual se evidenció en una modificación de la velocidad de cambio de los atributos de color, un mayor ablandamiento, mayor concentración de sólidos solubles totales, flavonoides, menor contenido de azúcares y carotenoides, así como una alteración de enzimas antioxidantes como peroxidasa y catalasa. Asimismo, se presentó un aumento en la producción de etileno y en la fuga de electrolitos, aunque esta última no fue confirmada al nivel de significancia evaluado. El manejo a 8 °C presentó sintomatología leve de daños por frío que no representa una pérdida significativa de la calidad.