UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

POSGRADO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

AGUACATE CRIOLLO MEXICANO: CARACTERIZACIÓN FÍSICA, FISIOLÓGICA, FITOQUÍMICA Y VARIABILIDAD GENÉTICA CON MARCADORES ISSR

TESIS PROFESIONAL

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

PRESENTA:

SERGIO MANUEL MÉNDEZ ZÚÑIGA

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Joel Enrique Corrales García

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
1854
COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
APROBADA

DCA
Doctorado en Ciencias Agroalimentarias

Chapingo, Texcoco, México., 18 de mayo de 2020

La presente tesis titulada **AGUACATE CRIOLLO MEXICANO: CARACTERIZACIÓN FÍSICA, FISIOLÓGICA, FITOQUÍMICA Y VARIABILIDAD GENÉTICA CON MARCADORES ISSR**, fue realizada por **SERGIO MANUEL MÉNDEZ ZÚÑIGA**, 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. JOEL ENRIQUE CORRALES GARCÍA

CO-DIRECTORA: _____

DRA. MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS

ASESORA: _____

DRA. ERNESTINA VALADEZ MOCTEZUMA

LECTOR EXTERNO: _____

DR. SAMUEL SALAZAR GARCÍA

ÍNDICE

ÍNDICE iii
LISTA DE CUADROS ix
LISTA DE FIGURAS xi
DEDICATORIAS 15
AGRADECIMIENTOS 16
DATOS BIBLIOGRÁFICOS xix
RESUMEN GENERAL xx
ABSTRACT xxi
1. INTRODUCCIÓN 22
2. REVISIÓN DE LITERATURA 26
2.1. Aguacate (*Persea americana* Mill.) 26
2.1.1. Origen y distribución 26
2.1.2. Taxonomía y Morfología 26
2.1.3. Importancia económica en México y en el mundo 28
2.1.4. Aguacate criollo mexicano 29
2.1.5. Composición nutricional 30
2.2. Parámetros físicos de calidad en frutos de aguacate en postcosecha 32
2.2.1. Tamaño, peso y forma 32
2.2.2. Color 33
2.2.3. Firmeza 34
2.2.4. Sabor y aroma 35

2.3. Cambios bioquímicos y fisiológicos en frutos de aguacate durante postcosecha 35
2.3.1. Proceso de maduración 35
2.3.2. Respiración 36
2.3.3. Actividad de etileno 37
2.4. Compuestos nutracéuticos 37
2.4.1. Definición 37
2.4.2. Clasificación 38
2.4.3. Estrés oxidativo 39
2.4.4. Radicales libres 40
2.4.5. Actividad antioxidante 41
2.4.6. Compuestos fenólicos 42
2.4.7. Flavonoides 43
2.4.8. Antocianinas 44
2.4.9. Taninos 45
2.4.10. Carotenoides 45
2.4.11. Ácidos grasos 47
2.5. Caracterización molecular 48
2.5.1. Variabilidad genética 48
2.5.2. Marcadores moleculares 49
2.5.3. Uso de marcadores ISSR en *Persea americana* Mill. 52
2.5.3. Prueba de Mantel para análisis de correlación de matrices. 52
2.6. Referencias 53
3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y FISIOLÓGICA DE FRUTOS DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*) 62
3.1. Resumen 62

3.2. Abstract 63
3.3. Introducción 64
3.4. Materiales y métodos 65
3.4.1. Material vegetal 65
3.4.2. Caracterización física 66
3.4.3. Caracterización fisiológica 67
3.4.5. Análisis estadístico 67
3.5. Resultados y discusión 68
3.5.1. Tamaño y peso del fruto 68
3.5.2. Parámetros de color en pulpa y piel 70
3.5.3. Pérdida de peso 72
3.5.4. Patrón de respiración 74
3.5.5. Patrón de emisión de etileno 75
3.6. Conclusiones 77
3.7. Referencias 77
4. COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*) 80
4.1. Resumen 80
4.2 Abstract 81
4.3. Introducción 82
4.4. Materiales y métodos 83
4.4.1. Material vegetal 83
4.4.2. Materiales químicos 84
4.4.3. Preparación de la muestra 84
4.4.4. Cuantificación de compuestos fenólicos totales 85

4.4.5. Cuantificación de flavonoides 85
4.5.6. Cuantificación de antocianinas totales 85
4.4.7. Cuantificación de taninos condensados 86
4.4.8. Actividad antioxidante por el método ABTS 86
4.4.10. Análisis estadístico 87
4.5. Resultados y Discusión 87
4.5.1 Contenido de compuestos fenólicos totales 87
4.5.2. Contenido de flavonoides 89
4.5.3. Contenido de antocianinas en la piel 91
4.5.4. Contenido de taninos condensados 92
4.5.5. Actividad antioxidante por los métodos ABTS en pulpa y piel 94
4.6. Conclusiones 98
4.7. Referencias 98
5. FATTY ACID PROFILE, TOTAL CAROTENOIDS, AND FREE RADICAL-SCAVENGING FROM THE LIPOPHILIC FRACTIONS OF 12 CRIOLLO MEXICAN AVOCADO ACCESSIONS [7] 102
5.1. Abstract 102
5.2. Resumen 103
5.3. Introduction 104
5.4. Materials and Methods 105
5.4.1. Plant Samples 105
5.4.2. Quantification of Total Lipids 106
5.4.3. Fatty Acid Profile 106
5.4.4. Quantification of total carotenoids 107
5.4.6. Statistical analysis 108
5.5. Results and Discussion 108

5.5.1. Total lipids 108
5.5.2. Total carotenoid content 109
5.5.3. Free Radical-Scavenging Activity 109
5.5.4. Fatty acid profile 110
5.6. Conclusions 113
5.7. References 114
6. VARIABILIDAD GENÉTICA DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*) 118
6.1. Resumen 118
6.2. Abstract 119
6.3. Introducción 120
6.4. Materiales y métodos 123
6.4.1. Material vegetal 123
6.4.2. Extracción de ADN 124
6.4.3. Condiciones de PCR 124
6.4.4. Electroforesis 125
6.4.5. Análisis estadístico 125
6.5. Resultados y discusión 126
6.5.1. Calidad del ADN y fragmentos obtenidos con iniciadores ISSR. ... 126
6.5.2. Variabilidad genética en aguacate criollo mexicano utilizando marcadores moleculares ISSR y variabilidad química utilizando compuestos lipofílicos. 128
6.5.3. Correlación de matrices 131
6.6. Conclusiones 133
7. Referencias 134
7. CONCLUSIONES GENERALES 138

8. APÉNDICE..... 139

8.1 Frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) colectados en regiones productoras de Puebla, México. 139

8.2. Geles de acrilamida utilizando 10 iniciadores ISSR para determinar variabilidad genética en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano colectados regiones productoras de Puebla, México. 140

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del aguacate 27
Cuadro 2. Composición proximal de pulpa de aguacate 31
Cuadro 3. Vitaminas en la pulpa de aguacate 31
Cuadro 4. Contenido de minerales en la pulpa de aguacate 32
Cuadro 5. Porcentaje de ácidos grasos en la pulpa de aguacate 32
Cuadro 6. Clasificación de frutos de aguacate por calibre según Norma Mexicana NMX-FF-008 33
Cuadro 7. Enfermedades y daños en las moléculas biológicas asociados al estrés oxidativo. 39
Cuadro 8. Especies reactivas de oxígeno (EROs) 40
Cuadro 9. Especies reactivas de nitrógeno (ERNs) 41
Cuadro 10. Características climáticas de las zonas de recolecta de frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en el estado de Puebla, México. 66
Cuadro 11. Características físicas de frutos de 12 accesiones aguacate criollo mexicano. 68
Cuadro 12. Parámetros de color en pulpa y piel (L*, *Hue* y *Chroma*) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano en madurez de consumo. 71
Cuadro 13. Pérdida de peso acumulada durante cinco días de almacenamiento bajo condiciones ambientales (21 °C y 60 % HR) de frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano. 72
Cuadro 14. Características climáticas de las zonas de recolecta de frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en el estado de Puebla, México. 84

Cuadro 15. Actividad antioxidante por el método ABTS en los frutos de aguacate criollo mexicano recolectados en diferentes áreas productoras del estado de Puebla, México (Media ± Desviación estándar). 95
Cuadro 16. Análisis de correlación de Pearson entre compuestos antioxidantes y actividad antioxidante en la pulpa de frutos de aguacate criollo mexicano. ... 96
Cuadro 17. Análisis de correlación entre compuestos antioxidantes y actividad antioxidante en la piel de frutos de aguacate criollo mexicano. 96
Table 18. Total carotenoid content, the antioxidant activity of the lipophilic fraction and total lipids in fruit pulp from criollo mexican avocados. 109
Table 19. Content (%) of fatty acids in fruit pulp from 12 accessions of criollo mexican avocado collected in different producing areas of the state of Puebla, Mexico. 111
Cuadro 20. Características climáticas de las zonas de recolecta de hojas de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. drymifolia) en el Estado de Puebla, México. 124
Cuadro 21. Iniciadores ISSR utilizados..... 125
Cuadro 22. Cantidad y calidad de ADN de aguacate criollo mexicano 127
Cuadro 23. Fragmentos de ADN de aguacate criollo mexicano obtenidos con iniciadores ISSR 127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. a) Árbol, b) hojas, c) flores, d) fruto y e) semilla de aguacate. 28
Figura 2. Estructura básica de los compuestos fenólicos. 42
Figura 3. Estructura básica de los flavonoides..... 43
Figura 4. Estructura las principales antocianidinas. 44
Figura 5. Estructura molecular de los principales carotenoides presentes en los vegetales. 46
Figura 6. Ácidos grasos poliinsaturados. 47
Figura 7. Porcentaje de pulpa, semilla y piel en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano. 69
Figura 8. Patrón de respiración (mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano almacenados por 5 d a una temperatura y humedad relativa de 25 °C y 37 %, respectivamente. 74
Figura 9. Patrón de emisión de etileno (µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano almacenados por 5 d a una temperatura y humedad relativa de 25 °C y 37 %, respectivamente..... 76
Figura 10. Compuestos fenólicos en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano 88
Figura 11. Contenido de flavonoides en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano. 90
Figura 12. Contenido de antocianinas en la piel de frutos de aguacate criollo mexicano. 92
Figura 13. Contenido de taninos condensados en piel de frutos de aguacate criollo mexicano. 94
Figura 14. Análisis de componentes principales de compuestos antioxidantes en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano..... 97

Figure 15. Saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in fruit pulp from 12 accessions of criollo mexican avocado. 113
Figura 16. Frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). 121
Figura 17. Dendrograma obtenido a partir de los perfiles generados con 10 iniciadores tipo ISSR en aguacate criollo mexicano y en las variedades Hass y 'Fuerte'. Se utilizó el coeficiente Jaccard para el criterio de distancias de similitud y se utilizó el método UPGMA para el agrupamiento con un boostraping de 1000 repeticiones..... 128
Figura 18. Dendrograma obtenido a partir de los descriptores químicos obtenidos de los compuestos lipofílicos en frutos de aguacate criollo mexicano. Se utilizó el coeficiente de distancias y se utilizó el método UPGMA para el agrupamiento con un boostraping de 1000 repeticiones. 130
Figura 19. Correlación entre las matrices entre marcadores moleculares ISSR y compuestos liposolubles en aguacate criollo mexicano..... 132
Figura 20 Frutos de accesiones de aguacate criollo mexicano colectados en regiones productoras de Puebla, México. 139
Figura 21. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 816 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte'). 140
Figura 22. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 817 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte'). 140
Figura 23. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 818 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte'). 141

Figura 24. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 825 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 141
Figura 25. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 834 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 142
Figura 26. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 840 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 142
Figura 27. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 857 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 143
Figura 28. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 860 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 143
Figura 29. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 880 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 144
Figura 30. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 891 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y ‘Fuerte’). 144

ABREVIATURAS

ABTS: Acido 2,2"-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico)

$ABTS^{\bullet+}$: Radical Catiónico ABTS

Abs: Absorbancia

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

$AlCl_3$: Tricloruro de Aluminio

ATP: Adenosin Trifosfato

DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil

ERNs: Especies Reactivas de Nitrógeno

EROs: Especies Reactivas de Oxigeno

HO•: Radical Hidroxilo

HO_2•: Radical Hidroperóxido

H_2O_2: Peróxido de Hidrogeno

$K_2S_2O_8$: Persulfato de Potasio

LDL: Lipoproteína de Baja Densidad (Low-density lipoprotein)

mg: miligramos

mL: mililitros

mM: milimolar

µM: micro Moles

µg: microgramos

Na_2CO_3: Carbonato de Sodio

NO•: Óxido Nítrico

NO_2•: Dióxido de Nitrógeno

$O_2^{\bullet-}$: Radical Superóxido

$^1O_2$: Oxigeno Singlete

O_3: Ozono

$ONOO^{\bullet-}$: Peróxido de Nitrógeno

R•: Radical Libre

$RO^{\bullet}$: Radical Alcoxilo

$ROO^{\bullet}$: Radical Péroxilo

SOD: Superóxido Dismutasa

SO_2: Dióxido de Azufre

TEAC: Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox

TROLOX: Análogo hidrosoluble del alfa-tocoferol, (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico)

UMA: Unidad de masa atómica

DEDICATORIAS

A mi madre Martha Araceli Zúñiga Vásquez, por estar conmigo en todo momento, por sus oraciones, sacrificios y apoyo incondicional para que yo pueda seguir cumpliendo mis metas, pero sobre todo por la fuerza que representa para mí, para seguir siempre adelante y para ser siempre mejor.

A mi padre Marcelo Méndez Carrillo por ser el mejor padre, por ser mi mejor ejemplo de sencillez y honradez. Por inculcarme el trabajo como el camino más satisfactorio para lograr mis propósitos personales y profesionales.

A mis hermanos Nancy, Dora y Emmanuel, por ser mis mejores amigos, porque sé que siempre han estado conmigo y estarán cuando los necesite.

A mis sobrinos Romina y Said porque con su llegada me inyectaron alegría, motivación y me inspiraran a ser mejor cada día.

A mis tíos y tías, en especial a mi tía Rita, gracias por el apoyo y motivación que me ha brindado en cada una de las etapas de mi vida y preparación profesional.

A mis abuelos Graciela y Luis, porque siempre con su afecto y cariño me han motivado a hacer las cosas de la mejor manera. Gracias también a mi abuela Fortina, porque con su recuerdo siempre está conmigo me guiándome y cuidando de mí.

A mi tío-hermano Chema Zúñiga por compartir conmigo sus experiencias profesionales y pasión por la ciencia.

A mis amigos Diego, Marcos, Eddi, Mingo, Juan José, Lalo, Rocío, Adry, Tania, Mary y Diana, muchas gracias por los momentos vividos, por compartir conmigo tantas aventuras, les reitero mi amistad y apoyo incondicional siempre.

A mi entrañable amiga Teresa, por ser mi compañera y cómplice en tantas vivencias y aventuras que se quedan en mi vida para siempre.

AGRADECIMIENTOS

A mi pueblo mexicano, que a través de la Universidad Autónoma Chapingo me dio la oportunidad de formarme como profesionista.

Al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, que a través del Doctorado en Ciencias Agroalimentarias de la Universidad Autónoma Chapingo me dio la oportunidad de dar un paso más a mis objetivos profesionales.

Al Dr. Joel E. Corrales García, por su acertada participación en la dirección de la presente tesis, pero especialmente por su confianza y amistad.

A la Dra. Ma. Del Rosario García Mateos, le agradezco su participación en la co-dirección, sugerencias y observaciones realizadas para la mejora de la presente tesis, además le reitero mi admiración por su calidad humana, por sus enseñanzas y motivación.

A la Dra. Ernestina Valadez Moctezuma por su participación como asesora, por su paciencia y dedicación durante las etapas de experimentación, análisis de resultados y escritura de la tesis.

Al Dr. Samuel Salazar García, por su colaboración como lector externo, gracias por su disposición para colaborar y por las acertadas aportaciones.

A los Doctores Arturo Hernández Montes y Teodoro Espinosa Solares, por su contribución en los procesos administrativos que se realizaron durante mi estancia doctoral y el proceso de titulación.

Al Dr. José Basilio Heredia, por el apoyo y facilidades brindadas durante mi estancia de investigación en el CIAD, Unidad Culiacán, Sin.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por brindar los recursos económicos para solventar mi manutención y hospedaje durante mis estudios de doctorado.

A mis compañeros Deysi, Flor, Vere, Daniel, Bety, Irene, Lupita y Rosa Laura, por los momentos compartidos, especialmente a Diana por el apoyo moral y solidario que me brindo en todas las etapas de convivencia dentro y fuera del ámbito académico.

A mis asesoradas Dora y Areli, por los momentos de aprendizaje y convivencia.

A la señora Esperanza, Evita, Lolita, Arely y Melchor, les agradezco mucho el apoyo que me brindaron en trámites, uso de equipo de laboratorio y asignación de recursos para el adecuado desarrollo de tesis, les reitero mi amistad y gratitud.

A todas las personas que no mencioné en este documento, pero que de alguna manera colaboraron o durante la fase experimental y de escritura de la presente tesis y durante mi transcurso en el Doctorado.

"La principal prueba de la verdadera grandeza del hombre radica en la percepción de su propia pequeñez"- Arthur Conan Doyle

"Los locos abren caminos que más tarde recorren los sabios"- Carlo Dossi

"lo que sabemos es una gota de agua, lo que ignoramos es el océano"- Isaac Newton

"Quien no comprende una mirada tampoco comprenderá una larga explicación" -Proverbio Árabe

"Si buscas resultados distintos, no hagas siempre lo mismo" -Albert Einstein

Gracias a la vida, por permitirme contemplar las maravillas que nos ofrece el universo y a la ciencia, porque gracias a ella comprendí que no hay tesoro más valioso que el conocimiento.

DATOS BIBLIOGRÁFICOS

Nombre: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Fecha de nacimiento: 18 de mayo de 1989
Lugar de nacimiento: Durango, Dgo.

Formación Académica

Realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial en la Universidad Autónoma Chapingo en el periodo 2009-2012, posteriormente realizó estudios de posgrado en el programa de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria en la Universidad Autónoma Chapingo en el periodo de 2013-2015 y estudios de doctorado en el programa de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias en la Universidad Autónoma Chapingo en el periodo de 2016-2019.

Participación en congresos y publicaciones científicas

Expositor en la 61° Reunión Anual de la Sociedad Interamericana de Horticultura Tropical con el tema “Extractos de aguacate criollo (*Persea americana* var. *drymifolia*) para inhibir el desarrollo *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Botritis cinerea*” realizada en Manaos, Amazonas, Brasil el 27 de noviembre de 2015.

Expositor en el V Congreso internacional y XIX Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas con la ponencia titulada “Propiedades nutracéuticas de frutos ancestrales de México”, en Chapingo, México el 26 de abril de 2017.

Coautor del artículo científico “Anthocyanin and Oil Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits” publicado en la revista Plant Food For Human Nutrition el 28 de febrero de 2019.

Autor del artículo científico “Fatty Acid Profile, Total Carotenoids, and Free Radical-Scavenging from the Lipophilic Fractions of 12 Criollo Mexican Avocado Accessions” publicado en la revisa Plant Food For Human Nutrition el 3 de septiembre de 2019.

Expositor en el VI Congreso Internacional de Ingeniería Agroindustrial con el tema “Caracterización física y fisiológica de frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*), realizado en Potosí, Bolivia el 22 de septiembre de 2019.

RESUMEN GENERAL

AGUACATE CRIOLLO MEXICANO: CARACTERIZACIÓN FÍSICA, FISIOLÓGICA, FITOQUÍMICA Y VARIABILIDAD GENÉTICA CON MARCADORES ISSR[1]

El objetivo este trabajo fue caracterizar frutos en madurez de consumo de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* Miller, var. *drymifolia*) nativas de tres regiones productoras del Estado de Puebla, México, utilizando parámetros físicos, fisiológicos, fitoquímicos y variabilidad genética con marcadores ISSR y determinar la correlación de ésta con la producción de lípidos. Los parámetros físicos evaluados fueron tamaño, peso, proporción porcentual de piel, pulpa y semilla de los frutos. El color fue determinado con un colorímetro HunterLab. Los parámetros fisiológicos evaluados fueron patrón de respiración y de emisión de etileno por cromatografía de gases y pérdida de peso; los parámetros fitoquímicos fueron ácidos grasos por cromatografía de gases, contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante determinados mediante métodos espectrofotométricos. Para determinar la variabilidad genética se utilizaron 10 iniciadores ISSR, se realizó un análisis de similitud utilizando el índice Jaccard y una prueba de Mantel para determinar la correlación entre la variabilidad genética y la producción de lípidos. Los resultados mostraron una gran variabilidad entre accesiones en los parámetros físicos, fisiológicos y fitoquímicos evaluados. Cabe destacar el alto contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas en la piel, que en acción sinérgica contribuyen a la actividad antioxidante. Además, las accesiones también presentaron una variabilidad genética muy alta; sin embargo, no presentó correlación con la producción de compuestos liposolubles. La alta variabilidad que presentaron las accesiones demuestra el gran potencial que tienen estos materiales en el mejoramiento genético y creación de nuevas variedades, por lo que es necesaria su conservación y protección. Finalmente, el alto contenido de compuestos nutracéuticos en la pulpa y piel de los frutos los hace muy recomendable para el consumo humano, por lo que el aguacate criollo mexicano tendría que ser revalorizado por autoridades, productores y consumidores desde un punto de vista ecológico, hortícola y nutracéutico.

Palabras clave: ácidos grasos, capacidad antioxidante, antocianinas, emisión de etileno nutracéuticos, caracterización molecular

[1] Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora: Ma. Del Rosario García Mateos

ABSTRACT

Mexican Criollo Avocado: physical, physiological, phytochemical characterization and genetic variability with ISSR markers[2]

The objective of this work was to characterize fruit of 12 accessions of mexican criollo avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*) using physical, physiological, phytochemical parameters and genetic variability with ISSR markers and to determine its correlation with lipid production. The physical parameters evaluated were size, weight, percentage proportion of the skin, pulp and seed of the fruits. Color was determined with a HunterLab colorimeter. The physiological parameters evaluated were respiration pattern and ethylene emission by gas chromatography and weight loss. Phytochemical parameters were fatty acids by gas chromatography, phenolic compound content and antioxidant activity determined by spectrophotometric methods. To determine the genetic variability, 10 ISSR primers were used, a similarity analysis was performed using the Jaccard index and a Mantel test to determine the correlation between genetic variability and lipid production. The results showed great variability between accessions in the physical, physiological and phytochemical parameters evaluated, it is worth noting the high content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins in the skin, which in synergistic action contribute to antioxidant activity. Furthermore, the accessions also presented a very high genetic variability; however, it showed no correlation with the production of fat-soluble compounds. The high variability that the accessions presented shows the great potential that these materials have in the genetic improvement and creation of new varieties, which is why their conservation and protection are necessary. Finally, the high content of nutraceutical compounds in the fruit makes them highly recommended for human consumption, which is why the mexican criollo avocado should be revalued by authorities, producers and consumers from an ecological, horticultural and nutraceutical point of view.

Key words: fatty acids, antioxidant capacity, anthocyanins, ethylene nutraceutical emission, molecular characterization

---

[2] Tesis of Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora: Ma. Del Rosario García Mateos

1. INTRODUCCIÓN

El árbol de aguacate (*Persea americana* Mill.), pertenece a la familia *Lauraceae* y al género *Persea.* Es originario de la región centro de México, país en donde también se realizó la mayor parte de domesticación y dispersión. Las variedades nativas se han clasificado convenientemente en tres razas ecológicas; la raza mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*), originaria de las tierras altas mexicanas, la raza guatemalteca (*Persea americana* var. *guatemalensis*), originaria del altiplano guatemalteco y la raza antillana (*Persea americana* var. *americana*), originaria de las tierras bajas del Pacífico, y de ellas se derivaron a través de selección, mejoramiento genético e hibridaciones los cultivos comerciales que actualmente se producen y comercializan en todo el mundo (Blumenfeld & Gazit, 1974).

México, además de ser parte del centro de origen y dispersión del aguacate es el principal productor y consumidor a nivel mundial (8 kg per cápita) (SIAP, 2019). El consumo es principalmente en fresco, formando parte de numerosos platillos tradicionales y como acompañante de botanas en otros países (SIAP, 2019). La gran aceptación del aguacate se atribuye principalmente a la textura y al sabor delicadamente cremoso que le confiere la alta concentración de ácidos grasos, principalmente insaturados (Landahl, Meyer y Terry, 2009).

Actualmente, además de ser una fuente de energía, vitaminas y minerales, se reconoce como “alimento nutracéutico” debido a que su consumo proporciona beneficios fisiológicos a la salud de los consumidores; la pulpa de aguacate contiene antioxidantes, como compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides y glutatión, que estabilizan a las membranas celulares neutralizando los radicales

libres que participan en el desarrollo de enfermedades degenerativas como el cáncer (Cowan y Wolstenholme, 2016).

El fruto de aguacate también es rico en luteína, carotenoide que ayuda a proteger la vista y a prevenir de enfermedades como cataratas (Förster, Pogson y Osmond, 2011). Los ácidos grasos de tipo ω-3, ω-6, y ω-9 identificados en la pulpa son otros componentes nutracéuticos presentes en el aguacate; una dieta enriquecida con este tipo de antioxidantes reduce significativamente los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) o "colesterol malo" (Carranza, Herrera, Alvizouri, Alvarado y Chávez, 1997). En adición, el consumo regular de aguacate reduce la hiperlipidemia sin causar problemas en los niveles de colesterol LDL y triglicéridos (Alvizouri, Carranza, Herrera, Chávez y Amezcua, 1992).

En el mismo contexto, el aguacate es uno de los frutos que más se ha estudiado desde un punto de vista funcional y nutracéutico; sin embargo, las investigaciones se han enfocado en los cultivares comerciales como Hass y Fuerte (*Persea americana* Mill.). En el caso de las variedades nativas, como es el caso del aguacate criollo mexicano se encuentran aún inexploradas, actualmente es un fruto subutilizado y desplazado por las variedades comerciales a tal grado que se están perdiendo genotipos que pudieran ser de importancia económica, agronómica y ecológica.

En otro contexto, a través de los años se han desarrollado tecnologías para reducir las pérdidas postcosecha ocasionadas por un mal manejo y por los factores fisiológicos de senescencia propios del fruto. Los tratamientos más exitosos son combinaciones de temperaturas y atmósferas modificadas; sin embargo, estas tecnologías se han diseñado para cultivares como Hass y ‘Fuerte’, y no son totalmente aplicables en otras variedades como las “criollas” debido principalmente a las marcadas diferencias físicas y fisiológicas del fruto (Chen, Liu, Li & Yuan, 2017; Meyer, Chope & Terry, 2017; Prabath Sekozawa, Sugaya & Gemma, 2013).

Por otra parte, las variedades nativas como el aguacate criollo mexicano se caracterizan por su gran diversidad de formas, colores y tamaños de los frutos

que se ha desarrollado gracias a su gran adaptación a diferentes condiciones edafoclimáticas y ambientales. En adición, es una especie heterocigoto, es decir sus frutos generalmente están formados por dos fuentes genéticas diferentes, esto contribuye a que las características físicas y morfológicas en los nuevos frutos sean impredecibles, esto en gran medida, ha sido intensificado por la acción del hombre, debido a que la comercialización y traslado de los frutos de una región a otra ha contribuido a la dispersión y variabilidad de la especie (Lahav & Lavi, 2009). Debido a la gran variabilidad genética que presenta el aguacate criollo mexicano es probable que existan genotipos sobresalientes en atributos físicos, fisiológicos y nutracéuticos, para su posterior conservación, utilización en el desarrollo y mejoramiento de nuevas variedades en beneficio de productores y consumidores.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) utilizando parámetros físicos, fisiológicos, fitoquímicos y variabilidad genética con marcadores ISSR y determinar la correlación de ésta con la producción de lípidos.

Para lograr lo anterior, los resultados de la investigación se presentan en seis etapas; la primera corresponde a la introducción, en la cual también se plantean la hipótesis, justificación y objetivos; la segunda corresponde a la revisión de literatura, en la cual se desarrolla el estado del arte de los temas más relevantes que se abordan en la investigación. Las etapas restantes (experimentales) se presentan en forma de artículos científicos a partir del Capítulo 3.

En el capítulo 3 se presenta la caracterización física y fisiológica del fruto, se evaluaron los parámetros físicos más importantes como: color, peso, tamaño, índice de forma, porcentaje de piel, pulpa y semilla.

En el capítulo 4 se muestran el contenido de los principales compuestos nutracéuticos hidrosolubles como: fenoles totales, flavonoides, antocianinas y taninos condensados, en la pulpa y la piel por métodos espectrofotométricos, además se determinó la actividad antioxidante en extractos metanólicos mediante el método ABTS.

En el capítulo 5 se trabajó con la fracción liposoluble de la pulpa del fruto, a la que se le determinó el perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases, el contenido total de lípidos, el contenido total de carotenoides y la actividad antioxidante por el método ABTS.

Finalmente, en el capítulo 6 se plasmaron los resultados de la variabilidad genética mediante marcadores moleculares ISSR, así como los de la prueba de Mantel que permitieron determinar que no existe una correlación entre la variabilidad genética y la producción de lípidos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aguacate (*Persea americana* Mill.)

2.1.1. Origen y distribución

México es considerado el centro de origen y dispersión del aguacate (*Persea americana* Mill.) (Bergh, 1992). La denominación se deriva de la palabra náhuatl “ahuacátl” y significa testículo, probablemente por la forma del fruto. Se han encontrado evidencias que sugieren que el consumo de frutos de aguacate data de hace 10,000 años A. C. (Smith, 1966). Actualmente el aguacate se distribuye de manera natural en la región que comprende el eje Neovolcánico, que incluye los estados de Jalisco, Colima, Michoacán, Estado de México, Tlaxcala, Veracruz y Puebla, región que es también considerada como la principal área de domesticación (Barrientos y López, 1998; Bergh, 1992; Smith, 1966).

Las culturas antiguas de Mesoamérica ya tenían conocimiento sobre el fruto de aguacate y sus diferentes variantes. El Códice Florentino ilustra tres razas de aguacate; “aoacatl”, “tlacacolaocatl” y “quilaoacatl”, que podrían ser de cuerdo a sus características la raza mexicana (*Persea americana* var. drymifolia), la raza antillana (*Persea americana* var. *americana*) y la raza guatemaltecaa (*Persea americana* var. *guatemalensis*) (Barrientos y López, 1998; Blumenfeld & Gazit, 1974).

2.1.2. Taxonomía y Morfología

El aguacate es una dicotiledónea perteneciente al orden de las *Laurales* y a la familia *Lauraceae*, fue clasificada por Gaertner como *Persea gratíssima* y como *Persea americana* por Miller (Cuadro 1). El género *Persea* contiene los aguacates

comerciales *Persea americana*, y se clasifican en tres subespecies (razas botánicas): *americana*, *guatemalensis* y *drymifolia* (Bergh & Ellstrand, 1986).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del aguacate

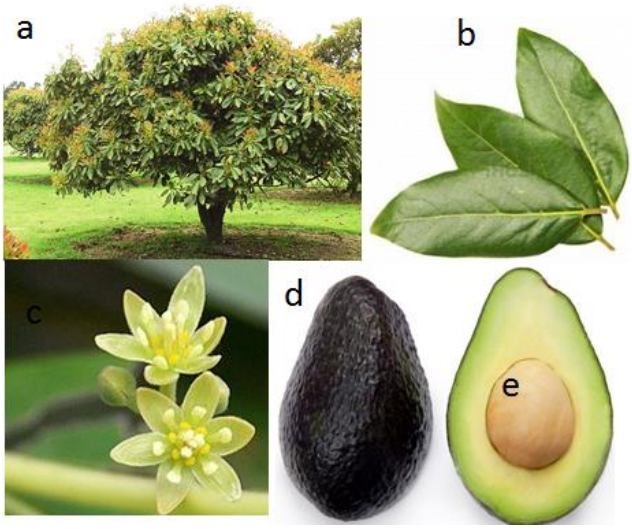
Taxonomía	
Reino	*Plantae*
División	*Magnoliophyta*
Clase	*Magnoliopsida*
Orden	*Laurales*
Familia	*Lauraceae*
Género	*Persea*
Especie	*Persea americana*

Fuente: Bergh & Elistrand. (1986)

El aguacate es una especie perene considerada como polimorfa, es decir, muchos de sus caracteres físicos (dimensión de la hoja, tamaño del fruto, coloración del epicarpio, entre otros) son muy variables; es una especie perenne de tallo leñoso y de raíces superficiales. El árbol mide 9 metros aproximadamente, pero puede ser más alto (Figura 1a) (Calabrese, 1992). Las hojas de son de color verde oscuro, alternas y de formas variadas (lanceoladas, elípticas, ovaladas y ovoides) y algunos genotipos desprenden un olor característico de la especie que evoca al anís. (Figura 1b) (Zafar & Sidhu, 2011). Sus flores se dan en racimos sin pétalos y presentan colores de tonalidades verdes. (Figura 1c).

El fruto de aguacate se considera una baya, que deriva de un gineceo unicarpelar de una sola semilla (Figura 1d). El pericarpio está dividido en tres capas: el exocarpio (la piel), el mesocarpio (la pulpa o porción comestible) y el endocarpio (una capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla) (Cummings & Schroeder, 1942). La piel puede ser de tonalidades verdes, púrpuras y oscuras (López-Guzmán, Medina-Torres, Guillén-Andrade, Ramírez-Guerrero, Juárez-López y Ruelas-Hernández, 2018). Contiene sólo una semilla de color café, que

varía en formas y proporción en relación con el tamaño del fruto (Calabrese, 1992; Campos, Hernández, Espíndola, Reyes y Barrientos, 2011a) (Figura 1e).



Fuente: Elaboración propia

Figura 1. a) Árbol, b) hojas, c) flores, d) fruto y e) semilla de aguacate 'Hass'.

2.1.3. Importancia económica en México y en el mundo

México es el principal productor, exportador y consumidor de aguacate en el mundo (FAOSTAT, 2017), su producción representa más del 34 % de la cosecha mundial (SIAP, 2019).

El aguacate que se produce en México es uno de los productos más requeridos en la exportación nacional (45.95 % del valor de las exportaciones internacionales), y presenta una Tasa Media de Crecimiento Anual (TMCA) de 15.2 %. Estados Unidos es el principal importador de aguacate mexicano (76.8 %), seguido de Japón y Canadá con 7 y 6.7 %; respectivamente (SAGARPA, 2018).

En la producción nacional Michoacán representa el Estado de mayor producción de aguacate con 92.8 % del volumen., seguido de otros estados con menor participación como Jalisco, Estado de México, Nayarit, Morelos y Guerrero (SIAP, 2019).

En México se producen dos de los cultivares más apreciados por los consumidores Hass y Fuerte; sin embargo, en algunos mercados regionales se comercializan frutos de aguacate “criollo” sin que existan datos oficiales del valor de la producción. Por otra parte, además del uso culinario y alimenticio que se le da al aguacate, actualmente, las empresas cosméticas y farmacéuticas están comercializando productos como cremas, champús para el cabello, aceites, jabones y lociones (Santillán, Meza, Navarro, Gómez y Rodríguez, 2008).

2.1.4. Aguacate criollo mexicano

El aguacate criollo mexicano se desarrolla adecuadamente en climas subtropicales con temperaturas medias de 18 a 22 °C y templado-cálido de 15 a 18 °C, con precipitación de 800 a 1200 mm de verano a otoño, en latitudes de entre los 35 a 36° norte o sur y de una altitud que comprenda entre los 1000 a 1800 m (Rodríguez-Suppo, 1982).

Los frutos de aguacate criollo mexicano tienen poca demanda y se comercializan casi exclusivamente de manera regional debido principalmente a las características físico-mecánicas del fruto y su alta perecibilidad; motivo por el cual la producción y consumo de este tipo de frutos disminuyó drásticamente con la introducción de nuevos cultivares como el Hass y Fuerte, razón por la cual actualmente es una variedad subutilizada y su principal uso es como portainjerto para las variedades comerciales por las características agronómicas que les transfiere como resistencia a plagas y enfermedades y poder de adaptación a diversas condiciones edafoclimáticas (Fiedler *et al*., 1998; Rincón-Hernández *et al*, 2011; Torres-Gurrola *et al*., 2009).

Los frutos se integran en la dieta de los consumidores y representan una fuente de ingreso para productores regionales, además, forma parte de la cultura de las comunidades donde se produce. El árbol se aprovecha de manera integral; la madera se utiliza en la fabricación de muebles y artesanías; las hojas, como condimento en platillos tradicionales y en remedios contra diversos padecimientos al igual que la semilla, de la que se han reportado propiedades farmacológicas y se han utilizado desde tiempos prehispánicos formando parte

del conocimiento empírico de los pueblos nativos (Ben-ya'acov *et al*., 1992; Gama & Gómez, 1992; SIAP, 2020). En el mismo contexto, tiene una gran importancia ecológica en su hábitat natural, interacciona con otras especies vegetales compitiendo por espacio, luz y nutrientes. Además, sus frutos son alimento para un gran número de insectos, roedores y aves (Berg, 1992; Gama & López, 1992; Sánchez-Pérez, 1999).

A diferencia de las variedades comerciales, el aguacate criollo mexicano se reproduce por semillas, por lo que sigue siendo una especie en constante evolución y de una variabilidad genética muy alta debido a que al ser una especie con alto grado de alogamia. La progenie presenta características físicas y morfológicas impredecibles con un alto grado de polimorfismo que se expresa en frutos de diferentes tamaños, formas y colores, lo que representa una fuente de material genético de gran valor agronómico para el mejoramiento y creación de nuevas variedades de aguacate (Lahav & Lavi, 2007; Sánchez-Pérez, 1999).

En los últimos años ha aumentado el interés de los investigadores por demostrar las propiedades farmacéuticas y nutricionales que se conocen de manera empírica y que se han aprovechado desde tiempos ancestrales, como actividad anticancerígena, microbicida y antioxidante (Corrales-García *et al*., 2019; Flores-Álvarez., 2018; García-Moreno *et al*., 2017; Guzmán-Rodríguez *et al*., 2016; Lara-Márquez *et al*, 2020; Méndez-Zúñiga *et al*., 2019).

2.1.5. Composición nutricional

La aceptación del aguacate se basa principalmente por su sabor, la alta calidad sensorial y el aporte nutricional (Ortiz-Moreno, Dorantes, Galíndez y Guzmán 2003). La composición de la pulpa de aguacate lo posiciona como un fruto altamente nutritivo porque contiene mayores cantidades de fibra y proteína que muchos otros frutos (Cuadro 2). El contenido nutricional de la pulpa de aguacate depende del cultivar, del grado de madurez del fruto y de las características medioambientales propias del lugar donde se desarrolla (Knight, 2002).

Cuadro 2. Composición proximal de pulpa de aguacate.

	'Hass'	'Fuerte'
Humedad	76.94	78.24
Lípidos	13.10	15.39
Proteína	2.08	1.01
Fibra	5.01	0.53
Cenizas	0.19	0.66
Carbohidratos	2.69	4.17

Fuente: Bora *et al*. (2001) y Mardigan. *et al*. (2019)

El fruto de aguacate generalmente es consumido en fresco lo que garantiza, la ingesta total de sus nutrientes y vitaminas, además se evita la desnaturalización de las proteínas, alteración que sufren los alimentos cuando son procesados, principalmente con tratamientos térmicos (Ortega, 2003). El contenido de vitaminas se muestra en el Cuadro 3, cabe mencionar que las vitaminas E y la provitamina A (β-caroteno) funcionan como antioxidantes y protegen contra el daño de los radicales libres de oxígeno (Cowan & Wolstenholme, 2016).

Cuadro 3. Vitaminas en la pulpa de aguacate

Vitamina	Concentración (en 100 g de p.f.) *
β-caroteno (provitamina A) (IU)	370-750
A-tocoferol (vitamina E) (IU)	1.6-2.4
Ácido ascórbico (mg)	1.6-30
Biotina (mg)	3.2-10.0
Colina (mg)	17-22
Folacina (mg)	30-62
Niacina (mg)	1.4-3.5
Ácido pantoténico (mg)	0.25-1.14
Piridoxina (mg)	0.22-0.62
Rivoflavina (Vitamina B2) (mg)	95-230
Tiamina (Vitamina B1) (mg)	60-240

*La concentración depende del cultivar y la etapa de maduración.
Fuente: Cowan & Wolstenholme. (2016)

Como se muestra en el Cuadro 4, el aguacate es una rica fuente de potasio y el contenido de sodio es bajo; además, el fósforo, el calcio y el magnesio son minerales abundantes en el fruto. La mayoría de los otros minerales, incluido el hierro, se encuentran en cantidades de menos de 1 mg por gramo de peso de fruta comestible.

Cuadro 4. Contenido de minerales en la pulpa de aguacate 'Hass'.

Contenido (mg 100 g^{-1} de p. f.)	Rango de concentración*
Potasio	340-723
Magnesio	40-60
Fosforo	20-80
Calcio	10-15
Sodio	5-15
Hierro	0.5-2
Boro	1-3

*La concentración depende del cultivar y la etapa de maduración.
Fuente: Cowan y Wolstenholme. (2016)

El contenido de ácidos grasos varía dependiendo del cultivar y factores ambientales. El más abundante es el ácido oleico, seguido de los ácidos palmítico y linoleico (Ferreyra *et al*., 2016) (Cuadro 5). Los ácidos grasos polinsaturados poseen un efecto protector en el ser humano al disminuir la viscosidad de la sangre, lo que reduce el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, además también se les han atribuido efectos antiarrítmicos, antitrombóticos, antiescleróticos, antidepresivos y pueden mejorar el perfil lipídico en pacientes con hipercolesterolemia moderada (Caramia, Gori y Cerretani, 2012; Rosales, Rodríguez y Ramírez, 2005).

Cuadro 5. Porcentaje de ácidos grasos en la pulpa de aguacate 'Hass'.

Ácido graso	Porcentaje (%)
Ácido palmítico	28.21
Ácido palmitoleico	5.69
Ácido esteárico	0.69
Ácido oleico	50.95
Ácido linoleico	13.87
Ácido linolénico	0.58

Fuente: Ferreyra *et al*. (2016)

2.2. Parámetros físicos de calidad en frutos de aguacate en postcosecha

2.2.1. Tamaño, peso y forma

El peso y tamaño en los frutos de aguacate son utilizados como parámetros físicos para categorizar y determinar su valor comercial. Generalmente, en las empacadoras de exportación los frutos de aguacate pasan por una banda de selección donde se verifica que no presenten daños y/o deformaciones. Los

frutos que no cumplen con los requisitos que específica la norma son separados, los que si cumplen son seleccionados de manera manual o mecánica para ser clasificados por calibres según el peso y tamaño (Zafar & Sidhu, 2011). En México, las exportadoras se rigen bajo las especificaciones de la Norma Mexicana NMX-FF-008 para clasificar el tamaño de los aguacates según su calibre (Cuadro 6).

Cuadro 6. Clasificación de frutos de aguacate por calibre según Norma Mexicana NMX-FF-008

Calibre	Peso (g)
Súper Extra	> a 266
Extra	211 a 265
Primera	171 a 210
Mediano	136 a 170
Comercial	85 a 135
Canica	Menor a 85

Fuente: Norma Mexicana NMX-FF-008

El tamaño y la forma del fruto son importantes al momento de diseñar los empaques y sistemas de refrigeración, debido a que existen una variedad muy alta de formas y tamaños (Whiley, Schaffer & Wolstenholme, 2002; Bill, Sivakumar, Thompson y Korsten, 2014).

2.2.2. Color

El color forma parte de la apariencia general y es uno de los atributos que causan la primera impresión en el consumidor e influye en su aceptación y eventualmente en su compra, por su relación con la percepción de madurez y frescura del fruto (Dobrzański & Rybczyński, 2002; Dobrzański & Rybczyński, 2008).

Los pigmentos presentes en el exocarpio de los frutos le confieren una apariencia atractiva para los consumidores, se acumulan comúnmente en la cutícula durante el proceso de maduración (Bouzayen, Latché, Nath y Pech, 2010). Dependiendo de la variedad, los pigmentos más comunes son los carotenoides y las antocianinas; los carotenoides comprenden a los carotenos, como el licopeno, el β-caroteno y las xantofilas que incluyen a la luteína (Bouzayen *et al*., 2010). Por

otra parte, las antocianinas pertenecen a la subclase flavonoide de los compuestos fenólicos (He y Giusti, 2010). Además de su papel en la pigmentación, son importantes fuentes de vitamina A y compuestos antioxidantes que brindan un beneficio en la salud de los consumidores (Bartley & Scolnik, 1995).

Los frutos de aguacates contienen cantidades considerables de pigmentos tales como clorofilas, carotenoides y antocianinas (Corrales-García *et al*., 2019; Cox *et al*., 2004; Gross, Gabai, Lifshitz y Sklarz, 1974). De acuerdo con Ashton *et al*. (2006) el cambio más importante durante la maduración del aguacate 'Hass' se debe a la concentración de pigmentos en la piel o exocarpio, en particular el contenido de antocianinas se incrementa en esa etapa. Este cambio está altamente correlacionado con el cambio de color en el exocarpio y con la firmeza del fruto. El cambio de color en el exocarpio de los frutos de tonalidades verdes a púrpuras, y después a negro, resulta de una degradación del contenido de clorofilas, seguido por un aumento en la síntesis de antocianinas, particularmente en el aguacate la concentración de antocianinas aumenta proporcionalmente a la maduración (Cox *et al*., 2004).

2.2.3. Firmeza

La firmeza es otro atributo determinante para que los consumidores decidan adquirir un fruto. Una vez que se inicia el proceso de senescencia la firmeza se va perdiendo. Es un proceso irreversible que afecta directamente la vida de anaquel, reduciendo los tiempos de transporte y distribución aumentando considerablemente las pérdidas postcosecha (Bapat *et al*., 2010; Omboki, Wu, Xie y Mamadou, 2015).

El ablandamiento de los frutos es causado por una serie de modificaciones que ocurren en los polisacáridos y proteínas que constituyen la pared celular primaria e involucra tres pasos subsecuentes: 1) relajación de la pared celular provocado por la acción de enzimas del tipo expancinas; 2) hidrólisis de hemicelulosas; y 3) despolimerización de poliurónidos provocado por la enzima poligalacturonasa u otras enzimas hidrolíticas (Brummell *et al*., 1999; Payasi, Mishra, Chaves y Singh,

2009); esto ocasiona una pérdida de firmeza y cambios en la textura (Brummell & Harpster, 2001).

2.2.4. Sabor y aroma

El sabor y el aroma son una mezcla compleja de un gran número de metabolitos. Los compuestos volátiles del aroma contribuyen decisivamente a la calidad sensorial de los frutos (Bouzayen *et al*., 2009). Los principales compuestos que confieren olor son monoterpenos y sesquiterpenos, mientras que el sabor se debe principalmente a compuestos derivados de lípidos, polisacáridos y proteínas que son hidrolizados a compuestos más simples como ácidos y azúcares simples (Bouzayen *et al*., 2009).

2.3. Cambios bioquímicos y fisiológicos en frutos de aguacate durante postcosecha

2.3.1. Proceso de maduración

La mayor parte de los atributos de calidad (firmeza, color, sabor y apariencia general) en los frutos son el resultado del proceso de maduración, es por esa razón que es importante comprender los mecanismos bioquímicos y fisiológicos involucrados en esta etapa de desarrollo de los frutos (Nishiyama *et al*., 2007; Bouzayen *et al*., 2009).

El fruto comienza a desarrollarse después de la fecundación a través de una intensa división celular (O'Neill, 1997). Después de esta etapa, el crecimiento ocurre debido al aumento de tamaño de la célula con la formación de vacuolas. Esta etapa se caracteriza por el crecimiento y alargamiento del fruto, seguida por una fase de maduración, donde el número de células se mantiene constante pero el aumento de tamaño continua (Dos Santos *et al*., 2015). Esta expansión aumenta en la maduración, etapa donde el fruto es capaz de madurar en la planta (Dos Santos *et al*., 2015).

En las etapas finales ocurre el proceso de maduración en dos pasos: la madurez fisiológica, es cuando el fruto alcanza su máximo tamaño, el mayor vigor de las semillas y el fruto puede sobrevivir con sus propios sustratos acumulados; y segundo, la madurez de consumo, en donde los cambios del fruto contemplan

cuatro etapas; 1) se presenta un cambio de color atribuido a la degradación de clorofilas y concentración de pigmentos como carotenoides y flavonoides; 2) cambio en la textura debido a la pérdida de la turgencia celular y otras modificaciones en la pared celular propias de maduración 3) transformación de polisacáridos en azúcares simples y ácidos orgánicos, además se sintetizan compuestos volátiles que contribuyen al sabor y el aroma del fruto; y 4) aumento en la susceptibilidad al ataque de patógenos oportunistas que están asociados a la pérdida de integridad de la pared celular (Giovannoni, 2004; Seymour *et al*., 2013; Dos Santos *et al*., 2015).

En el caso específico del aguacate, éste se cosecha cuando ha alcanzado su madurez fisiológica, generalmente en esta etapa el fruto aún está verde y firme. Cuando se cosecha inmaduro, no madurará adecuadamente, mientras que un aguacate demasiado maduro llegará a la senescencia rápidamente después de la cosecha. Los índices de madurez típicos como el color, el olor o la textura no son indicadores confiables para los aguacates, en cambio, el contenido de lípidos, materia seca y agua son más confiables (Gaete-Garretón, Vargas-Hernández, León-Vidal y Pettorino-Besnier, 2006).

2.3.2. Respiración

Los frutos que presentan un aumento en la tasa de respiración y emisión de etileno durante el proceso de maduración son clasificados como climatéricos, por otra parte, los que no presentan dichos cambios se consideran no climatéricos (Lelièvre, Latché, Jones, Bouzayen y Pech, 1997). Los frutos climatéricos pueden madurar adheridos a la planta o también después de la cosecha, cuando son cortados en la etapa pre climatérica, como el aguacate, el tomate (*Solanum lycopersicum*), la manzana (*Malus domestica*) y el plátano (*Musa* spp.). Sin embargo, este tipo de frutos alcanza más pronto la senescencia debido a que la respiración está acompañada por un aumento en los niveles de etileno, hormona que participa activamente en el proceso de maduración y senescencia (Omboki *et al*., 2015). El aguacate sufre un deterioro masivo durante el manejo postcosecha, principalmente ablandamiento y pérdida de peso, lo que se traduce en pérdidas económicas significativas (Bapat *et al*., 2010).

Por otro lado, los frutos no climatéricos como la fresa (*Fragaria* spp.), la uva (*Vitis vinifera* L.) y los cítricos, sólo alcanzan la maduración cuando aún están unidos a la planta, y no presentan un aumento en la respiración y en la producción de etileno después de la cosecha (Biale, 1964; Chervin *et al*., 2005).

2.3.3. Actividad de etileno

El crecimiento y desarrollo del fruto son controlados por la producción de hormonas, las cuales son susceptibles a los cambios ambientales (McClellan y Chang, 2008). Entre estas hormonas se destaca al etileno, que controla muchos procesos en los frutos, como la senescencia de los órganos, respuesta al estrés, la germinación de la semilla, la cicatrización de heridas, la interacción con otras hormonas, entre otros (Bapat *et* al., 2010; Bennett, 2007; Chervin *et al*., 2005; Hershkovitz, Friedman, Goldschmidt y Pesis, 2010; Nishiyama *et al*., 2007).

A través de los años, los investigadores han utilizado diversas tecnologías para minimizar el efecto del etileno durante la etapa de postcosecha de frutos de aguacate, entre las que se encuentran la refrigeración, enfriamiento con agua, atmosferas modificadas, envases activos, removedores de etileno y el uso de reguladores de crecimiento como 1-metil-ciclopropeno, logrando aumentar la vida de anaquel de estos (Chen *et al*., 2017; Meyer *et al*., 2017; Prabath *et al*., 2013). Sin embargo, en estas condiciones sólo se logra retardar el proceso natural de senescencia, puesto que una vez que la maduración ha sido iniciada, el proceso es irreversible (Bapat *et al*., 2010).

2.4. Compuestos nutracéuticos

2.4.1. Definición

Las enfermedades crónico degenerativas y cardiovasculares originadas por herencia congénita, malos hábitos en la alimentación, sedentarismo, y contaminación ambiental son un problema social a nivel mundial. En atención a este problema hoy en día investigadores y/o científicos se han dedicado a explorar los diversos efectos biológicos de metabolitos secundarios presentes de manera natural en plantas, algas, microorganismos y animales, con el objetivo de

combatir o prevenir ciertos padecimientos; al mismo tiempo de generar nuevas oportunidades para el desarrollo de productos alimenticios.

El Dr. DeFelice (1995), definió el término “nutracéutico como “un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades”; sin embargo, es un concepto que se ha utilizado desde hace miles de años y fue el filósofo Hipócrates, 400 a. de C. quien plasmó la frase “Que la comida sea tu medicina y la medicina tu alimento” haciendo referencia a los beneficios fisiológicos que conlleva una alimentación adecuada. (Defelice, 1995; Hu, 2017; Kalra, 2003).

2.4.2. Clasificación

Según los investigadores más experimentados en el tema, en la clasificación de los compuestos nutracéuticos deben considerarse de dos maneras: nutracéutico potencial y nutracéutico establecido (Mohammad & Imran, 2019; Rojas-Jiménez, 2015) y se definen de la siguiente manera; un nutracéutico potencial es aquel que promete un beneficio médico o de salud particular; dicho potencial nutracéutico sólo se convierte en uno establecido después de que haya suficientes datos clínicos para demostrar tal beneficio.

Los alimentos nutracéuticos también pueden clasificarse en función de sus fuentes naturales, condiciones farmacológicas o según la constitución química de los productos.

1. Sobre la base de la fuente natural, se puede clasificar como los productos obtenidos de plantas, animales, minerales o fuentes microbianas.

2. Nutracéuticos según los grupos funcionales en sus estructuras químicas:

- Terpenoides: carotenoides, saponinas, tocotrienoles, tocoferoles, terpenos
- Compuestos fenólicos: cumarinas, taninos, lignina, antocianinas, isoflavonoides, flavononas, flavonoles, entre otros.
- Proteínas/aminoácidos: aminoácidos
- Carbohidratos: oligosacáridos

- Ácidos grasos/lípidos: lecitina, ácidos grasos poliinsaturados.
- Minerales: Ca, Se, K, Cu, Zn.

Otra clasificación

- Sustancias con funciones nutricionales establecidas, como vitaminas, minerales, aminoácidos y ácidos grasos: nutrientes.
- Hierbas o productos botánicos como concentrados o extractos.
- Reactivos derivados de otras fuentes (Piruvato, sulfato de condroitina, precursores de hormonas esteroides) que cumplen funciones específicas, como la nutrición deportiva, suplementos para bajar de peso, alimentos convencionales fortificados y reemplazos de comidas: suplementos dietéticos.

2.4.3. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo (EO), es una diferencia en la concentración de radicales libres y producción de antioxidantes en un sistema donde se pierde la capacidad para desactivar o reparar el daño provocado por los agentes oxidantes (Rolo, Teodoro y Palmeira, 2012).

El estrés oxidativo es el causante de la denegación y muerte celular; debido principalmente a que los radicales libres pueden reaccionar con macromoléculas como proteínas y aminoácidos, lípidos, fosfolípidos, triglicéridos, carbohidratos, enzimas, ADN y ARN (Cuadro 7) (Trifunović, Topalovic & Vajs, 2015).

Cuadro 7. Enfermedades y daños en las moléculas biológicas asociados al estrés oxidativo.

Enfermedades	Daños asociados al estrés oxidativo
Envejecimiento	Afectación en el tejido de colágeno afectando la elasticidad de la piel.
Enfermedades del corazón	Oxidación de ácidos grasos provocado por peróxidos. Los ácidos grasos oxidados se vuelven más densos pudiendo haciendo que el corazón sea más susceptible a un infarto.
Diabetes	Auto-oxidación de la glucosa. Disminuye la producción de insulina en el páncreas.

Cáncer	Daño irreversible en el ADN.
Cataratas	Daño irreversible en las proteínas.
Cuadros inflamatorios crónicos	Inflamación como respuesta de la activación de genes.
Enfermedades neurodegenerativas	Muerte celular por apoptosis

Fuente: Kunwar & Priyadarsini, (2011) y Kurlov *et al*. (2012)

2.4.4. Radicales libres

Se definen como potentes oxidantes citotóxicos (o especies tóxicas) que poseen uno o más electrones desapareados, por lo que son muy reactivos, lo que hace que sean agentes muy dañinos y ocasionan daño a las células, su vida media es muy corta, tiempo suficiente para iniciar diversas reacciones en cadena (Lushchak, 2014).

Especies reactivas de oxígeno (EROs)

Las EROs (Cuadro 8), se forman cuando los orbítales externos del O_2 están ocupados por dos electrones no apareados se denomina un bi-radical, esto significa que dos de sus electrones externos están libres, pero girando en el mismo sentido y solo podrán formar par con electrones de otros compuestos que estén libres y con giro opuesto (Patel, Rinker, Peng y Chilian, 2018).

Cuadro 8. Especies reactivas de oxígeno (EROs)

Especie	**Símbolo**
Radical superóxido	$O_2^{-\cdot}$
Radical Hidroperóxido	$HO_2^{\cdot}$
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Radical Hidroxilo	$HO^{\cdot}$
Oxigeno Singlete	$^1O_2$
Radical alcoxilo	$RO^{\cdot}$
Radical peroxilo	$ROO^{\cdot}$
Ozono	O_3

Fuente: Patel *et al*. (2018)

Especies reactivas de nitrógeno (ERN´s)

Las ERN´s, son otra clase de especies reactivas que pueden interaccionar con las moléculas que forman a los organismos biológicos provocando en ellos una desestabilidad a nivel celular y están relacionadas con enfermedades degenerativas en los humanos. En al cuadro 9 se enlistan las principales especies reactivas del nitrógeno, (Lal, Kumari, Pooja & Sheokand, 2019)**.**

Cuadro 9. Especies reactivas de nitrógeno (ERN's)

Especie	Símbolo
Óxido nítrico	NO•
Peróxido de nitrógeno	$ONOO^{\bullet -}$
Dióxido de nitrógeno	NO_2•

Fuente: Lal *et al*. (2019)

2.4.5. Actividad antioxidante

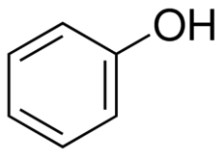
Un antioxidante se define como un compuesto capaz de retrasar o inhibir la oxidación de sustratos, incluso si el compuesto antioxidante se encuentra en una concentración significativamente más baja que la del sustrato oxidado (Kunwar y Priyadarsini, 2011).

Los antioxidantes son ampliamente usados en la industria farmacéutica y de los alimentos como conservadores en fragancias, cosméticos, bebidas, saborizantes y cárnicos; debido a que por su contenido de lípidos (triglicéridos, triacilglicerol y fosfolípidos) se deterioran fácilmente por reacciones de degradación, calentamiento o tiempo de almacenamiento, esto trae como consecuencia la alteración del valor y calidad nutricional del producto (Xu, Yuan y Chang, 2007).

Las sustancias antioxidantes anulan o neutralizan la reactividad y/o inhiben la generación de radicales libres, aunque existen sistemas antioxidantes endógenos en el organismo que neutralizan a los radicales libres que se forman como consecuencia del estrés oxidativo es recomendable integrar antioxidantes de fuentes externas, principalmente con la ingesta regular de vegetales frescos con alto contenido de compuestos fenólicos (Lobo, Patil, Phatak y Chandra, 2010).

2.4.6. Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios y se han identificado más de 8000 compuestos distribuidos en el reino vegetal; pueden ser simples, de bajo peso molecular, o complejos de varios anillos formando las estructuras de los compuestos llamados taninos hidrolizables o condensados. Presentan en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un grupo hidroxilo como se muestra en la figura 2 (Crozier, Jaganath & Clifford 2009; Ferrazzano, Amato, Ingenito, Zarelli, Pinto y Pollio, 2010; Zabicky, 2003). Se clasifican de acuerdo al número y disposición de los átomos de carbono; comúnmente se encuentran conjugados con azúcares y ácidos orgánicos. Los tres principales grupos de los compuestos fenólicos son: los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, que poseen actividad antioxidante. Se consideran compuestos beneficiosos a la salud debido a que reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas por sus propiedades biológicas (antidiabéticos, anticancerígenos, neuroprotectores, antinflamatorios, antimicrobianas y antioxidantes). En los alimentos, los polifenoles contribuyen con el sabor, color, astringencia, estabilidad y la oxidación, por ello se encuentran estrechamente relacionados con la calidad nutricional de vegetales (Büyükbalci y El, 2008; Crozier *et al*., 2009; Jiang *et al*., 2010). Algunos estudios revelan la relación directa que existe entre la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles en los extractos vegetales (Gómez-Maqueo *et al.,* 2018; Jiang *et al*., *2010*).

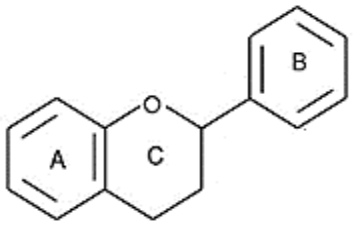


Fuente: Gómez-Maqueo *et al*. (2018)

Figura 2. Estructura básica de los compuestos fenólicos.

2.4.7. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos, algunos responsables de la coloración de frutas y vegetales (antocianidinas), se conocen alrededor de 8000 compuestos. Son estructuras de bajo peso molecular y su esqueleto de difenilpropanoide (C6-C3-C6) está constituido por dos anillos (A y B), unidos por el anillo C como se muestra en la Figura 3 (Geilfus, 2019; Monfilliette-Cotelle, 2005; Tharasena y Lawan, 2014).



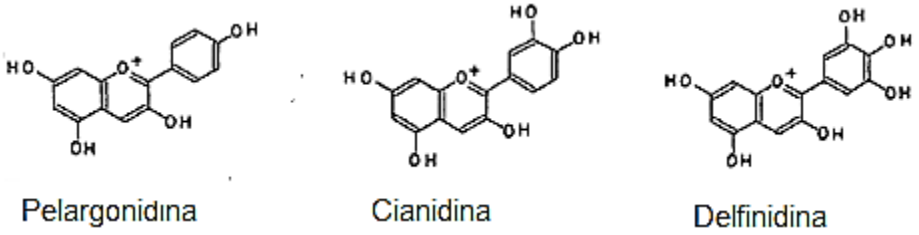
. Fuente: Monfilliette-Cotelle. (2005)
Figura 3. Estructura básica de los flavonoides

Los flavonoides constituyen una amplia familia de compuestos que se dividen en: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonoles, flavanonoles, flavan-3-oles y antocianidinas, su potencial antioxidante se debe de la presencia de los grupos hidroxilos ubicados en los anillos A y B, de los dobles enlaces entre C2 y C3 y de OH en C3 (Spencer y Crozier, 2012).

En las plantas actúan como antioxidantes, antimicrobianos, fotoreceptores, atractores visuales y como mecanismo de defensa contra herbívoros (repelentes); también se caracterizan por poseer una alta afinidad para unirse a proteínas, hormonas, ácidos nucleicos y a iones metálicos divalentes, poseen la capacidad de catalizar el transporte de electrones y captan radicales libres. Estas propiedades dan lugar a una gran cantidad de efectos biológicos que incluyen actividad antialérgica, antiviral, antibacteriana, antiinflamatorio, antineoplásico, antifúngico, antioxidante, antialérgico, hepatoprotector y vasodilatador (Rodríguez-Mateos & Spencer, 2012; Vauzour & Vafeiadou, 2012; Walle, 2012).

2.4.8. Antocianinas

Las antocianinas son glicósidos con un esqueleto básico de una aglicona antocianidina C_6-C_3-C_6 (Brouillard, 1982). En forma natural se encuentran como pigmentos en flores de colores rojo, violeta y azul; frutos y hojas de diversas especies vegetales. Cuando se someten a hidrólisis se producen uno o más azúcares y una antocianidina. La hidrólisis de las antocianinas en medio ácido produce las agliconas coloridas o antocianidinas, de las que se conocen tres tipos fundamentales (Domínguez, 2018) (Figura 4).



Fuente: Domínguez, (2018)

Figura 4. Estructura las principales antocianidinas.

Estos pigmentos, además de conferir los colores a algunas plantas, cumplen con otras funciones de defensa y ecológica, como la protección contra la radiación ultravioleta UV-B, el ataque de insectos y herbívoros y la invasión microbiana (Mazza, 2018).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos hidrosolubles y se encuentran especialmente presentes en las angiospermas o plantas con flores. Estos fitoquímicos están particularmente asociadas con las frutas de colores principalmente rojos, pero también se localizan en algunas raíces, tubérculos, bulbos, legumbres y cereales (Mazza, 2018). En los tejidos vegetales, las antocianinas producen los colores azules, púrpuras, rojos y tonalidades intermedias, e incluso pueden aparecer en un color “negro”. Su tonalidad y estructura dependen del pH y la posición de los grupos –OH en los anillos de su estructura y de la presencia de otros pigmentos (Mateus & Freitas, 2008).

Los flavonoides, incluyendo a las antocianinas, han demostrado capacidad para neutralizar diversas especies antioxidantes (anión superóxido, radical hidroxilo o radicales peroxilo) (Wu, 2013). Existen evidencias de las propiedades terapéuticas de estos metabolitos en el organismo humano, como su uso en el tratamiento de diversos desórdenes circulatorios e inflamatorios (Wu, 2013).

2.4.9. Taninos

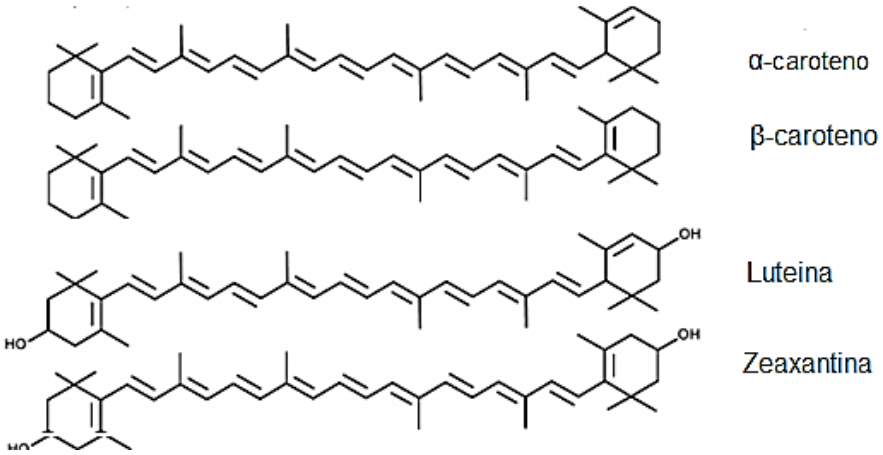
Los taninos forman compuestos de peso molecular muy alto (>500 UMA) y se dividen en flavonoides y no flavonoides. Los no flavonoides polimerizan para formar taninos hidrolizables, mientras que los flavonoides, forman taninos condensados al polimerizarse (Cheynier, 2005). Los taninos condensados son muy comunes en las uvas (*Vitis vinífera*) y se les han atribuido la mayor parte de las propiedades antioxidantes en los vinos, además, se han reportado otros beneficios en la salud de los consumidores como propiedades antimicrobianas y antiflamatorias (Cheynier, 2005; Chung, Wei & Johnson, 1998; Fine, 2000; Okuda, 2005).

Los taninos tienen la capacidad de formar complejos con proteínas principalmente por la presencia de grupos hidroxilo fenólicos, se encuentran en forrajes, arbustos, legumbres, cereales y granos, se distribuyen en toda la planta (tallo, madera, hojas, semillas) (Oña & Novillo, 2017). En las plantas actúan como mecanismo de defensa contra herbívoros y se pueden encontrar en altas concentraciones en las capas celulares externas de las frutas poco maduras (Salminen & Karonen, 2011).

2.4.10. Carotenoides

Los carotenoides son moléculas formadas de unidades de isoprenoides, en las plantas superiores, los carotenoides se sintetizan y localizan en el plastidio y están unidos biosintéticamente a otros isoprenoides como giberelinas, tocoferoles, clorofilas y filoquinonas a través del compuesto de cinco carbonos (C5) isopentenil difosfato (IPP) (Britton, Liaaen-Jensen y Pfander, 2009).

La mayoría de los carotenoides tienen una estructura basal en común de 40 carbonos (figura 5) (Britton *et al*., 2009). El patrón de dobles enlaces conjugados en el esqueleto de carotenoides determina sus propiedades de absorción de luz y la capacidad antioxidante de los carotenoides. Además, el número de enlaces dobles permite varias configuraciones *cis* o *trans* de una molécula de carotenoide dada. Si bien las formas totalmente trans son predominantemente de naturaleza general, los carotenoides tienden a isomerizarse y formar una mezcla de isómeros mono y poli-cis aparte de la forma todo trans (Stahl, Schwarz & Sies, 1993).



Fuente: Fiedor & Burda, (2014)

Figura 5. Estructura molecular de los principales carotenoides presentes en los vegetales.

La población humana consume carotenoides principalmente de frutas y vegetales, donde los carotenoides se encuentran en las raíces, hojas, brotes, semillas, frutos y flores, en menor medida. Los carotenoides también se pueden ingerir en huevos, aves y peces, donde típicamente se han incluido productos vegetales o algas en la alimentación de los animales (Fraser, 2004).

Los carotenoides tienen una amplia gama de funciones, especialmente en relación con la salud humana y se han centrado en las propiedades que tienen carotenoides individuales en la dieta, especialmente el β-caroteno, licopeno, luteína y zeaxantina por sus efectos en la salud visual, enfermedades cardiovasculares, enfermedades crónico degenerativas como el cáncer, actividad

pro vitamina A, antioxidantes biológicos y como reguladores del sistema inmune (Fraser, 2004).

2.4.11. Ácidos grasos

Los triglicéridos son ácidos grasos unidos a una glicerina (alcohol) a través de sus tres grupos hidroxilo. Los triacilglicéridos constituyen la familia más abundante de lípidos y los principales componentes de los lípidos de reserva de las células animales y vegetales (Lehninger, 2009).

Los ácidos grasos son los principales componentes de los lípidos y tienen funciones de reserva de energía, de estructura, señalización y selectividad en la célula, además participan en diversos procesos hormonales (FAO, 2012). Se componen de una cadena hidrocarbonada con un grupo carboxilo en el extremo. La cadena hidrocarbonada puede ser saturada, como el ácido palmítico (16:0), o puede tener uno o más dobles enlaces, como ocurre en el ácido oleico (18:1); existen escasos ácidos grasos con enlaces triples (Lehninger, 2009).

Se dividen en tres clases; los ácidos grasos saturados (AGS) no tienen dobles enlaces, los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) tienen un doble enlace y los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) poseen dos o más insaturaciones. Algunos ácidos grasos se clasifican como “ácidos grasos esenciales (AGE)” ya que no pueden ser sintetizados en el cuerpo humano y son necesarios para el buen funcionamiento del organismo (Omega 3 y 6) (figura 6) (Castro, 2002; FAO, 2012).

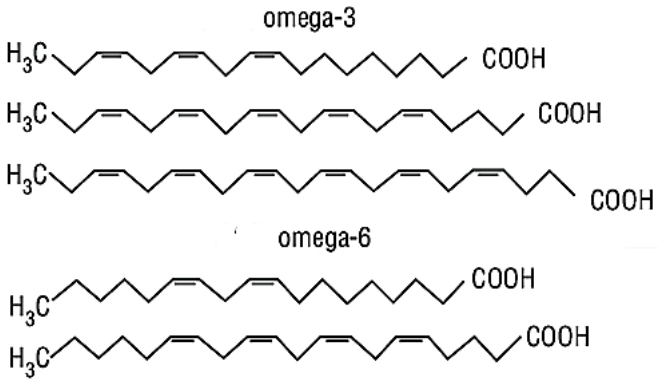


Figura 6. Ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos polinsaturados poseen un efecto protector en el ser humano por disminuir la viscosidad de la sangre, reduciendo así el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. Estos metabolitos se han vinculado con los efectos antiarrítmicos, antitrombóticos, antiescleróticos, antidepresivos y pueden mejorar el perfil lipídico en pacientes con hipercolesterolemia moderada (López-Ledesma *et al*., 1996; Biruete *et al*., 2009).

El aceite de aguacate presenta el mismo índice de aterogenicidad (potencial de obstrucción de las arterias) que el de los aceites de maíz y oliva, lo que significa que hay una menor probabilidad de sufrir enfermedades cardiovasculares (Kritchevsky *et al*., 2003). El aceite de este fruto contiene al ácido oleico como principal componente, el cual favorece el incremento en la concentración de las lipoproteínas de alta densidad o colesterol “bueno” (HDL) y evita la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad o colesterol “malo” (LDL) en la sangre humana. Por el elevado contenido de ácidos grasos monoinsaturados y la cantidad de nutrientes en el aguacate, este fruto debe ser considerado como parte de una estrategia dietética para proteger contra el desarrollo de la cardiopatía coronaria (Kritchevsky *et al*., 2003; Pérez-Rosales *et al*., 2005).

2.5. Caracterización molecular

2.5.1. Variabilidad genética

La variabilidad genética es la presencia o la generación de diferencias genéticas. Se define como “la formación de individuos que difieren en el genotipo, o la presencia de individuos genotípicamente diferentes, en contraste con las diferencias inducidas por el medio ambiente que, por regla general, solo causan cambios temporales no heredables del fenotipo” (Parker, 1977).

Existen muchas fuentes de variabilidad genética en una población (Ehrich & Jorde, 2005; Yan & Gehring, 2003; Wills, 1980):

a) Durante la meiosis en organismos sexuales, dos cromosomas homólogos se cruzan entre sí e intercambian material genético.

b) La inmigración, emigración y translocación; cuando un individuo pasa de una población previamente aislada genéticamente a una nueva, aumentará la variabilidad genética de la próxima generación si se reproduce.
c) La poliploidía: tener más de dos cromosomas homólogos permite una recombinación aún mayor durante la meiosis, lo que permite una variabilidad genética aún mayor en la descendencia.
d) Centrómeros difusos: en los organismos asexuales donde la descendencia es una copia genética exacta del progenitor, existen fuentes limitadas de variabilidad genética. Una acción que aumentó la variabilidad; sin embargo, es haber difundido en lugar de centrómeros localizados. La difusión permite que las cromátidas se separen de muchas maneras diferentes, lo que permite la fragmentación de los cromosomas y la poliploidía creando una mayor variabilidad.
e) Mutaciones genéticas: contribuyen a la variabilidad genética dentro de una población y pueden tener efectos positivos, negativos o neutrales en el ecosistema.

La variabilidad genética en una población es importante para la biodiversidad. Tan es que El Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) sugiere que antes de explotar el material genético nativo de un ecosistema, primero se debe valorar la variabilidad genética existente en su hábitat natural, y es recomendable documentar y describir los genotipos, con el fin de lograr el uso sustentable y aprovechamiento a través del mejoramiento genético (González-Benavides, Cisne, Querol y Centeno, 2012; IPGRI, 2000).

2.5.2. Marcadores moleculares

Dentro de un grupo de individuos se desarrollan una variedad de características fenotípicas (morfológicas) que los diferencian entre sí (Parker, 1977). La caracterización es más eficiente con el uso de marcadores moleculares a nivel genético, de esta manera la variabilidad genética debido al polimorfismo es detectable entre individuos de una población (Furnier, Cummings & Clegg, 1990).

Los “polimorfismos” genéticos aparecen de manera natural dentro y fuera de una población de organismos (Yan & Gehring, 2003). Las diferencias genéticas entre dos individuos sirven como un “marcador” o “rasgo individual” cuando es detectable (Mendoza-Herrera & Simpson, 1996). Se conocían dos clases de marcadores: los morfológicos y los bioquímicos (Tanksley, 1983).

Tanto los marcadores morfológicos como los bioquímicos pueden ser específicos de un tejido en particular o etapa fenológica de la planta. La clasificación y caracterización de variedades tradicionalmente ha utilizado caracteres botánicos, morfológicos y físicos; sin embargo, el uso de este tipo de descriptores no es del todo confiable debido a que son afectados por factores ambientales y procesos fisiológicos propios de las plantas. Por otro lado, los marcadores bioquímicos pueden ser metabolitos secundarios, proteínas estructurales, isoenzimas o enzimas que tienden a cambiar por factores externos a la propia fisiología del organismo (Mendoza-Herrera & Simpson, 1996). Hay casos que han tenido éxito los marcadores morfológicos y bioquímicos para lograr una caracterización con un alto grado de confiabilidad; sin embargo, presentan desventajas como lo son las atribuibles al ambiente (Mendoza-Herrera & Simpson, 1996).

Para superar las desventajas mencionadas anteriormente se ha propuesto trabajar con marcadores moleculares, los cuales no presentan los inconvenientes de los métodos usados anteriormente debido a la alta especificidad y fidelidad que existe en el ADN a nivel de especie aún en las condiciones más extremas del medio ambiente en el que se desarrollan los organismos (Azofeifa-Delgado, 2006; Mendoza-Herrera & Simpson, 1996).

Los marcadores moleculares permiten detectar diferencias específicas entre las secuencias de ADN de los organismos y su aplicación es factible para estimaciones de diversidad genética al detectar polimorfismos de ADN de manera rápida, eficiente y reproducible (Valadez & Kahl, 2000).

Las metodologías basadas en la Reacción de la Polimerización en Cadena o PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction) utilizan secuencias de nucleótidos (iniciadores) que comienzan la replicación de partes del ADN de

longitud mayor de 3 kb en promedio. Estas secuencias de inicio son aleatorias o específicas (Valadez y Kahl, 2000)..

Otra técnica basada en esta metodología son los AFLP la cual no requiere de hibridación, aunque años atrás se hacía uso de la radioactividad para poder detectar los polimorfismos. En la actualidad la detección de este tipo de fragmentos ya no corre riego alguno en la salud por el uso de sustancias radioactivas (Valadez y Kahl, 2000).

Los microsatélites del tipo SSR (Secuencias Simples Repetidas) son secuencias cortas y estrechas que consisten de motifs de una a seis bases que están en tandems repetidos. Obedeciendo a su obicuidad, hipervariabilidad, abundancia y su amplia distribución en el genoma. Los SSR loci representan una nueva generación de marcadores genéticos poderosos, para los organismos eucariontes. El uso de este sistema de marcadores; sin embargo, tiene la limitante de no tener acceso a la secuencia de información de las regiones que lo flanquean, si es que los iniciadores no fueron previamente diseñados para la amplificación de la PCR (Liu & Wendel, 2002).

Recientemente, una modificación de los marcadores basados en el sistema SSR son los análisis ISSR (Inter Secuencias Simples Repetidas) popularizado por Wolfe, Xiang y Kephart (1998). El análisis ISSR involucra la amplificación PCR del ADN genómico utilizando un iniciador simple que realiza la repetición por sí mismo, con 1 a 3 bases que anclan al iniciador a la terminación 3´ o 5´. Los análisis ISSR son muy simples técnicamente en comparación con muchos otros sistemas de marcadores. Este método provee una alta reproducibilidad de resultados y genera abundantes polimorfismos en muchos sistemas (Liu y Wendel, 2001).

Esta técnica es opuesta a la de los SSR que utilizan iniciadores en la región de flanqueo, por lo que la diversidad de secuencias de ISSR es menor a la de SSR. La secuencia de un ISSR puede ser conservada o no conservada. Esta propiedad limita su aplicación en la distinción entre los individuos. Sin embargo, es útil para otros estudios, incluyendo la diversidad genética, la filogenia, el mapeo del

genoma y la biología evolutiva. Es simple y rápido de usar y combina las ventajas de los SSR, AFLP y marcadores RAPD. Sin embargo, una limitación importante de este tipo de marcador es su incapacidad para distinguir loci heterocigotos (el marcador es dominante) (Acquaah, 2012).

Los marcadores ISSR utilizan la tecnología PCR para la amplificación de fragmentos utilizando iniciadores específicos de secuencias repetidas de di o trinucleótidos y cuatro bases nucleotídicas determinadas. Esto permite la amplificación parcial de todas las regiones. A este tipo de marcador se le conoce como microsatelite anclado (Liu & Wandel, 2002; Wolfe *et al*., 1998).

2.5.3. Uso de marcadores ISSR en *Persea americana* Mill.

El agrupamiento genético entre especies del género *Persea* anteriormente se basaban principalmente en parámetros morfológicos (Mhameed *et al*., 1997). Las especies de aguacate presentan alto nivel de polimorfismos y la hibridación da como resultado una variabilidad fenotípica muy alta (Lahav & Lavi, 2009). La variabilidad en los huertos de este frutal proviene de su característica hermafrodita dicogámica, es decir, tiene flores masculinas y femeninas en el mismo árbol, pero no maduran al mismo tiempo por lo que teóricamente es necesario contar con al menos dos cultivares en el huerto para permitir la fertilización (Gazit y Degani, 2002).

Las relaciones genéticas del aguacate se han analizado con diferentes marcadores moleculares: SSR, AFLP, RFLP y RAPD (Alcaraz & Hormaza, 2007; Ashworth, Kobayashi, De la Cruz y Clegg, 2004; Furnier *et al*., 1990; Gutiérrez Martínez, García e Iracheta, 2009; Schnell *et al*., 2003). Estos estudios han demostrado la complejidad genética del aguacate, debido a que comprende especies con polinización abierta, y la segregación genética se lleva a cabo dando como resultado una mayor variabilidad (Sánchez, 1999).

2.5.3. Prueba de Mantel para análisis de correlación de matrices.

La prueba de Mantel fue desarrollada por Nathan Mantel y es una prueba estadística que calcula la relación existente entre dos matrices con datos del mismo tipo y del mismo rango (Sokal & Rohlf, 1995).

La prueba ha sido ampliamente utilizada en ecología, donde generalmente se busca estimar la distancia genética entre organismos. Por ejemplo, una de las dos matrices puede contener las estimaciones de las distancias genéticas entre organismos obtenidos a través de análisis moleculares y la otra puede contener estimaciones de la distancia geográfica, altitud, entre otras variables (Mantel, 1995).

El principio básico de la prueba se explica de la siguiente manera; existen n individuos y los datos se trabajan en una matriz simétrica (la distancia del individuo *A* a un individuo *B* es igual que la distancia de *B* a *A*, de esta manera se tiene que n (n − 1) / 2 distancias, debido a que las distancias son dependen unas de otras. No sería posible evaluar solamente el coeficiente de correlación entre dos matrices de distancias y el control de su significancia estadística, por lo tanto, se debe recurrir a un procedimiento de permutación (Mantel, 1995). Normalmente el coeficiente de correlación de Pearson es el que se utiliza para determinar el grado de correlación (Wynn *et al*., 2016).

2.6. Referencias

Acquaah, G. (2012). Principles of Plant Genetics and Breeding. Second ed. John Wiley & Sons, (Ltd) (ISBN 978-0-470-66475-9 (pbk.)).

Alcaraz, M. L., & Hormaza, J. I. (2007). Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs. *Hereditas*, 144(6), 244–253. doi:10.1111/j.2007.0018-0661.02019x.

Alvizouri, M., Carranza, J., Herrera, J.E., Chávez, F. & Amezcua, J.L. (1992). Effects of avocado as a source of monounssaturated fatty acids on plasma lipid levels. *Archives of Medical Research*, 23:163-167

Ashworth, V. E. T., Kobayashi, M., De La Cruz, M., & Clegg, M. (2004). Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Scientia Horticulturae*, 101(3), 255–267. doi: 10.1016/j.scienta.2003.11.008

Bapat, V. A.; Trivedi, P. K.; Ghosh, A.; Sane, V. A.; Ganapathi, T. R. and Nath, P. (2010). Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology Journal*. Adv. 28(1):94-107.

Barrientos, F.A. & López, L. (1998). Historia y Genética del Aguacate. Memoria. Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México. p 33-51

Bartley, G. E. & Scolnik, P. A. (1995). Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell*. 7(7):1027-1038.

Bennett, A. B. (2007). Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in Charentais melon. *Journal of Experimental Botany.* 58(6):1281-1290.

Bergh, B. O. & Ellstrand N. C. (1986) Taxonomy of the avocado. *California Avocado society yearbook*. 70: 135-145.

Bergh, B. 1992. The origin, nature and genetic improvement of the avocado. *California Avocado society yearbook* 76: 61-75.

Biale, J. B. (1964). Growth, maturation, and senescence in fruits. *Science*.146: 880-888.

Bill, M., Sivakumar, D., Thompson, A. K., & Korsten, L. (2014). Avocado Fruit Quality Management during the Postharvest Supply Chain. *Food Reviews International*, 30(3), 169–202. doi:10.1080/87559129.2014.907304

Blumenfeld A. & Gazit S. (1974). Development of seeded and seedless avocado fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 99:442–448.

Bora, P., Narain, N., Rocha, R., & Queiroz, P.M. (2001). Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: 'Fuerte') fruits. *Grasas y Aceites*, 52(3-4). doi.org/10.3989/gya.2001.v52.i3-4.353

Bouzayen, M., Latché, A., Nath, P., & Pech, J. C. (2009). Mechanism of Fruit Ripening. *Plant Developmental Biology* - Biotechnological Perspectives, 319–339. doi:10.1007/978-3-642-02301-9_16

Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (2009). Editors' Assessment. Carotenoids, 409–422. doi:10.1007/978-3-7643-7501-0_19

Brouillard, R. (1982). Chemical Structure of Anthocyanins. *Anthocyanins As Food Colors*, 1–40. doi:10.1016/b978-0-12-472550-8.50005-6

Brummell, D. A., Harpster, M. H., Civello, P. M., Palys, J. M., Bennett, A. B. & Dunsmuir, P. 1999. Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening. *The Plant Cell*. 11(11):2203-2216.

Brummell, D. A. & Harpster, M. H. (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. In: *plant cell walls*. Carpita, N.C.; Campbell, M. y Tierney, M. (Eds.). 1a ed. Springer Science. Netherlands. 311-340 pp.

Büyükbalci, A. & El, S. N. (2008). Determination of In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(1), 27–33. doi:10.1007/s11130-007-0065-5

Calabrese F. (1992) El Aguacate. Ed. Mundi Prensa Libros S.A. Madrid, España. 246 p.

Campos, R. E., Hernández, V. F., Espíndola, B., Reyes, A. & Barrientos P. A. (2011a). Characterizacion of creole mexican avocado (*Persea drymifolia*) as donor seed. Proceedings VII World Avocado Congress 2011. Cairns, Australia. 11 p.

Caramia, G., Gori, A., Valli, E. & Cerretani L (2012) Virgin olive oil in preventive medicine: from legend to epigenetics. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114(4):375–388. doi.org/10.1002/ejlt.201100164

Carranza, J., Herrera, J.E., Alvizouri, M., Alvarado, M. R. & Chávez, F. (1997). Effects of a vegetarian diet vs. vegetarian diet enriched with avocado in hypercolesterolemic patients. *Archives of Medical Research*, 28:537-541

Chervin, C., Tira-Umphon, A., El-Kereamy, A., Roustan, J. P., Lamon, J., Latche, A., … Kanellis, A. (2005). Ethylene is required for the ripening of grape. *Acta Horticulturae*, (689), 251–256. doi:10.17660/actahortic.2005.689.29

Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223S–229S. doi:10.1093/ajcn/81.1.223s

Chung, K.T., Wei, C.I. & Johnson, M. G. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health?. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 168–175. doi:10.1016/s0924-2244(98)00028-4

Corrales-García, J. E., del Rosario García-Mateos, M., Martínez-López, E., Méndez-Zúñiga, S. M. & Becerra-Morales, D. (2019). Anthocyanin and Oil Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(2), 210–215. doi:10.1007/s11130-019-00721-1

Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287–294. doi:10.1016/j.postharvbio.2003.09.008

Cowan, A. K. & Wolstenholme, B. N. (2016). Avocado. *Encyclopedia of Food and Health*, 294–300. doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00049-0

Crozier, A., Jaganath, I. B. & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001. doi:10.1039/b802662a

Cummings, K., & Schroeder, C. (1942). Anatomy of the avocado fruit.

DeFelice, S. L. (1995). The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science & Technology*, 6(2), 59–61. doi:10.1016/s0924-2244(00)88944-x

Dobrzański, B. & Rybczyński, R. (2002). Color as a Quality Factor of Fruits and Vegetables. In: Blahovec J., Kutílek M. (eds) *Physical Methods in Agriculture*. Springer, Boston, MA.

Dobrzański, B. & Rybczyński, R. (2008). Influence of packing method on colour perception improving the appearance of fruits and vegetables. *Research in Agricultural Engineering*, 54 (2), 97–103. doi:10.17221/4/2008-rae

Domínguez, A. E. (2018). Antocianinas y colores vegetales. *Educación Química*, 1(2), 96. doi:10.22201/fq.18708404e.1990.2.67019

Dos Santos, R., Arge, L. W., Costa, S., Machado, N., de Mello-Farias, P., Rombaldi, C. & de Oliveira, A. C. (2015). *Genetic regulation and the impact of omics in fruit ripening*. Plant Omics. 8(2):78-88.

Ehrich, D., & Jorde, P. E. (2005). High genetic variability despite high-amplitude population cycles in lemmings. *Journal of Mammalogy*, 86(2), 380–385. doi:10.1644/ber-126.1

FAOSTAT. (2019). Avocados crop production. http://www.fao.org/ faostat/en/#data. Consultado: 13 July 2019

Ferrazzano, G., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., & Pollio, A. (2011). Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review. *Molecules*, 16(2), 1486–1507. doi:10.3390/molecules16021486

Ferreyra, R., Sellés, G., Savedra, J., Ortiz, J., Zúñiga, C., Troncoso, C., Rivera, S. A., González-Agüero, M. & Defilippi BG (2016). Identification of pre-harvest factors that affect fatty acid profiles of avocado fruit (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' at harvest. *South African Journal of Botany.* 104:15–20. doi.org/10.1016/j.sajb.2015.10.006

Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health nd Disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. doi:10.3390/nu6020466

Fine, A. (2000). Oligomeric proanthocyanidin complexes: History, structure, and phytopharmaceutical applications. Altercriollo Medicine Reviews 55:144-151.

Flores-Álvarez, L. J., Guzmán-Rodríguez, J. J., López-Gómez, R., Salgado-Garciglia, R., Ochoa-Zarzosa, A., & López-Meza, J. E. (2018). PaDef defensin from avocado (*Persea americana var*. drymifolia) is cytotoxic to K562 chronic myeloid leukemia cells through extrinsic apoptosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 99, 10–18. doi:10.1016/j.biocel.2018.03.013

Förster, B., Pogson, B., & Osmond, C. (2011). Lutein from Deepoxidation of Lutein Epoxide Replaces Zeaxanthin to Sustain an Enhanced Capacity for Nonphotochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching in Avocado Shade Leaves in the Dark. *Plant Physiology*, 156(1), 393–403. doi:10.1104/pp.111.173369

Fraser, P. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 43(3), 228–265. doi:10.1016/j.plipres.2003.10.002

Furnier, G. R., Cummings, M. P., & Clegg, M. T. (1990). Evolution of the Avocados as Revealed by DNA Restriction Fragment Variation. *Journal of Heredity*, 81(3), 183–188. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a110963

Gaete-Garretón, L., Vargas-Hernández, Y., León-Vidal, C. & Pettorino-Besnier, A. (2006). A Novel Noninvasive Ultrasonic Method to Assess Avocado Ripening. *Journal of Food Science*, 70(3), E187–E191. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb07134.x

Galindo M. & Milagro P. (2011). Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) in seven municipalities of central Veracruz, characterized using microsatellite markers. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13: 339-346.

García Moreno, M. A., De la Garza Ramos, M. A., Martínez Ávila, G. C. G., Gutiérrez Diez, A., Ojeda Zacarías, M. D. C., & Aguirre-Arzola, V. E. (2017). Inhibición de la expresión del sistema agr de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el uso de polifenoles totales de hojas de aguacate mexicano (Persea americana var. drymifolia). *Nova Scientia*, 9(18), 200. doi:10.21640/ns.v9i18.737

Geilfus, C.-M. (2019). Enrichment of Flavonoids in Lettuce. *Controlled Environment Horticulture*, 211–214. doi:10.1007/978-3-030-23197-2_21

González-Benavides, A., Cisne, J., Querol, D. L. & Centeno, J. (2012). Germoplasma de tomate silvestre (*Lycopersicum* spp.) en la reserva de recurso genéticos de apacunca (RRGA), Chinandega. *La Calera*, 11(17), 33–40. doi:10.5377/calera.v11i17.775

Gómez-Maqueo, A., Escobedo-Avellaneda, Z., Cano, M. P., & Welti-Chanes, J. (2018). Phenolic Compounds in Food. *Phenolic Compounds in Food*, 33–58. doi:10.1201/9781315120157-3

Gross, J., Gabai, M., Lifshitz, A., & Sklarz, B. (1974). Structures of some carotenoids from the pulp of *Persea americana*. *Phytochemistry*, 13(9), 1917–1921. doi:10.1016/0031-9422(74)85115-0

Gutiérrez A., Martínez J., García E., Iracheta L. (2009). Estudio de la diversidad genetica del aguacate nativo en Nuevo León, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 9-18.

He, J. & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual review of food science and technology*. 1: 163-187.

Hershkovitz, V., Friedman, H., Goldschmidt, E. E., & Pesis, E. (2010). Ethylene regulation of avocado ripening differs between seeded and seedless fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 56(2), 138–146. doi:10.1016/j.postharvbio.2009.12.012

IPGRI. (2000). Frutales del trópico americano, de la información a la investigación. Boletín de las Américas. Calí, Colombia. 6 (1), 4-8.

Kalra, E. (2003). Nutraceutical-definition and introduction. *AAPS PharmSci*, 5(3), 27–28. doi:10.1208/ps050325

Knight, R. and Jr, J. (2002). History, distribution and uses. In: Whiley, A. W.; Schaffer, B.; Wolstenholme, B. N. (Eds.). The avocado: botany, production and uses. CABI, Wallingford. 1-14 pp.

Kunwar, A. & Priyadarsini K. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences* 1(2): 53-60.

kurlov, M. (2012). Oxidative Stress in Human Autoimmune Joint Diseases. *Oxidative Stress and Diseases*. doi:10.5772/33460

Lahav, E., & Lavi, U. (2009). Avocado Genetics and Breeding. *Breeding Plantation Tree Crops*: Tropical Species, 247–285. doi:10.1007/978-0-387-71201-7_8

Lal, M., Kumari, A., Pooja, & Sheokand, S. (2019). Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species and Oxidative Metabolism Under Waterlogging Stress. *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants*, 777–812. doi:10.1002/9781119468677.ch34

Landahl, S., Meyer, M., & Terry, L. (2009). Spatial and Temporal Analysis of Textural and Biochemical Changes of Imported Avocado cv. Hass during Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 7039–7047. doi:10.1021/jf803669x

Lara-Márquez, M., Báez-Magaña, M., Raymundo-Ramos, C., Spagnuolo, P. A., Macías-Rodríguez, L., Salgado-Garciglia, R. & López-Meza, J. E. (2020). Lipid-rich extract from Mexican avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*) induces apoptosis and modulates the inflammatory response in Caco-2 human colon cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 64, 103658. doi:10.1016/j.jff.2019.103658

Lelièvre, J. M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M. & Pech, J. C. (1997). Ethylene and fruit ripening. Physiol. *Plantarum*. 101: 727-739.

Liu, B., & Wendel, J. F. (2002). Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. *Molecular Ecology Notes*, 1(3), 205–208. doi:10.1046/j.1471-8278.2001.00073.x

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118. doi:10.4103/0973-7847.70902

López-Guzmán, G., Medina-Torres, R., Guillén-Andrade, H., Ramírez-Guerrero, L. G., Juárez- López, P., & Ruelas-Hernández, P. G. (2018). Caracterización morfológica en genotipos nativos de aguacate (*Persea americana* Mill.) de clima tropical en Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (11), 2157. doi:10.29312/remexca.v0i11.785

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175. doi:10.1016/j.cbi.2014.10.016

Mantel, N. (1967). “The detection of disease clustering and a generalized regression approach”. *Cancer Research* 27 (2): 209-220.

Mazza, G. (2018). Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. doi:10.1201/9781351069700

Mateus, N., & de Freitas, V. (2008). Anthocyanins as Food Colorants. *Anthocyanins*, 284–304. doi:10.1007/978-0-387-77335-3_9

Mendoza-Herrera, A. & Simpson. (1996). Uso de marcadores moleculares en la agronomia. Avances y Perspectivas. CINVESTAV, Unidad de Irapuato. 16: 53-57

Mhameed, S., Sharon, D., Kaufman, D., Lahav, E., Hillel, J., Degani, C., & Lavi, U. (1997). Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill) cultivars and between *Persea* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(2), 279–286. doi:10.1007/s001220050411

Mohammad, A. & Imran, M. (2019). Prospects of Medicinal Plants Derived Nutraceuticals: A Re-emerging New Era of Medicine and Health Aid*. Progress in Chemical and Biochemical Research*, 150–169. doi:10.33945/sami/pcbr.2019.4.1

Monfilliette-Cotelle, N. (2005). Flavonoids. *Carcinogenic and Anticarcinogenic Food Components*. doi:10.1201/9781420039269.ch13

Nishiyama, K., Guis, M., Rose, J. K., Kubo, Y., Bennett, K. A., Wangjin, L., Kato, K., Koichiro, U., Nakano, R. & Inaba, A. (2007). Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in Charentais melon. *J. Exp. Bot.* 58(6):1281-1290.

O'Neill, S. D. (1997). Pollination regulation of flower development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,* 48(1), 547–574. doi:10.1146/annurev.arplant.48.1.547

Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry* 66:2012-2031.

Omboki, R. B., Wu, W., Xie, X. & Mamadou, G. (2015). Ripening genetics of the tomato fruit. Inter. *Journal of Agricultural and Crop Research*. 8(4):567-572.

Oña, N., & Novillo, F. (2017). Determinación de Taninos Condensados en Sorgo y su Desactivación Utilizando Urea. *Química Central*, 1(1), 9–18. doi:10.29166/quimica.v1i1.1188

Ortega, M.A. (2003). Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. Proceedings V World Avocado Congress. España. pp 741-748.

Payasi, A., Mishra, N. N., Chaves, A. L. S. & Singh, R. (2009). Biochemistry of fruit softening: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 15(2):103-113.

Parker, D. L. (1977). Glossary of Genetics and Cytogenetics: Classical and Molecular R. Rieger A. Michaelis M. M. Green. *The American Biology Teacher*, 39(8), 509–509. doi:10.2307/4446056

Patel, R., Rinker, L., Peng, J., & Chilian, W. M. (2018). Reactive Oxygen Species: The Good and the Bad. *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*. doi:10.5772/intechopen.71547

Prabath, P.U.A., Sekozawa, Y., Sugaya, S. & Gemma, H. (2013). Changes in lipid oxidation stability and antioxidant properties of avocado in response to 1-MCP and low oxygen treatment under low-temperature storage. *International Food Research Journal*. 20,1065–1075.

Prior, R. L., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, 66(18), 2264–2280. doi:10.1016/j.phytochem.2005.03.025

Rodríguez-Mateos, A., & Spencer, J. (2012). Flavonoids and Vascular Function. *Flavonoids and Related Compounds*. doi:10.1201/b11872-14

Rodríguez-Suppo, F. (1982). El aguacate. México. A.G.T. Editor, S.A. 167 p.

Rojas-Jiménez, S. (2015). Consumo de nutracéuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Biosalud*, 14(2), 91–103. doi:10.17151/biosa.2015.14.2.9

Rolo, A. P., Teodoro, J. S., & Palmeira, C. M. (2012). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(1), 59–69. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003

Rosales, R. P., Rodríguez, S. V., & Ramírez, R. C. (2005). El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. *e-Gnosis*, (3), 0.

Salminen, J.-P., & Karonen, M. (2011). Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology*, 25(2), 325–338. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01826.x

Sánchez J. (1999). Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill.) y especies afines en México. *Revista Chapingo* 5: 7-18.

Santillán, M. E., Meza, M. G., Navarro, R. I., Gómez, H. P. & Rodríguez, E. S. (2008). Fabricación de productos cosméticos y de consumo humano a base de bagazo de aguacate (*Persea americana*). Avances en la investigación científica en el CUCBA. XIX Jornada Nacional de la Investigación Científica, ISBN: 978-607-00-2083-4.

Schnell, R. J., Brown, J. S., Olano, C. T., Power, E. J., Krol, C. A., Kuhn, D. N., & Motamayor, J. C. (2003). Evaluation of Avocado Germplasm Using Microsatellite Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(6), 881–889. doi:10.21273/jashs.128.6.0881

Seymour, G. B., Østergaard, L., Chapman, N. H., Knapp, S., & Martin, C. (2013). Fruit Development and Ripening. *Annual Review of Plant Biology*, 64(1), 219–241. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120057

SIAP. (2019). Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado el 9 de Julio de 2019, www.gob.mx/siap/articulos/el-cultivo-del-aguacate

Smith C. E. Jr (1966). Archeological evidence for selection in avocado. *Economic Botany* 20: 169-175.

Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1995). Biometry, 3rd edn. New York: Freeman. ISBN 0 7167 2411 1

Spencer, J. P. E., & Crozier, A. (2012). Flavonoids and Related Compounds. doi:10.1201/b11872

Stahl, W., Schwarz, W., & Sies, H. (1993). Human Serum Concentrations of all-trans β- and α-Carotene but Not 9-cis β-Carotene Increase upon Ingestion of a Natural Isomer Mixture Obtained from *Dunaliella salina* (Betatene). *The Journal of Nutrition*, 123(5), 847–851. doi:10.1093/jn/123.5.847

Trifunović, S., A. Topalović, M. Knežević and V. Vajs. (2015). Free radicals and antioxidants: Antioxidative and other properties of Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. cicla). *Agriculture and Forestry* 61(2): 73-92.

Valadez Moctezuma, E. & Kahl, G. (2000). Huellas de DNA en Genomas de Plantas (Teoría y Protocolos de Laboratorio). Mundiprensa. D. F., México. 182 p

Vauzour, D., & Vafeiadou, K. (2012). Flavonoids and Neuroinflammation. *Flavonoids and Related Compounds*. doi:10.1201/b11872-17

Walle, T. (2012). Flavonoids and Oral Cancer. *Flavonoids and Related Compounds*. doi:10.1201/b11872-19

Wills, C. (1980). Genetic Variability. NewYork: Oxford University Press.

Whiley, A.W., Schaffer, B. & Wolstenholme, B.N. (2002). The Avocado Botany, Production and Uses; CABI Publishing: New York, p 416.

Wolfe, A. D., Xiang, Q.-Y., & Kephart, S. R. (1998). Assessing hybridization in natural populations of Penstemon (*Scrophulariaceae*) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*, 7(9), 1107–1125. doi:10.1046/j.1365-294x.1998.00425.x

Wu, X. (2013). Antioxidant Activities of Anthocyanins. *Anthocyanins in Health and Disease*, 141–164. doi:10.1201/b15554-6

Yan, L. & Gehring, J. (2003). "Genetic Variability and its Ecological Implications in the Clonal Plant Carex scopulurum Holm. In Colorado Tundra". *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*. 35 (35.4): 429–433. doi:10.1657/1523-0430(2003)035[0429:GVAIEI]2.0.CO;2

Xu, B. J., Yuan, S. H., & Chang, S. K. C. (2007). Comparative Studies on the Antioxidant Activities of Nine Common Food Legumes against Copper-Induced Human Low-Density Lipoprotein Oxidation In Vitro. *Journal of Food Science*, 72(7), S522–S527. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00464.x

Zabicky, J. (2003). Analytical Aspects of Phenolic Compounds. *The Chemistry of Phenols*, 909–1014. doi:10.1002/0470857277.ch13

Zafar, T., & Sidhu, J. S. (2011). Avocado: Production, Quality, and Major Processed Products. *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*, 525–543. doi:10.1002/9780470958346.ch26

3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y FISIOLÓGICA DE FRUTOS DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*) [3]

3.1. Resumen

En México existen variedades nativas de aguacate que se comercializan y consumen a nivel regional; sin embargo, no existen datos oficiales de producción, consumo y distribución. De igual forma, existen escasos reportes de sus características físicas y comportamiento fisiológico en postcosecha. Tal desconocimiento resulta en la pérdida de genotipos que podrían ser de interés para el consumo en fresco o para las industrias agroalimentarias y cosméticas. El objetivo de este trabajo fue evaluar las características físicas y fisiológicas en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano en madurez de consumo. Se evaluó tamaño, peso, porcentaje de piel, pulpa y semilla; se determinó el color de la pulpa y la piel con un colorímetro HunterLab. Los patrones de respiración y de emisión de etileno se determinaron en un cromatógrafo de gases. Se presentaron valores de 6.69 a 10.60 cm de longitud y de 4.75 a 6.18 cm de diámetro; el peso de los frutos fue de 76.77 a 143.53 g, los cuales corresponden de 50.33 a 80.81 % de pulpa, de 16.68 a 34.12 % de semilla y de 2.31 a 4.13 % de piel; los frutos presentaron colores similares, con tonalidades verde-amarillas en la pulpa y oscuras en la piel; la pérdida de peso acumulada durante postcosecha fue de 7.32 a 11.69 %. El patrón de respiración fue característico para frutos climatéricos y la tasa de respiración máxima se presentó al tercer y cuarto día de almacenamiento con valores de 174.73 y 262.70 mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$. La máxima emisión de etileno fue de 44.25 a 86.65 µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$ y se presentó al tercer día en la mayoría de las accesiones. Existe una variabilidad muy alta en las características físicas y fisiológicas de los frutos evaluados. Estos resultados sugieren una ventaja en la selección de genotipos nativos para el mejoramiento y selección de nuevas variedades comerciales.

Palabras claves: Aguacate nativo, patrón de respiración, color, maduración

---

[3] Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García

3.2. Abstract

Physical and physiological characterization of fruits of mexican criollo avocado (*Persea americana* var. *drymifolia)* [4]

In Mexico there are criollo avocado varieties that are marketed and consumed at the regional level, however, there are no official data on production, consumption and distribution, in the same way, there are few reports of their physical characteristics and physiological behavior in postharvest, such lack information results in the loss of genotypes that could be of interest for fresh consumption or for the agri-food and cosmetic industries. The objective of this work was to evaluate the physical and physiological characteristics in fruits of 12 accessions of Mexican Criollo avocado in consumption maturity. Size, weight, percentage of skin, pulp and seed were evaluated; the color of the pulp and the skin was determined with a HunterLab colorimeter and the respiration and maturation pattern were determined on a gas chromatograph. Values of 6.69 to 10.60 cm the longitud and 4.75 to 6.18 cm in the diameter were recorded; fruit weight was 76.77 to 143.53 g, which correspond to 50.33 to 80.81 % of pulp, 16.68 to 34.12 % of seed and 2.31 to 4.13 % of skin. Fruit presented similar colors, with green-yellow tones in the pulp and dark in the skin; The accumulated weight loss was 7.32 to 11.69 %. The respiration pattern was characteristic for climacteric fruits and the maximum respiration rate occurred on the third and fourth day of storage with values of 185.9 to 266.41 mL of CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$. The maximum ethylene emission was 44.25 to 86.65 µL of C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$ and was recorded on the third day in most accessions. There was a very high variability in the physical and physiological characteristics of the evaluated fruit which suggest an advantage for the selection of criollo genotypes for the improvement and selection of new commercial varieties.

Keywords: Criollo avocado, respiration pattern, color, ripening

[4]Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García

3.3. Introducción

El aguacate cv. Hass ha tenido una gran aceptación por los consumidores de todo el mundo, principalmente por su sabor y su aporte nutricional (Narain, Bora, Rocha & Queiroz, 2001; Ortiz-Moreno *et al*., 2003). Además, sus propiedades hortofrutícolas han permitido desarrollar sistemas tecnológicos para su comercialización y distribución de manera eficiente en todo el mundo. En México también existe una gran diversidad de aguacates criollos que se han consumido en las comunidades rurales y urbanas del centro y sur de México desde tiempos prehispánicos; sin embargo, han quedado rezagados en cuanto a los sistemas tecnológicos para una eficiente comercialización (Sagrero-Nieves y Bartley, 1995; Sánchez-Perez, 1999).

El aguacate criollo de raza mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*) se distribuye en la mayor parte del territorio mexicano, existen frutos de diferentes tamaños, pesos, formas y colores (Sánchez-Perez, 1999). Sin embargo, es un fruto subutilizado debido a que su piel delgada y alta perecibilidad lo convierten en un producto susceptible a daños biológicos y mecánicos; además de dificultar su manejo, transporte y comercialización. En adición, no existe una cultura sobre el consumo de esta variedad en las zonas urbanas; los frutos se consumen y comercializan casi de manera exclusiva en las zonas rurales de producción (Fiedler, Bufler y Bangerth, 1998). Lo anterior ha causado que los productores opten por sustituir los cultivos de aguacate criollo por variedades comerciales de mayor valor económico, ocasionando una rápida desaparición de genotipos (Torres-Gurrola, Montes-Hernández & Espinosa-García, 2009).

En cuanto a su aporte nutricional, Corrales-García *et al*. (2019) reportaron que los frutos de aguacate criollo mexicano contienen ácidos mono y poliinsaturados, metabolitos relacionados con una buena salud cardio-vascular y una alta concentración de compuestos antioxidantes en la pulpa y piel de este tipo de

frutos. Otras investigaciones recomiendan el consumo de este tipo de frutos porque se les han atribuido propiedades anticancerígenas (Flores-Álvarez *et al*., 2018; Guzmán-Rodríguez *et al*., 2016).

En otro contexto, la comercialización de los frutos de aguacate depende en gran medida de las características físicas de los mismos, puesto que el tamaño, firmeza, homogeneidad en el color, entre otras características, se toman en cuenta en el trasporte, almacenamiento y uso final previsto. Además, las características físicas como el tamaño, el color y la apariencia general están estrechamente ligadas a la calidad del producto; un producto hortofrutícola debe ser fácil de cosechar, tener un rendimiento alto, una buena apariencia, y soportar el envío a mercados distantes (Kader, 2000).

Por otra parte, las características fisiológicas de los frutos están estrechamente relacionadas con la vida de anaquel, en este sentido, los frutos de aguacate son de naturaleza climatérica, por lo que sus funciones metabólicas y fisiológicas continúan durante la etapa de postcosecha (Blanke & Whiley, 1995). Una elevada tasa de respiración y de maduración se traduce en una pérdida en atributos de calidad y una pérdida irreversible en la textura de la pulpa dificultando lamanipulación durante las etapas de trasporte y comercialización, lo que reduce la vida de anaquel de los frutos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Por lo tanto, es importante conocer el comportamiento fisiológico de los frutos para establecer un manejo adecuado durante la etapa de postcosecha.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar las propiedades físicas (peso, tamaño, color, proporción de pulpa, piel y semilla) y fisiológicas (patrón de respiración y emisión de etileno) en accesiones de frutos de aguacate criollo mexicano para determinar el potencial hortícola de cada accesión.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Material vegetal

Se realizó una recolecta de frutos sanos y de características homogéneas en madurez fisiológica de diferentes accesiones de aguacate criollo mexicano

(*Persea americana* var. *drymifolia*) en el estado de Puebla. Las muestras fueron nombradas con una clave según el lugar y orden de recolección; la accesión Hua-1 se recolectó en el municipio de Huaquechula, las accesiones Atl-1, Atl-2, Atl-3, Atl-4 y Atl-5 en el municipio de Atlixco, las accesiones Toch-1, Toch-2 y Toch-3 en el municipio de Tochimilco y las accesiones Smie-1, Smie-2 y Smie-3 en el municipio de San Miguel Tecuanipa. En el Cuadro 10 se mencionan las características climáticas de cada municipio.

Cuadro 10. Características climáticas de las zonas de recolecta de frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en el estado de Puebla, México.

Municipio	Tipo de clima	Temperatura media (°C)	Precipitación (mm al año)	Altitud (m)
Huaquechula	Cwb	26.5	734	1586
Atlixco	Cwb	19.4	882	1848
Tochimilco	Cwb	17.7	981	2078
San Miguel Tecuanipa	Cwb	16.1	1146	2292

*Cwb: Templado con invierno seco según el sistema Köppen-Geiger

3.4.2. Caracterización física

La medición de tamaño, peso y proporcionalidad de piel, semilla y pulpa se realizó cuando los frutos alcanzaron la madurez de consumo de acuerdo con los descriptores físicos y morfológicos para fruto de aguacate del International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 2000). El tamaño e índice de forma se determinaron con las variables: longitud y diámetro del fruto (cm) con la ayuda de un pie de rey. Con los datos obtenidos se calculó el índice de forma (relación longitud / diámetro). Para los valores de peso (g) se utilizó una balanza de precisión (ADP 1200 L, ADAM, EUA), se tomaron datos del peso total del fruto, así como de sus componentes por separado (pulpa, piel y semilla).

El color se determinó con un colorímetro MiniScan XE Plus (HunterLab, serie 5348, EE. UU.). Las lecturas se tomaron en el exocarpio (piel) y la parte central del mesocarpio (pulpa) del fruto. El equipo reportó los valores de L*(luminosidad), a* y b*, los dos últimos se utilizan para calcular el índice de saturación de color

(C) y el ángulo de tono (Hº) de acuerdo a las siguientes fórmulas propuestas por McGuire, (1992): $C = (a^{*2} + b^{*2})^{½}$ y $H° = \arctan(b^*/a^*)$.

3.4.3. Caracterización fisiológica

Se cuantificó la tasa de respiración y producción de etileno durante cinco días después de la cosecha (temperatura y humedad relativa de 20 ± 2 °C y 60 %, respectivamente) sin llegar a la sobre maduración ni senescencia de los frutos en un sistema estático propuesto por Mendoza-Wilson y Báez-Sañudo, (2000). Se colocaron frutos de peso conocido durante una hora en el interior de un recipiente hermético de volumen de 560 mL al cual se le adaptó un septum. Posteriormente, se extrajo con una jeringa 1 mL de aire del espacio de cabeza para inyectarlo a un cromatógrafo de gases Agilent 7890B, equipado con columna capilar 19094PQO4 (30 m largo, 0.530 mm de diámetro y 40 µm de espesor) y con detectores de ionización de flama y de conductividad térmica. Se usó nitrógeno como gas de arrastre, con un flujo de 32.3 mL min^{-1}. Los flujos de los gases portadores N_2, aire y del H_2 fueron, respectivamente, 25, 499 y 45 mL min^{-1}. El inyector y el detector se mantuvieron a una temperatura de 120 y 180 °C, respectivamente. Se elaboró una curva estándar con diluciones conocidas hechas a partir de un estándar de CO_2 a 12 % para determinar el patrón de respiración y un estándar de etileno a 100.4 µmol mol^{-1} para el patrón de maduración y los resultados se expresaron en mL de $CO_2 \cdot kg^{-1}\ h^{-1}$ y µL de $C_2H_2 \cdot kg^{-1}\ h^{-1}$, respectivamente.

3.4.5. Análisis estadístico

Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar en el que cada accesión fue considerada como un tratamiento, se realizó una comparación de medias (Tukey; $p = 0.05$). Los análisis de realizaron en el programa estadístico Minitab (Minitab Inc., State College, PA, USA). Las variables físicas se midieron por quintuplicado (n = 5) y las variables fisiológicas por triplicado (n = 3).

3.5. Resultados y discusión

3.5.1. Tamaño y peso del fruto

Los frutos de todas las accesiones presentaron diferencias significativas en el peso y en el tamaño, los valores en el peso fluctuaron de 76.77 a 143.53 g (Cuadro 11). Las accesiones Atl-1, Atl-2, Atl-4, Atl-5, Smie-1 y Smie-3 presentaron los valores más altos, estos valores están dentro del intervalo reportado por Sánchez-Pérez. (1999), para frutos de aguacate criollo mexicano (23.9 a 285.4 g); sin embargo, están por debajo de lo reportado por Rodríguez-Carpena *et al*. (2011), para los cultivares. Hass y 'Fuerte' (310.25 y 423.25 g, respectivamente). El mayor peso de las variedades comerciales posiblemente se deba a que éstas han sido seleccionadas y mejoradas con la finalidad de cumplir con los estándares de exportación. En los frutos de aguacate el peso es una de las propiedades más relevantes durante el proceso de comercialización. En las variedades comerciales los frutos son seleccionados de acuerdo a su peso y tamaño para formar categorías y fijar el precio. Sin embargo, se ha reportado que en los frutos de aguacate de menor peso y tamaño se tiende a tener una concentración más alta de compuestos antioxidantes, lo que supone una ventaja para los aguacates criollos mexicanos (Wang, Zheng, Khuong & Lovatt, 2016).

Cuadro 11. Características físicas de frutos de 12 accesiones aguacate criollo mexicano.

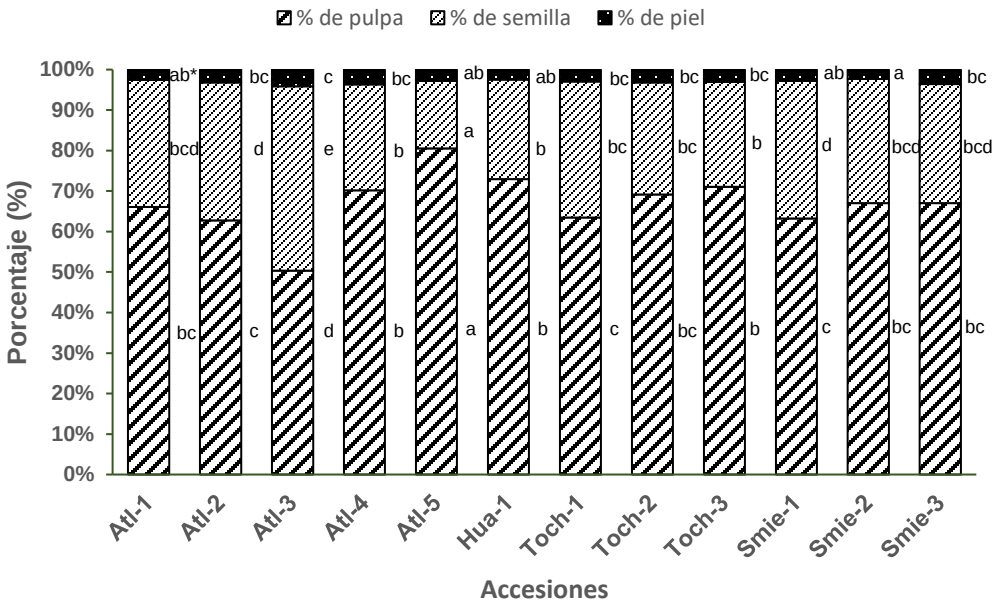
Accesión	Peso del fruto (g)	Longitud (cm)	Diámetro (cm)	Índice de forma
Atl-1	136.27±36.95 ab*	8.31±3.20 c	5.58±1.53 abc	1.75±0.17 bcd
Atl-2	99.47±25.50 abc	6.69±2.39 d	5.73±1.25 abc	1.17±0.05 e
Atl-3	95.27±18.68 bc	8.87±0.41 bc	6.12±0.11 ab	1.45±0.06 cde
Atl-4	139.37±8.64 ab	8.10±0.45 cd	6.18±0.64 a	1.31±0.07 de
Atl-5	143.53±2.38 a	10.60±0.80 a	6.07±0.19 ab	1.74±0.08 ab
Hua-1	79.50±9.83 c	8.94±0.30 bc	4.91±0.33 c	1.82±0.13 a
Toch-1	81.30±2.19 c	8.93±0.31 bc	4.83±0.21 c	1.85±0.10 a
Toch-2	95.9 ±6.85 bc	7.97±0.13 cd	4.92±0.33 c	1.62±0.08 abc
Toch-3	76.77±5.26 c	7.81±0.03 cd	4.75±0.15 c	1.650.06± abc
Smie-1	113.43±9.36 abc	8.93±0.93 bc	5.31±0..05 abc	1.68±0.16 abc

Smie-2	94.43±12.27 bc	8.44±0.47 bc	5.11±0.18 bc	1.64±0.03 abc
Smie-3	98.8±4.49 abc	9.86±0.73 ab	5.50±0.56 abc	1.79±0.07 a

*Medias con letra diferente entre columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$), (media± desviación estándar, n = 5)

Los frutos presentaron valores de longitud de 6.69 a 10.60 cm y en el diámetro de 4.75 a 6.18 cm. Estos valores indican una variabilidad muy alta en el tamaño de los frutos, en adición, los frutos son más alargados que anchos con valores en el índice de forma de 1.31 a 1.85, a excepción del genotipo Atl-2 qué presentó un índice de forma de 1.17, lo cual indica que es un fruto redondo, lo cual no están aceptado comercialmente.

Los frutos evaluados tuvieron diferencias significativas en la proporción de pulpa, semilla y piel. Los frutos presentaron intervalos de 50.33 a 80.81 % de pulpa, de 16.68 a 34.12 % de semilla y de 2.31 a 4.13 % de piel. La accesión Atl-5 destacó por tener un alto porcentaje de pulpa (80.81 %) una característica deseable para el consumidor. En los frutos se observó en general una relación negativa entre la proporción de la pulpa y la semilla en todas las accesiones (Figura 7).



*Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, p=0.05).

Figura 7. Porcentaje de pulpa, semilla y piel en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano.

Para los cultivares Hass y Fuerte, los porcentajes de pulpa que se reportan son de 75.6 y 68.7 %, respectivamente, mientras que para el porcentaje de semilla los valores reportados son 13.04 y 23.65, respectivamente (Rodríguez-Carpena *et al*., 2011). En este trabajo, el porcentaje de pulpa que presentaron los frutos de las accesiones Atl-4, Atl-5, Hua-1, Toch-2 y Toch-3 un poco mayor que el reportado para las variedades comerciales, esta característica podría ser considerada para seleccionar y mejorar variedades de aguacate criollo.

El porcentaje de piel de todas las accesiones evaluadas, en general fue inferior a lo reportado para los cultivares Hass y Fuerte (11.10 y 7.5 %, respectivamente) (Rodríguez-Carpena *et al*., 2011). Este bajo porcentaje de piel de frutos de aguacate criollo ha permitido que el fruto se pueda consumir sin la necesidad de quitársela, de hecho, estos frutos se han consumido tradicionalmente con piel desde tiempos prehispánicos, entre otras cosas porque esta piel, lejos de tener un sabor amargo más bien es agradable. Sin embargo, el hecho de que la piel de frutos de aguacate criollo en general sea tan delgada, representa una desventaja para el manejo postcosecha de estos frutos, porque favorece daños biológicos y mecánicos (Zamora-Magdaleno, Cárdenas-Soriano, Cajuste-Bontemps y Colinas-León, 1999).

Los frutos de aguacate criollo mexicano que se caracterizaron en este trabajo presentaron una variación muy alta en los descriptores físicos evaluados (peso, tamaño y proporcionalidad de pulpa, semilla y piel), esto se explica en gran medida porque el aguacate se considera una especie polimorfa, es decir, muchos de sus caracteres físicos (dimensión de la hoja, tamaño del fruto, coloración del epicarpio, entre otros) son muy variables (Calabrese, 1992). El elevado polimorfismo y gran diversidad de tamaños de los frutos del aguacate criollo, aún de un mismo árbol (Sánchez-Pérez, 1999), se ve favorecido también por ser el aguacate una especie de polinización abierta (Bergh, 1992).

3.5.2. Parámetros de color en pulpa y piel.

Los valores de L* y *Chroma* en la piel fueron bajos (12.52- 14.48 y 0.49-2.31, respectivamente), lo que corresponde a colores oscuros (McGuire, 1992)

(Cuadro 12). Los valores de *Hue* en la piel fluctuaron entre 320.68 y 352.21° y refieren a tonalidades azules y púrpuras que han sido relacionadas con la presencia de antocianinas (Corrales *et al*., 2019). Los valores de *Hue* en la pulpa presentaron una variación baja (91.99 a 99.4°), estos valores corresponden a tonalidades amarillas y verdes, posiblemente por la presencia de pigmentos como clorofilas, flavonoides y carotenoides, deseables por tener actividad antioxidante. El color forma parte de la apariencia general y es uno de los atributos que causan la primera impresión en el consumidor e influye en su aceptación y eventualmente en su compra, por su relación con la percepción de madurez y frescura del fruto, en este sentido, los frutos de aguacate criollo, destacan por sus variados y atractivos colores en la piel debido a la acumulación de flavonoides como las antocianinas que se acumulan durante la maduración, lo que contribuye de manera positiva en su apariencia general y representa una ventaja al momento de comercializarlos (Bouzayen, Latché, Nath y Pech, 2010; Dobrzański & Rybczyński, 2008).

Cuadro 12. Parámetros de color en pulpa y piel (L*, *Hue* y *Chroma*) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano en madurez de consumo.

	Piel			Pulpa		
Accesión	L*(%)	*Chroma*	*Hue* (°)	L*(%)	*Chroma*	*Hue* (°)
Atl-1	14.07 bc*	2.21 c	334.53 a	35.29 ab	11.14 ab	98.53 ab
Atl-2	13.42 abc	2.31±0 c	334.24 a	28.23 a	13.09 ab	99.40 b
Atl-3	13.31 abc	0.86 ab	352.21 a	28.96 ab	9.68 a	93.39 ab
Atl-4	13.12 c	1.30 abc	326.60 a	28.53 a	10.38 ab	92.31 a
Atl-5	12.51 a	0.73 ab	333.99 a	29.56 ab	13.41 ab	94.9 ab
Hua-1	14.48 c	1.95 bc	320.68 a	31.00 ab	11.31 ab	93.33 ab
Toch-1	12.87 ab	0.55 a	336.78 a	30.64 ab	10.91 ab	94.54 ab
Toch-2	12.83 a	1.08 abc	347.05 a	28.65 ab	12.37 ab	98.01 ab
Toch-3	12.72 a	0.89 ab	345.37 a	37.54 b	14.39 b	93.00 ab
Smie-1	13.35 abc	0.49 a	335.57 a	30.85 ab	12.96 ab	93.15 ab
Smie-2	13.54 abc	0.89 ab	344.75 a	34.70 ab	13.25 ab	93.83 ab
Smie-3	13.12 ab	0.66 a	352.21 a	30.19 ab	10.89 ab	91.99 a

*Medias con la misma letra en de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey; $p \leq 0.05$, n = 5)

3.5.3. Pérdida de peso

Las accesiones presentaron diferencias significativas en la pérdida acumulada de peso y fluctuó entre 7.32 y 11.69 % (Cuadro 13). Los valores son considerablemente más bajos que los reportados por Márquez, Yepes, Sánchez y Osorio, (2014), quienes reportaron una pérdida de peso acumulada de 23 % en frutos de aguacate cv. 'Hass' a los 21 días de almacenamiento; sin embargo, en esta investigación solo se evaluó la pérdida de peso durante cinco días, sin llegar a la sobremaduración ni senescencia de los frutos. La accesión Atl-5 y las accesiones colectadas en el municipio de Tochimilco (Toch-1, Toch-2, Toch-3) presentaron los valores más bajos, lo que sugiere que las condiciones medioambientales donde se desarrollaron los frutos podrían influir en la pérdida de peso durante la cosecha. Al respecto, Moreno-Velásquez *et al.* (2017) reportaron diferencias en las pérdidas de peso entre frutos producidos a diferentes altitudes.

Cuadro 13. Pérdida de peso acumulada durante cinco días de almacenamiento bajo condiciones ambientales (21 °C y 60 % HR) de frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano.

Accesión	Pérdida de peso acumulada
Atl-1	11.49±0.10 a*
Atl-2	9.36±0.49 bcd
Atl-3	10.48± 0.36 ab
Atl-4	11.69±0.28 a
Atl-5	8.56±0.09 cde
Hua-1	10.60±0.35 ab
Toch-1	7.32±0.18 e
Toch-2	8.23±0.09 de
Toch-3	8.69±0.08 cde
Smie-1	10.04±0.22 abc
Smie-2	11.40±0.87 a
Smie-3	10.71±0.21 a

*Valores con la misma letra dentro de la misma columna son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$), (media ± D. E.).

La pérdida de peso mantuvo un comportamiento continuo durante los cinco días de almacenamiento y presentaron una pérdida de peso más pronunciada en el segundo y tercer día (Figura 6). La accesión Atl-4 presentó el valor más alto

desde el primer día y mantuvo la misma tendencia hasta el último día de evaluación, por otra parte, la accesión Toch-1 presentó el valor más bajo y mantuvo la misma tendencia durante todos los días de almacenamiento. El comportamiento en la pérdida de peso de todas las accesiones coincide con lo reportado por López-López y Cajuste-Bontemps, (1999) y Moreno-Velásquez *et al.* (2017), para frutos de aguacate 'Hass' almacenados en condiciones similares, quienes reportaron una pérdida de peso continua y de mayor intensidad durante los primeros días.

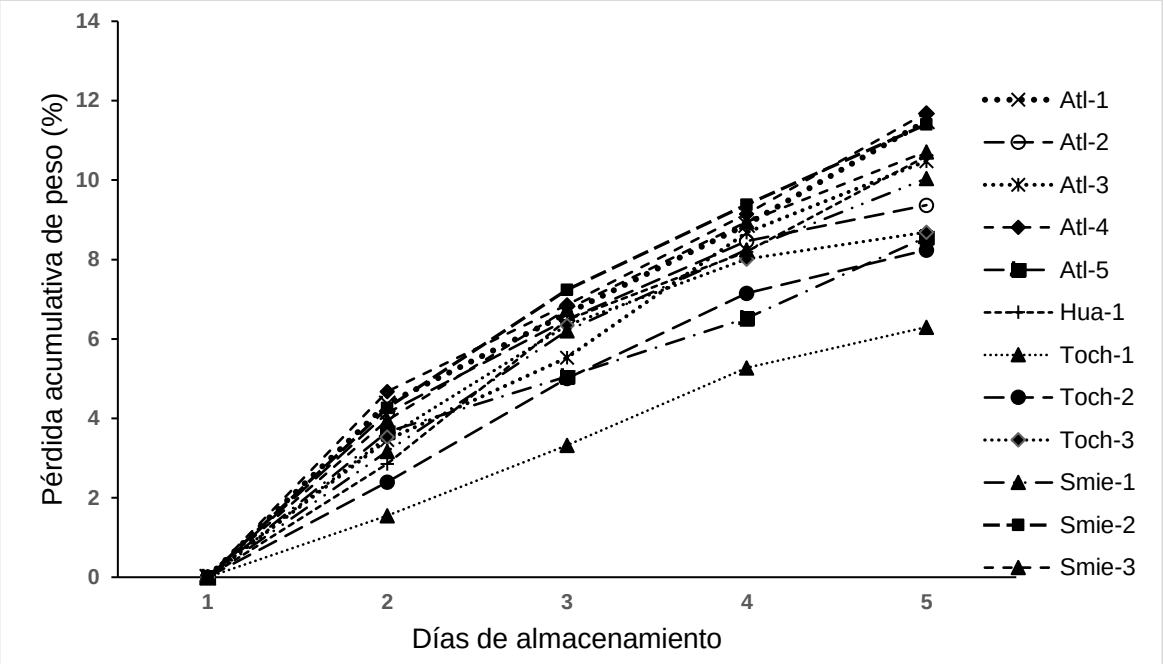


Figura 6. Pérdida de peso acumulada durante cinco días de almacenamiento bajo condiciones ambientales (21 °C y 60 % HR) de frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano.

La pérdida de peso se ve afectada por las condiciones de humedad relativa y temperatura de almacenamiento (Cajuste, Saucedo y Colinas,1994; Herrera-González, Salazar-García, Gutiérrez-Martínez y González-Duran, 2013). Sin embargo, los frutos de todas las accesiones se almacenaron en iguales condiciones de temperatura y humedad relativa por lo que la diferencia en la pérdida de peso entre las accesiones posiblemente se deba a factores morfoanatómicos como: la cantidad y tipo de cutina de la epidermis, la cantidad

de estomas y lenticelas por milímetro cuadrado (Díaz-Pérez, 2019; Dietz *et al*., 1989; Yahia, 2019).

3.5.4. Patrón de respiración

El patrón de respiración de los frutos de las accesiones evaluadas presentó el comportamiento típico de los frutos climatéricos (Kader, 2007). La máxima tasa de respiración se presentó al tercer día en la mayoría de las accesiones con valores que fluctuaron entre 174.73 y 262.70 mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$, con excepción de Atl-2 que presentó su máxima tasa de respiración al cuarto día de almacenamiento y Hua-1 que presentó su máxima tasa de respiración en el segundo día de almacenamiento (Figura 8), esto afecta directamente la vida de anaquel debido a que, como se sabe, los frutos que presentan la máxima tasa de respiración en los primeros días de cosecha generalmente llegaran a la etapa de senescencia más rápido (Figura 8).

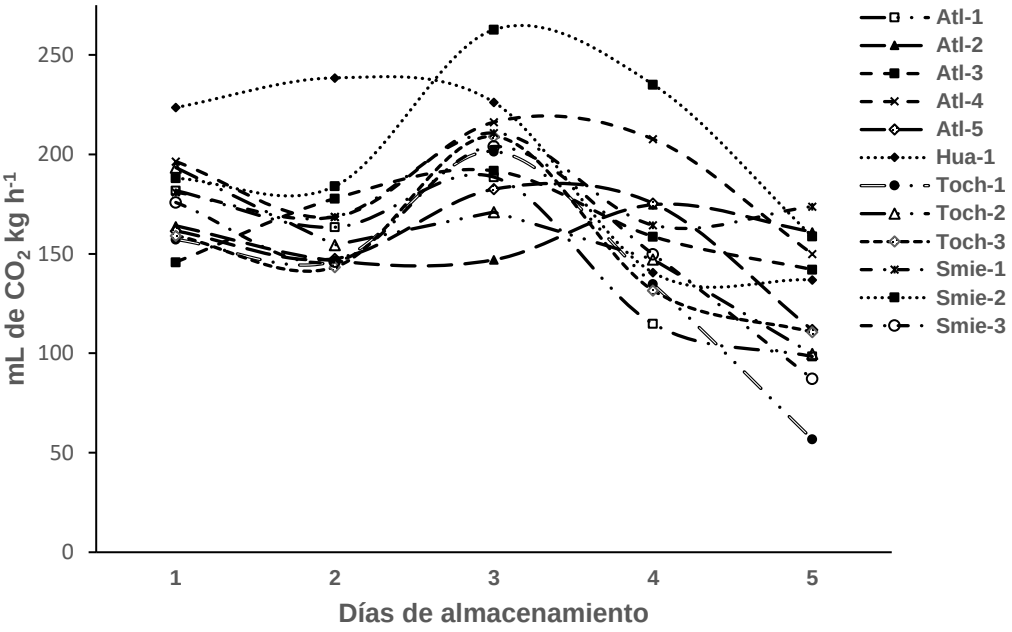


Figura 8. Patrón de respiración (mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano almacenados por 5 d a una temperatura y humedad relativa de 25 °C y 70 %, respectivamente.

Los valores del máximo climaterio presentaron una notable diferencia entre las accesiones, la accesión Smie-2 presentó el valor más alto, mientras que el valor

más bajo lo presentó la accesión Atl-2. Además, se observó una tendencia en los frutos recolectados en San Miguel Tecuanipa a presentar una tasa de respiración más elevadas que el resto de las accesiones lo que implica un metabolismo más acelerado y por lo tanto una menor vida de anaquel. Los valores obtenidos en la tasa de respiración fueron más elevados que lo reportado para el cv. Hass, el cual presenta una tasa de respiración máxima de 166 mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$ al primer día de almacenamiento (Taylor *et al*., 2016). En otra investigación Pérez *et al*. (2004), reportaron para frutos de aguacate 'Hass' almacenados a 20 ° C (de 40 a 150 mL de CO_2 $kg^{-1}h^{-1}$). En general, los frutos de aguacate criollo mexicano estudiados presentaron tasas de respiración superiores en aproximadamente un 57 %, a los valores reportados para frutos de otras variedades de aguacate, esto en gran parte, explica su alto grado de perecibilidad y corta vida de anaquel.

3.5.5. Patrón de emisión de etileno

La máxima emisión de etileno se presentó al tercer día en la mayoría de las accesiones excepto en las accesiones Hua-1 y Atl-2, que presentaron su máxima emisión de etileno al segundo y cuarto día respectivamente (Figura 9). Se observa una coincidencia lógica de la máxima emisión de etileno y la máxima tasa de respiración en el día 2 y en el día 4 para las mismas accesiones (Hua-1 y Atl-2). Además, la emisión de etileno fue mayor en los frutos de la accesión Hua-1 que en los de la accesión Atl-2 y justamente, los frutos de la accesión Hua-1 presentaron mayor tasa respiratoria en el máximo climatérico que los frutos de Atl-2. Esto que indica que a mayor etileno producido la tasa respiratoria es mayor en el máximo climatérico, este comportamiento fisiológico ha sido reportado anteriormente por Cheng et. (2017) en frutos de aguacate. En adición, Hershkovitz *et al* (2010) reportaron que el aumento de la respiración del fruto es consecuencia de un aumento anterior en la concentración de etileno, además, el incremento de etileno también induce otra serie de reacciones fisiológicas que demandan más energía para impulsar el proceso de maduración del fruto.

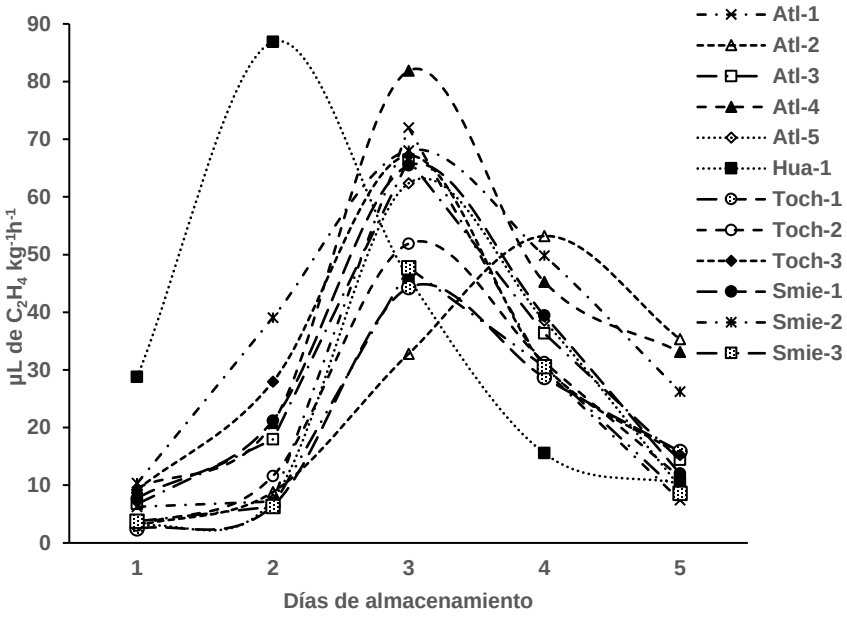


Figura 9. Patrón de emisión de etileno (µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$) en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano almacenados por 5 d a una temperatura y humedad relativa de 25 °C y 70 %, respectivamente.

La mayoría de las accesiones presentó la máxima emisión de etileno al tercer día de postcosecha lo que coincide con lo reportado por Ibarra-Laclette *et al*. (2015), quienes reportaron que para frutos de aguacate criollo mexicano la máxima producción de etileno se presenta al tercer día. En contraste, los frutos de aguacate 'Hass' presentan su máxima producción de etileno entre los días 8 y 10 (Herrera-González, Salazar-García, Martínez-Flores & Ruíz-García, 2017; Lallum, 2004). Los valores de máxima producción de etileno se fluctuaron en un intervalo de 44.25 a 86.65 µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$, que son comparables con los valores reportados para 'Hass' por Lallum, (2004) (50 µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$). Sin embargo, todos los valores fueron inferiores a lo reportado por Herrera-González *et al*. (2017) y Prabath *et al*. (2013), quienes reportan un valor de 100 µL de C_2H_4 $kg^{-1}h^{-1}$ para frutos de 'Hass', por lo que la alta perecibilidad de los frutos de aguacate criollo mexicano en esta investigación no debe atribuirse solo a la acción del etileno, sino a un efecto combinado en conjunto con las características morfoanatómicas de los frutos (Díaz-Pérez, 2019; Dietz *et al*., 1989; Yahia, 2019)

El etileno es considerado como la hormona de la maduración y es responsable de iniciar un gran número de eventos que conducen a la maduración en los frutos

climatéricos. Herrera-González *et al.* (2017) reportaron que tanto la producción de CO_2 como la producción de etileno en los aguacates dependen del porcentaje de materia seca, presentándose con mayor intensidad en frutos con menor porcentaje de materia seca. En los últimos años se han realizado diversas investigaciones en las que se ha logrado retrasar la maduración de frutos de aguacate al combinar diferentes tecnologías postcosecha como el uso de atmosferas controladas, frigoconservación y el uso de reguladores de crecimiento como ácido abscísico y 1-metil ciclopropeno (Meyer, Chope y Terry, 2017; Prabath *et al*., 2013)

3.6. Conclusiones

Las accesiones de aguacate criollo mexicano presentaron diferencias significativas en los parámetros físicos y fisiológicos evaluados, la accesión Atl-5 destaca por su alto porcentaje de pulpa, bajo porcentaje de semilla y baja pérdida de peso, y las accesiones Atl-2 y Toch-2 como las accesiones que presentan la menor tasa de respiración y por lo cual tendrían mayor vida de anaquel. Esto representa una gran oportunidad para elegir las accesiones con mejor potencial hortícola para la creación o mejoramiento de nuevas variedades, así como para desarrollar una mejor y adecuada tecnología de manejo postcosecha Por otra parte, las accesiones de aguacate criollo analizadas presentaron tasas de respiración superiores a los reportados para las variedades comerciales como 'Hass' y ‘Fuerte’, que en parte explica la alta perecibilidad que en general presentan los aguacates criollos.

3.7. Referencias

Blanke, M. M., & Whiley, A. W. (1995). Bioenergetics, Respiration Cost and Water Relations of Developing Avocado Fruit. *Journal of Plant Physiology*, 145(1-2), 87–92. doi:10.1016/s0176-1617(11)81852-3

Cajuste, B., Saucedo, V. y Colinas, L. (1994). Comportamiento poscosecha de fruto de aguacate (cv Hass) en función de la época de corte. *Revista Fitotecnia Mexicana*.17(1): 94-102.

Chen, J., Liu, X., Li, F., Li, Y., & Yuan, D. (2017). Cold shock treatment extends shelf life of naturally ripened or ethylene-ripened avocado fruits. *PLOS ONE*, 12(12), e0189991. doi:10.1371/journal.pone.0189991

Corrales-García, J. E., del Rosario García-Mateos, M., Martínez-López, E., Barrientos-Priego, A. F., Ybarra-Moncada, M. C., Ibarra-Estrada, E.& Becerra-Morales, D. (2019). Anthocyanin and Oil Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*. doi:10.1007/s11130-019-00721-1

Fiedler, J., Bufler, G., & Bangerth, F. (1998). Genetic relationships of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica*, 101(2), 249–255. https://doi.org/10.1023/A:1018321928400

Giovannoni, J. J. (2004). Genetic regulation of fruit development and ripening. *The plant cell*. 16(1): S170-S180.

Guzmán-Rodríguez, J. J., López-Gómez, R., Salgado-Garciglia, R., Ochoa-Zarzosa, A., & López-Meza, J. E. (2016). The defensin from avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*) PaDef induces apoptosis in the human breast cancer cell line MCF-7. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 620–627. doi:10.1016/j.biopha.2016.05.048

Herrera-González, J.A., Salazar-García, S., Gutiérrez-Martínez P., González-Durán, I.J.L. (2013). El comportamiento poscosecha de frutos de aguacate 'Hass' influenciad por el portainjerto. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(1):19-32

Herrera-González, J. A., Salazar-García, S., Martínez-Flores, E., & Ruiz-García, J. E. (2017). Indicadores preliminares de madurez fisiológica y comportamiento postcosecha del fruto de aguacate Méndez. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(1)

Ibarra-Laclette, E., Méndez-Bravo, A., Pérez-Torres, C. A., Albert, V. A., Mockaitis, K., Kilaru, A., … Herrera-Estrella, L. (2015). Deep sequencing of the Mexican avocado transcriptome, an ancient angiosperm with a high content of fatty acids. *BMC Genomics*, 16(1). doi:10.1186/s12864-015-1775-y

Kader, A. A. (2000). Quality of horticultural products. *Acta Horticulturae*, (518), 15–18. doi:10.17660/actahortic.2000.518.1

Kader, A. A. (2007). Cap. 4. Biología y Tecnología Postcosecha: Un Panorama. p. 45-54. En: Adel A. Kader, Editor Técnico; Clara Pelayo-Zaldivar, Coordinadora de la Traducción. Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas, 3era. Ed. Universidad de California.

Lallum, N. 2004. Role of water loss in ripening of 'Hass' avocados. *New Zealand Avocado Growers Association Annual Research Report*. 4: 70-79.

Márquez, C. J., Yepes, D. P., Sánchez, L., & Osorio, J. A. (2014). Cambios físico-químicos del aguacate (*Persea americana* Mill. cv. "Hass") en poscosecha para

dos municipios de Antioquia. *Temas Agrarios*, 19(1), 32. doi:10.21897/rta.v19i1.723

McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. doi:10.21273/hortsci.27.12.1254

Mendoza-Wilson, A. M. & Báez-Sañudo, R. (2000). Medición de la tasa respiratoria por sistema cerrado en melón cantaloupe. *Horticultura Mexicana*. 8(2):158-163.

Meyer, M. D., Chope, G. A., & Terry, L. A. (2017). Investigation into the role of endogenous abscisic acid during ripening of imported avocado cv. Hass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(11), 3656–3664. doi:10.1002/jsfa.822555-63.

Narain, N., Bora, P. S., Rocha, R. V. M. & Queiroz Paulo, M. (2001). Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: 'Fuerte') fruits. *Grasas y Aceites*, 52(3-4). doi:10.3989/gya.2001.v52.i3-4.353

Ortiz-Moreno, A., Dorantes, L., Galíndez, J., & Guzmán, R. I. (2003). Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2216–2221. doi.org/10.1021/jf0207934

Prabath, P.U.A., Sekozawa, Y., Sugaya, S. & Gemma, H. (2013). Changes in lipid oxidation stability and antioxidant properties of avocado in response to 1-MCP and low oxygen treatment under low-temperature storage. *International Food Research Journal*, 20;1065–1075.

Rodríguez-Carpena, J.-G., Morcuende, D., Andrade, M.-J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado *(Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635. doi:10.1021/jf1048832

Sánchez-Perez, J. de la L. (1999). Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill.) y especies afines en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5* (1101), 7–18.

Torres-Gurrola, G., Montes-Hernandez, S., & Espinosa-Garcia, F. J. (2009). Patterns of variation and geographic distribution in foliar chemical phenotypes of *Persea americana* var. *drymifolia*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *32*(1), 19–30.

Wang, M., Zheng, Y., Khuong, T., & Lovatt, C. J. (2016). Developmental differences in antioxidant compounds and systems in normal and small-phenotype fruit of "Hass" avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae,* 206, 15–23. doi:10.1016/j.scienta.2016.04.029

4. COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*)[5]

4.1. Resumen

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un fruto apreciado desde culturas ancestrales principalmente por sus atributos nutricionales; en particular el cv 'Hass' es el más consumido y comercializado a nivel mundial. Sin embargo, en México existen variedades nativas como el aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. drymifolia) que se encuentran subutilizadas, existen escasos reportes del contenido de compuestos fenólicos y propiedades antioxidantes en el fruto. El objetivo de este trabajo fue determinar en frutos de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano el contenido de compuestos antioxidantes (compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos) y la actividad antioxidante por métodos espectrofotométricos. El contenido de compuestos antioxidantes, así como la actividad antioxidante, resultó mayor en la piel que en la pulpa debido principalmente a la presencia de antocianinas. En la pulpa se encontró el contenido mayor de compuestos fenólicos totales y flavonoides (787.45 mg EAG 100 g^{-1} p. f. y 25.70 mg EQ 100 g^{-1} p. f., respectivamente); en la piel los compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos y antocianinas fue 4411.2 EAG 100 g^{-1} p. f., 303.65 EQ 100 g^{-1} p. f., 1691.93 mg EC 100 g^{-1} p. f. y 22.65 mg cianidina-3-glucósido g^{-1}p.f., respectivamente, presentaron los contenidos mayores. La actividad antioxidante de la piel resultó (313.69 mmol ET g^{-1} p.f.) más elevada al valor observado en la pulpa (186.82 mmol ET 100 g^{-1} p.f.). La pulpa de aguacate criollo mexicano contiene compuestos antioxidantes en cantidades comparables a los cultivares comerciales como cv. 'Hass' y 'Fuerte', pero destaca por un contenido superior de compuestos antioxidantes en la piel (compuestos fenólicos, flavonoides, taninos condensados y antocianinas), lo que potencializa a este tipo de fruto como un alimento funcional para consumo humano.

Palabras clave: *Persea americana,* antioxidantes, antocianinas, compuestos fenólicos totales, flavonoides.

[5]Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora: Dra. Ma. Del Rosario García Mateos

4.2 Abstract

Phenolic compounds and antioxidant activity in fruits of mexican criollo avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*)[6]

The avocado (*Persea americana* Mill.) Is a fruit appreciated from ancient cultures mainly for its nutritional attributes; in particular the cv. Hass is the most consumed and marketed worldwide. However, in Mexico there are criollo varieties such as the mexican criollo avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*) that are underused, there are few reports of the content of phenolic compounds and antioxidant properties. In this context, the objective of this work was to determine the content of antioxidant compounds (phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins and tannins) and antioxidant activity by 12 spectrophotometric methods in the fruits of 12 mexican criollo avocado accessions. The content of antioxidant compounds, as well as the antioxidant activity, was higher in the skin than in the pulp, mainly due to the presence of anthocyanins. The highest content of total phenolic compounds and flavonoids was found in the pulp (787.4523 mg EAG 100 g^{-1} f.w. and 25.7 0 mg EQ 100 g^{-1}f.w., respectively); in the skin the total phenolic compounds, flavonoids, tannins and anthocyanins was 4411.2 EAG 100 g^{-1}f.w., 303.65 EQ 100 g^{-1}f.w., 1691.93 mg EC 100 g^{-1} p. F. and 22.65 mg cyanidin-3-glucoside g^{-1}p.f., respectively, presented the highest contents. The antioxidant activity of the skin was (313.69 mmol ET g^{-1}f.w.) higher than the value observed in the pulp (186.82 mmol ET 100 g^{-1}f.w.). The pulp of Mexican criollo avocado contains antioxidant compounds in amounts comparable to commercial cultivars such as cv. Hass and Fuerte, but it stands out for a higher content of antioxidant compounds in the skin (phenolic compounds, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins), which potentializes this type of fruit as a functional food for human consumption.

Keywords: ABTS, antioxidants, anthocyanins, total phenolic compounds, DPPH, flavonoids

---

[6]Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de Tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora: Dra. Ma. Del Rosario García Mateos

4.3. Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una planta de la familia *Lauraceae*, nativa de la parte centro y sur de México, país que también es el principal productor y exportador de aguacate en el mundo (FAOSTAT, 2019). Además, el consumo de este fruto está fuertemente arraigado en todo el territorio nacional (> 10 kg per cápita), es un ingrediente culinario en diversos platillos tradicionales desde tiempos prehispánicos (SIAP, 2019).

El cv. Hass es el más comercializado a nivel mundial en comparación con el aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). Este fruto es una variedad con poca demanda y se comercializa casi exclusivamente de manera regional debido principalmente a las características físico-mecánicas del fruto y su alta perecibilidad; la producción y consumo de este tipo de frutos disminuyó drásticamente con la inserción de nuevos cultivares como el Hass y Fuerte, razón por la cual, actualmente es una variedad subutilizada y su principal uso es como portainjerto (Fiedler *et al*., 1998;Rincón-Hernández *et al*, 2011; Torres-Gurrola *et al*., 2009).

A diferencia de los cultivares comerciales como Hass y Fuerte, el fruto de aguacate criollo mexicano se consume tradicionalmente con piel, aprovechando de manera integral las propiedades nutricionales y nutracéuticas del fruto lo que representa un beneficio adicional para los consumidores. Cabe destacar, que la cantidad de compuestos antioxidantes en los frutos de aguacate, es mayor en la piel que en la pulpa debido a los mecanismos de defensa que se desarrollan en este tipo de tejidos (Antasionasti *et al*., 2012; Corrales-García *et al*., 2019; Kumar & Cambal, 2016).

Existen pocos reportes sobre las propiedades nutricionales y nutracéuticas de los frutos de aguacate criollo mexicano. En los últimos años, el fruto de aguacate ha despertado el interés de los investigadores, por la presencia de ácidos grasos insaturados y carotenoides en la pulpa (Méndez *et al.,* 2019); metabolitos relacionados con una buena salud cardiovascular y protección contra el estrés oxidativo en los consumidores. Corrales-García *et al*. (2019) destacaron el alto contenido de antocianinas y la actividad antioxidante evaluada en la piel. Otras investigaciones reportan actividades antimicrobianas y anticancerígenas atribuidas a metabolitos presentes en la semilla (Lara-Márquez *et al*., 2020; Rodríguez-Guzmán *et al*., 2013). En este contexto, el consumo de este tipo de fruto podría significar un aporte importante en la ingesta de antioxidantes en beneficio de la salud de los consumidores.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos condensados y antocianinas en frutos de aguacate criollo mexicano, con la finalidad de contribuir a la revalorización y demanda de este tipo de fruto por los consumidores ya que es un fruto subutilizado.

4.4. Materiales y métodos

4.4.1. Material vegetal

Se realizó una recolecta de frutos de diferentes accesiones de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en tres municipios productores del estado de Puebla, México. Las muestras fueron nombradas con una clave según el lugar y orden de recolección; la accesión Hua-1 se recolectó en el municipio de Huaquechula, las accesiones Atl-1, Atl-2, Atl-3, Atl-4 y Atl-5 en el municipio de Atlixco, las accesiones Toch-1, Toch-2 y Toch-3 en el municipio de Tochimilco y las accesiones Smie-1, Smie-2 y Smie-3 en el municipio de San Miguel Tecuanipa. En el Cuadro 14 se mencionan las características climáticas de cada municipio.

Cuadro 14. Características climáticas de las zonas de recolecta de frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en el estado de Puebla, México.

Municipio	Accesiones	Tipo de clima	Temperatura media (°C)	Precipitación anual (mm)	Altitud (m)
Huaquechula	Hua-1	Cwb	26.5	734	1586
Atlixco	Atl-1, Atl-2, Atl-3, Atl-4, Atl-5	Cwb	19.4	882	1848
Tochimilco	Toch-1, Toch-2, Toch-3	Cwb	17.7	981	2078
San Miguel Tecuanipa	Smie-1, Smie-2 y Smie-3	Cwb	16.1	1146	2292

*Cwb: Templado con invierno seco según el sistema Köppen-Geiger

Los frutos se recolectaron en madurez fisiológica, sin daños físicos ni enfermedades. Posteriormente, fueron trasladados al Laboratorio de Postcosecha de la Universidad Autónoma Chapingo en donde se lavaron con hipoclorito de sodio (2 % v/v) y se almacenaron a temperatura ambiente (20±2 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.

4.4.2. Materiales químicos

Para la determinación de los compuestos antioxidantes se utilizaron disolventes y reactivos grado analítico. Los reactivos ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, Sigma), Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Sigma), Folin-Ciocalteu, ácido gálico, y quercetina de Sigma (Aldrich, EUA).

4.4.3. Preparación de la muestra

La pulpa y la piel de los frutos se separaron manualmente y se fraccionaron y para su conservación se trataron con inmersión en nitrógeno líquido. A 1 g de cada tejido vegetal se le adicionaron 10 mL de MeOH a 80 % (v/v), se realizó una sonicación por 15 min a temperatura ambiente, el extracto se mantuvo en reposo por 24 h y centrifugó por 10 min a 1409 × *g* para usarse en los ensayos posteriores. (Chang, Yamg, Wen & Chern, 2002).

4.4.4. Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Se tomaron 200 µL del extracto metanólico, preparado previamente, se agregaron 1300 µL de H_2O destilada, posteriormente se agregaron 200 µL del reactivo Folin-Ciocalteu a 10 % v/v se agitó y se incubó por 8 min y finalmente se agregaron 300 µL de una solución de Na_2CO_3 a 20 %, se mantuvo a temperatura ambiente y oscuridad por 2 h. Las lecturas se tomaron en un espectrofotómetro Genesys 10s (Thermoscientific, Florida, EUA) a una longitud de onda de 765 nm. La concentración final se calculó a partir de una curva estándar a base de ácido gálico. El contenido de compuestos fenólicos totales se reportó en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso fresco (mg EAG 100 g^{-1} p.f.) según el método propuesto por Waterman y Mole, (1994).

4.4.5. Cuantificación de flavonoides

Se tomaron 0.5 mL del extracto metanólico y se le agregaron 1.5 mL de etanol al 95 % (v/v), 0.1 mL de solución de $AlCl_3$ a 10 %, 0.1 mL de solución 1 M de CH_3COOK y 2.8 ml de agua destilada. Se incubó la mezcla por 30 min. Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro Genesys 10s (Thermoscientific, Florida, EUA) a una longitud de onda 415 nm (Chang *et al*., 2002). La concentración se calculó a partir de una curva estándar a base del flavonol quercetina. Los resultados se reportaron en mg equivalentes de quercetina por 100 g de peso fresco (mg EQ 100 g^{-1} p.f.).

4.5.6. Cuantificación de antocianinas totales

Se siguió el método de diferencial de pH propuesto por Giusti y Wrolstad, (2001). Se colocaron por separado dos tubos de ensayo con 200 µL del extracto metanólico acidificado de piel de aguacate, al primero se le adicionaron 1.8 mL de una solución amortiguadora de pH = 1, al segundo se le agregaron 1.8 mL de la solución amortiguadora de pH = 4.5. Se midió la absorbancia a cada mezcla a una longitud de onda diferente (510 y 700 nm) para cada tubo en un espectrofotómetro. Se calculó la absorbancia total (At) de la muestra a partir de la ecuación: At = [(A 510 – A 700) pH = 1.0] – [(A 510 – A 700) pH = 4.5]. La concentración de antocianinas se calculó por medio de la ecuación: antocianinas

(mg L^{-1}) = (At * PM * FD * 1000) / (Ɛ *1), donde: At = absorbancia total, PM = peso molecular (449.2 g mol^{-1}) del estándar (Cianidina-3-glucósido), FD = factor de dilución (1), Ɛ = absortividad molar del estándar (26,900). La concentración se expresó en mg de cianidina-3-glucósido por g de peso fresco (mg antocianinas 100 g^{-1} p.f.)

4.4.7. Cuantificación de taninos condensados

Los taninos condensados se cuantificaron por espectrofotometría utilizando un espectrofotómetro UV Genesys 10 (Rochester, NY, EE. UU.) según Deshpande y Cheryan (1987). Al extracto metanólico se le añadieron 5 mL de reactivo de vainillina recién preparado (vainillina al 1% y HCl a 8% 1: 1 v/v). La reacción se desarrolló a 30 °C por 30 min. Se preparó un blanco sometiendo el extracto original a las mismas condiciones de reacción, usando 5 mL de solución de HCl a 4% en lugar del reactivo de vainillina. La absorbancia de las muestras y los blancos se leyeron a 500 nm. La concentración se calculó a partir de una curva estándar a base de catequina. Los resultados se expresaron como mg de catequina en 100 g^{-1} de peso fresco (mg EC 100 g^{-1} p.f.).

4.4.8. Actividad antioxidante por el método ABTS

Se realizó de acuerdo al método descrito por Re *et al*. (1999). Se preparó una solución de 7 mM de ABTS en agua destilada (solución A), y otra de persulfato de potasio 2.45 mM (solución B). Posteriormente, se mezclaron en proporción 1:1 (solución A: solución B). La mezcla ($ABTS^{+}$) se mantuvo en reposo por 16 h temperatura ambiente y en oscuridad, La solución $ABTS^{+}$ se ajustó mediante dilución con etanol a una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a una longitud de onda de 734 nm. Para realizar la cuantificación de actividad antioxidante en las muestras, se adicionaron 20 µL de la muestra a 2 mL de la solución del radical $ABTS^{+}$, se mezcló y se mantuvo en baño María a 30 °C. Finalmente se midió la absorbancia a 734 nm a los siete minutos. Se elaboró una curva patrón con Trolox y los resultados se reportaron en milimoles Equivalentes de Trolox por gramo de peso fresco (mmol ET g^{-1} de p.f.).

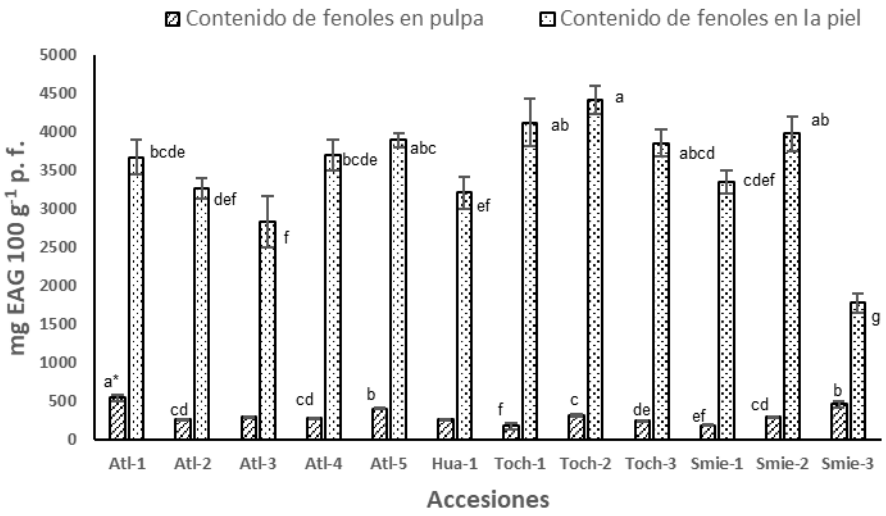
4.4.10. Análisis estadístico

Los análisis se realizaron por triplicado, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) bajo un Diseño Completamente al Azar, y una prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$), además se realizó un análisis de componentes principales utilizando el programa Statistical Analysis System SAS, versión 9.0 (SAS, Institute Inc., Cary, NC, EUA). También se realizó la correlación de Pearson entre las variables evaluadas.

4.5. Resultados y Discusión

4.5.1 Contenido de compuestos fenólicos totales

La piel presentó mayor contenido de compuestos fenólicos en todas las accesiones (1773.87 a 4411.23 mg EAG 100 g^{-1} p. f.) en comparación con la pulpa (256.80 a 787.45 mg EAG 100 g^{-1} p. f.) (Figura 10). Melgar *et al*. (2018) reportaron mayor concentración de compuestos fenólicos en la piel en comparación con la pulpa de frutos de aguacate 'Hass', además el perfil de estos metabolitos en la piel está compuesto por un mayor número de epicatequinas y quercetinas. Cox *et al*. (2010) también señalaron mayor presencia de antocianinas en la piel de frutos de aguacate 'Hass' en comparación con la pulpa. Los compuestos fenólicos en los vegetales cumplen funciones específicas de protección contra diferentes tipos de estrés provocados por patógenos, temperatura y radiación solar. La mayor concentración de estos fitoquímicos en la piel podría ser resultado de este tipo de mecanismos de defensa debido a que es un tejido que se encuentra en contacto directo con factores bióticos y abióticos (Oboh *et al*., 2013; Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011; Manach *et al*., 2004).



*Medias con la misma letra dentro del mismo tipo de barra son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$). La barra representa la desviación estándar.

Figura 10. Compuestos fenólicos en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano

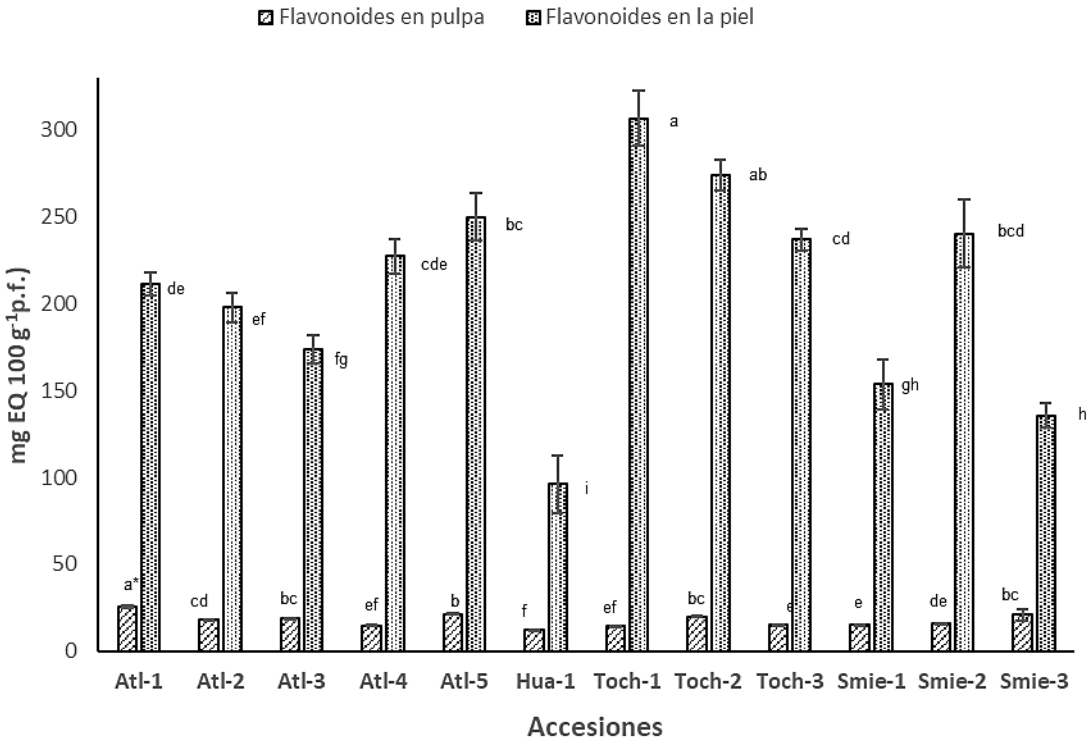
Las accesiones de aguacate criollo mexicano presentaron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos entre la pulpa y la piel de los frutos. La accesión Atl-1 presentó el mayor contenido de estos metabolitos en la pulpa, mientras que las accesiones Atl-5, Toch-1, Toch-2, Toch-3 y Smie-2 lo presentaron en la piel. Las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos podrían atribuirse a las condiciones medioambientales como se ha reportado en diversos frutos; sin embargo, en el presente estudio no se observó una tendencia que pudiera explicar la mayor concentración de compuestos fenólicos en las accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco. Por otra parte, todas las accesiones presentaron un contenido mayor de compuestos fenólicos en la piel que lo reportado por Wang *et al*. (2010) en frutos de aguacate 'Hass' (1260 mg EAG 100 g^{-1} p. f.), esto podría deberse a que la piel en los frutos de aguacate criollo es más delgada, y por lo tanto, más susceptible al ataque de patógenos lo que podría activar mecanismos de defensa en los que se incluye la síntesis mayor de compuestos fenólicos (Melgar *et al*., 2018; Rodríguez-Carpena *et al*., 2011).

El beneficio que tienen los compuestos fenólicos en los consumidores ha sido ampliamente reportado, Carmona-Hernández *et al*. (2018) y Porras-Loaiza y López-Malo, (2009) mencionan que estos nutracéuticos tienen gran capacidad antioxidante, lo que explica algunas de la propiedades anticancerígenas, antinflamatorias, antivirales, antimicrobianas y como estimulantes para el sistema inmunológico (Soto-Hernández *et al.,* 2017).

Los vegetales frescos son la principal fuente de estos compuestos, el procesado de los mismos puede alterarlos, el consumo de frutos de aguacate generalmente se realiza fresco a diferencia de otros frutos como cítricos y frutillas se consumen procesados. Sihombing *et al*. (2015) reportaron que la ingesta de frutos con piel aporta gran cantidad de antioxidantes, por lo que el consumo de los frutos de aguacate criollo mexicano podría aportar una gran cantidad de compuestos fenólicos a los consumidores.

4.5.2. Contenido de flavonoides

Todas las accesiones presentaron un mayor contenido de flavonoides en la piel (135.71 a 303.65 que en la pulpa (14.44 a 25.70mg EQ 100 g^{-1}p.f.) siguiendo la misma tendencia que el contenido de los compuestos fenólicos (Figura 11). Se ha reportado que en la piel se concentra el mayor contenido de flavonoides en los frutos, estos metabolitos cumplen funciones de fotoprotección, pigmentación y defensa contra plagas y enfermedades (Carmona-Hernández *et al*., 2018).



*Medias con la misma letra dentro del mismo tipo de barra son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$). La barra representa la desviación estándar

Figura 11. Contenido de flavonoides en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano.

La accesión que presentó el contenido más alto en la pulpa fue Atl-1 y en la piel fueron las accesiones Toch-1 y Toch-2. Al igual que en el contenido de compuestos fenólicos, no se observó una tendencia con relación a las condiciones ambientales que pudieran influir en el contenido de estos metabolitos como se ha reportado en otras investigaciones. Aunque, las accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco nuevamente destacan por su contenido flavonoides, lo que podría ser atribuido a diversos factores (condiciones edafoclimáticas, variabilidad genética) (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011; Manach *et al*., 2004).

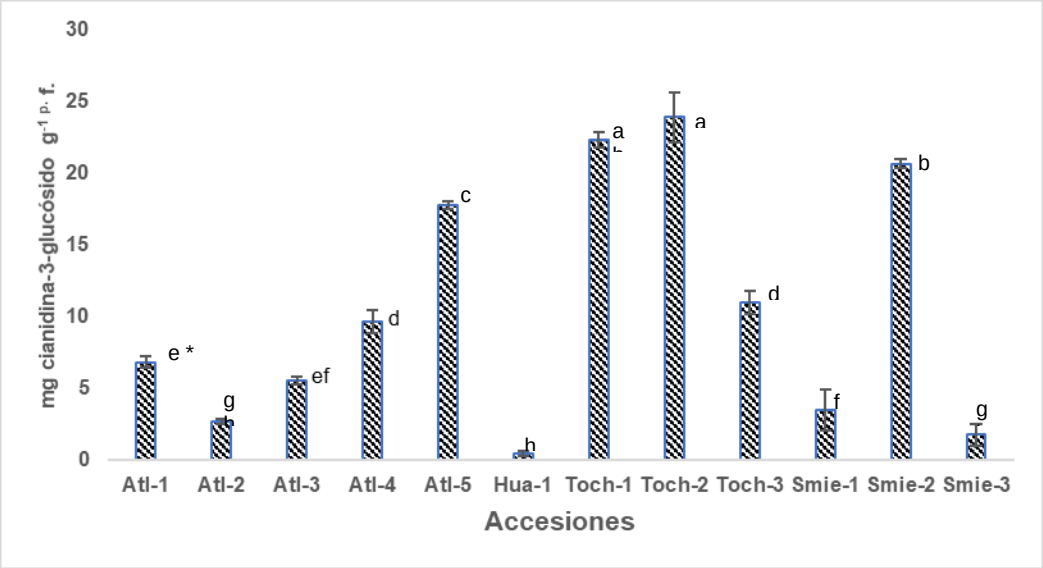
Los flavonoides tienen acciones neuro y cardioprotectoras según Rice-Evans. (2004); en otras investigaciones, Oboh, Adelusi y Akinyemi (2013) reportaron que la actividad antioxidante de la piel del fruto de aguacate asociada principalmente

a isoflavonas, flavonas, antocianinas, catequina e isocatequina, fitoquímicos que pueden disminuir el estrés oxidativo celular en los consumidores debido a las propiedades redox de sus grupos hidroxilo en su estructura química, además previenen daños causados por la radiación UV y la contaminación ambiental (Carmona-Hernández *et al*., 2018; Carocho,& Ferreira, 2013; Materska & Perucka, 2005; Oboh & Rocha, 2007).

El aguacate criollo mexicano representa una alternativa para la ingesta de flavonoides por el alto contenido de este tipo de antioxidantes principalmente en la piel. En este contexto, es recomendable consumir este tipo de frutos.

4.5.3. Contenido de antocianinas en la piel

El contenido de antocianinas solamente se evaluó en la piel que se caracteriza por su pigmentación. Los contenidos mayores la presentaron las accesiones Smie-2, Toch-1, Toch-2 y Atl-5 con valores de 20.65, 22.32, 20.04 y 17.75 mg cianidina-3-glucósido g^{-1} p. f., respectivamente (Figura 12). El contenido de antocianinas encontrado en todas las accesiones fue superior a los reportados por Cox *et al*. (2004) y Bertling *et al.* (2007) para el cv. Hass (0.371 y 1.9 mg cianidina-3-glucósido g^{-1}p.f., respectivamente). Sin embargo, los resultados son comparables con los obtenidos por Corrales-García *et al*. (2019) para accesiones de aguacate criollo mexicano colectados en la misma región. Es importante señalar que en las variaciones de los contenidos de estos metabolitos (compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas) no se encontró una tendencia de acuerdo a algunas de las diferencias climáticas; pero la accesión Hua-1 fue la que mostro menores concentraciones de estos metabolitos, accesión localizada en una zona con menor precipitación y altura y mayor temperatura media en comparación con las accesiones restantes.



*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey; p ≤ 0.05). La barra representa la desviación estándar.

Figura 12. Contenido de antocianinas en la piel de frutos de aguacate criollo mexicano.

Estos pigmentos son los responsables de la pigmentación de la piel con tonalidades azules, purpuras y rojas, en los frutos de aguacate criollo; estos metabolitos también están relacionados con la actividad antioxidante en la piel, esto representa una ventaja en este tipo de frutos respecto a las variedades comerciales debido a que estos se consumen de manera tradicional con piel lo que representa una mayor ingesta de antioxidantes por los consumidores.

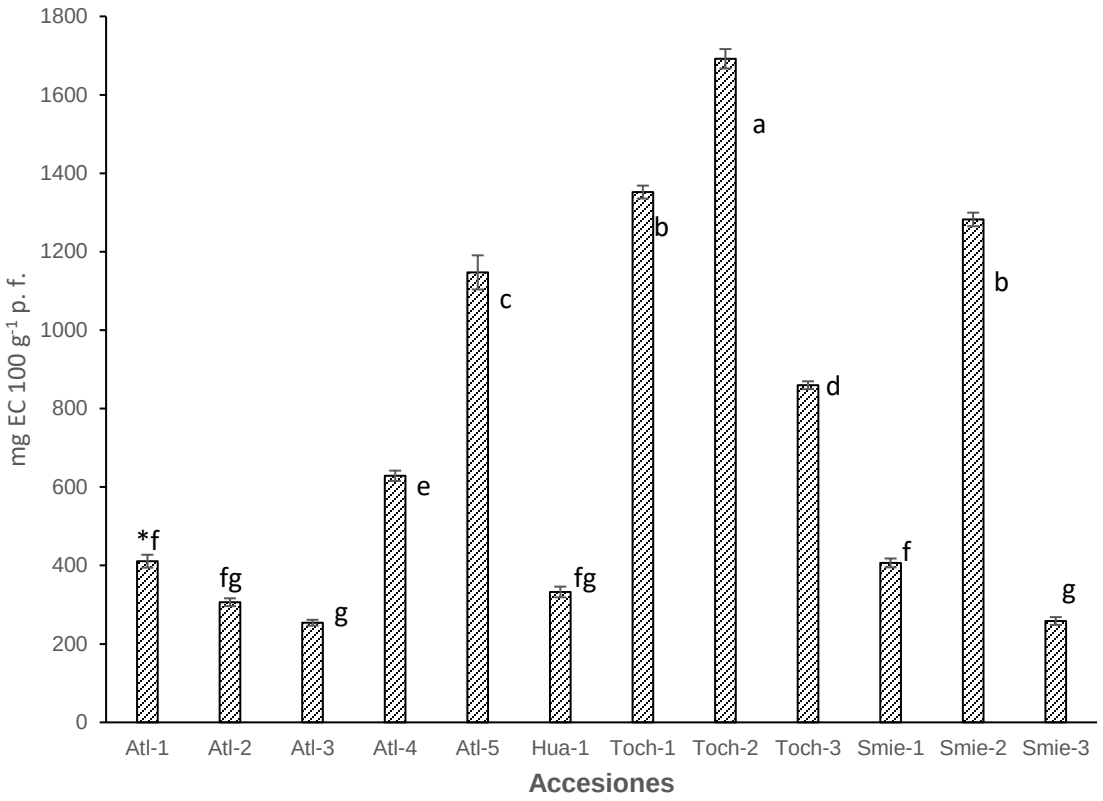
4.5.4. Contenido de taninos condensados

El contenido de taninos entre las accesiones fue de 254.03 a 1691.93 mg EC 100 g^{-1} p. f. La accesión Toch-2 presentó el valor más alto (1352.06 mg EC 100 g^{-1} p. f.) (Figura 13). Cabe destacar que el presente estudio es la primera investigación que reporta la concentración de taninos condensados en la piel de aguacate. Generalmente, los taninos se encuentran en mayor cantidad en la semilla y la piel de muchos frutos, la presencia de estos metabolitos antioxidantes en aguacate criollo potencializa sus propiedades funcionales, a diferencia de los cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte'). El contenido superior de taninos reportado en sorgo (2927 mg EC 100 g^{-1} p. f.), pero en niveles mayores a los 2 500 mg EC·100 g^{-1} podrían considerarse compuestos antinutricionales por su

capacidad de formar complejos con las proteínas, minerales y carbohidratos (Reynoso *et al*., 2007).

La presencia de sustancias antinutricionales (taninos, lectinas, inhibidores de tripsina, saponinas y ácido fítico) (Duarte-Martino*et al.,* 2012; Guzmán-Maldonado y Paredes- López, 1998) ha limitado la aceptabilidad de algunos alimentos porque reducen el valor nutricional de proteínas, la digestibilidad, la biodisponibilidad de minerales y la absorción de los aminoácidos(Duarte-Martino *et al.,* 2012; Reynoso-Camacho *et al*., 2006; Sotelo *et al*., 1995); sin embargo, algunos de ellos y sus productos de hidrólisis son beneficiosos cuando se consumen en bajas concentraciones mediante la dieta porque disminuyen los niveles de glucosa y lípidos en la sangre; los inhibidores de proteasas, saponinas y lignanos están asociados con la disminución de varios tipos de cáncer (Duarte-Martino *et al.,* 2012; Shahidi, 1997).

Los taninos condensados poseen propiedades astringentes y antiinflamatorias, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales o infecciones estomacales. En adición, protegen a las células del daño provocado por estrés oxidativo reduciendo el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas (Chung *et al*., 1998; Salminen & Karonen, 2011; Okuda, 2005).



*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$). La barra representa la desviación estándar.

Figura 13. Contenido de taninos condensados en piel de frutos de aguacate criollo mexicano.

4.5.5. Actividad antioxidante por los métodos ABTS en pulpa y piel

La piel presentó la mayor actividad antioxidante en comparación con la pulpa de todas las accesiones evaluadas. Las accesiones Atl-1 y Atl-5 presentaron los valores más altos en la pulpa con 186.82 y 183.42 mmol ET 100 g^{-1} p. f., respectivamente (Cuadro 15). La pulpa de todas las accesiones presentó valores superiores a los reportados por Rodríguez-Carpena *et al*. (2011) en el mismo tejido, pero en los cultivares Hass y Fuerte (94.23 y 78.17 mmol ET 100 g^{-1} p. f., respectivamente). Wang, Zheng, Khuong & Lovatt, (2016) reportaron que el tamaño puede influir en la concentración de los compuestos antioxidantes, los frutos más pequeños acumulan más metabolitos; esto sugiere la necesidad de continuar con la investigación evaluando mayor número de muestras de cada

región, identificar el perfil de compuestos fenólicos y flavonoides, así como las variaciones del contendido de estos nutracéuticos durante la maduración del fruto.

Cuadro 15. Actividad antioxidante por el método ABTS en los frutos de aguacate criollo mexicano recolectados en diferentes áreas productoras del estado de Puebla, México (Media ± Desviación estándar).

Accesiones	Actividad antioxidante en pulpa (mmol ET 100 g^{-1}p.f.)	Actividad antioxidante en piel (mmol ET 1 g^{-1}p.f.)
Atl-1	186.82± 11.66 a*	221.44± 21.24 e
Atl-2	169.66± 7.08 de	211.85± 24.01 f
Atl-3	164.10 ± 2.67 ef	214.48 ± 56.2 f
Atl-4	161.01 ± 4.63 f	276.30 ± 38.83 d
Atl-5	183.42 ±2.19 ab	307.82± 16.05 b
Hua-1	151.73 ± 4.63 g	161.78 ± 7.12 gh
Toch-1	150.81± 30.40 g	313.54± 13.91 a
Toch-2	179.25± 6.24 bc	313.69± 28.95 a
Toch-3	167.66 ± 22.86 def	294.84 ± 23.45 c
Smie-1	163.02 ± 2.67 ef	211.85 ± 25.71 f
Smie-2	171.76 ± 5.37 d	310.76 ± 55.63 ab
Smie-3	172.76 ± 7.08 cd	188.36 ± 21.53 g

*Medias con la misma letra dentro de la misma columna son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$)

En contraste, la piel de las accesiones que presentaron los valores más altos fueron Toch-2, Toch-1 y Smie-2, con un porcentaje de inhibición de 98.62, 98.57 y 97.71 %, respectivamente (Figura 7). Los valores de la actividad antioxidante obtenidos por el método de ABTS reportados en la piel en los cultivares Hass y Fuerte por Rodríguez-Carpena *et al*. (2011) fueron inferiores (74.06 y 185.87 mmol ET 100 g^{-1}p.f., respectivamente) a los obtenidos en la presente investigación en aguacate criollo.

La mayor actividad antioxidante observada en la pulpa se podría explicar mediante la correlación positiva del (0.80) de los compuestos fenólicos y los flavonoides; es decir, estos metabolitos contribuyeron sinérgicamente (Cuadro 16); pero en la piel las antocianinas y los taninos son los mayores responsables de la actividad antioxidante. En el aguacate criollo la actividad antioxidante se

concentra en la piel como lo han reportado Corrales-García *et al*. (2019); Kumar y Cumbal, (2016) y Vinha *et al*. (2013), lo que explica culturalmente su consumo.

La ingesta de metabolitos antioxidantes mediante el consumo de frutos, como el aguacate, previenen del daño que ocasionan los radicales libres en algunas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer. Asimismo, la acción de los antioxidantes se debe al sinergismo entre una amplia variedad de antioxidantes interrelacionados y cofactores antioxidantes (Rani, 2019).

Cuadro 16. Análisis de correlación de Pearson entre compuestos antioxidantes y actividad antioxidante en la pulpa de frutos de aguacate criollo mexicano.

Variables	Fenoles totales	Flavonoides	ABTS
Fenoles totales	1	0.88	0.80
Flavonoides	-	1	0.80
ABTS	-	-	1

Por otra parte, la actividad antioxidante en la piel por el método ABTS está altamente correlacionada con el contenido de Flavonoides y antocianinas (0.81, 0.91, respectivamente) (Cuadro 17), por lo que se sugiere que la actividad antioxidante en la piel se debe a la acción de los flavonoides, principalmente a las antocianinas.

Cuadro 17. Análisis de correlación entre compuestos antioxidantes y actividad antioxidante en la piel de frutos de aguacate criollo mexicano.

Variables	Fenoles totales	Flavonoides	Antocianinas	Taninos condensados	ABTS
Fenoles totales	1	0.75	0.70	0.76	0.81
Flavonoides	-	1	0.92	0.87	0.89
Antocianinas	-	-	1	0.82	0.91
Taninos condensados	-	-	-	1	0.92
ABTS	-	-	-	-	1

El análisis de componentes principales permitió observar que los compuestos fenólicos y los flavonoides presentes en la pulpa explican el 91 % de variabilidad entre las accesiones. también se observó que la accesión Atl-1 resulto la más altamente asociada a estos metabolitos (Figura 14). Por otra parte, las variables asociadas a la piel formaron otro grupo formado con las accesiones Toch-1, Toch-2 y Smie-2. Según este análisis se concluye que las accesiones Toch-1, Toch-2 y Smie-1 presentaron el mayor contenido de compuestos nutracéuticos en la piel, determinado por el contenido de los compuestos fenólicos totales, flavonoides, antocianinas y taninos condensados.

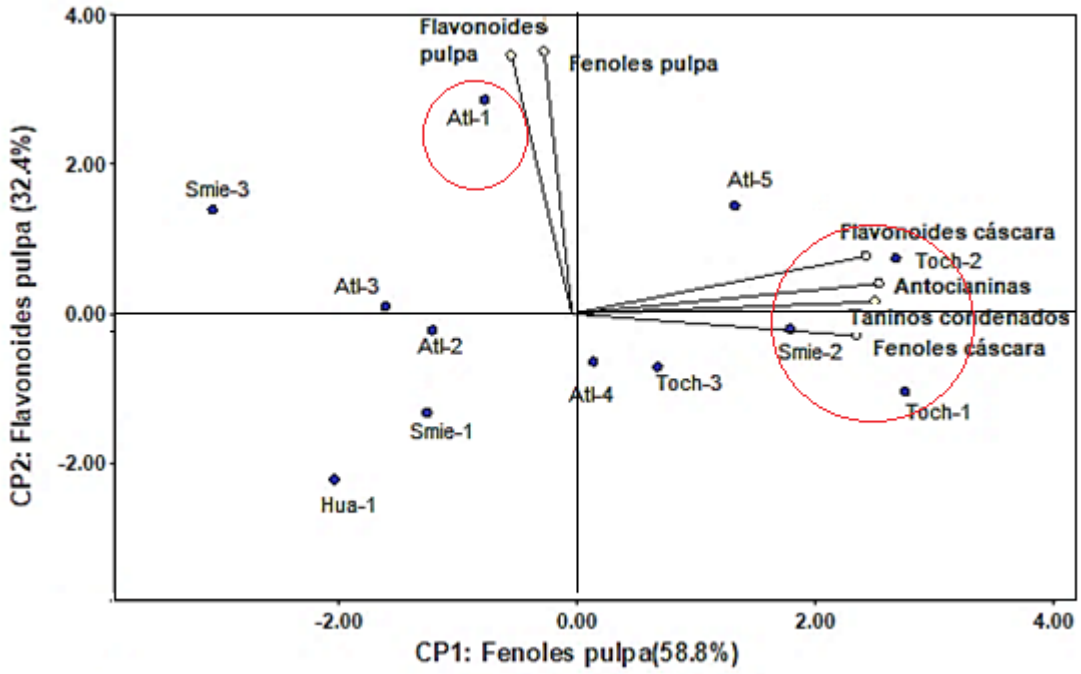


Figura 14. Análisis de componentes principales de compuestos antioxidantes en pulpa y piel de frutos de aguacate criollo mexicano.

Finalmente, se ha reportado que diversos factores edafoclimáticos, genéticos, fisiológicos, manejo agronómico afectan los contenidos de los componentes antioxidantes o nutracéuticos en los tejidos vegetales (Gahukar, 2014). En la presente investigación, los sitios de recolecta de los frutos se encontraron con algunas diferencias en altitud, temperatura y precipitación anual, además de la variabilidad genética entre cada accesión lo que podría explicar las pequeñas

variaciones de los contenidos de los componentes antioxidantes entre las accesiones evaluadas (Darré, 2019).

4.6. Conclusiones

Los frutos de aguacate criollo mexicano presentaron un contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides en la pulpa comparable a los reportados en variedades comerciales. Sin embargo, la piel destaca por su alto contenido de estos compuestos, además de un alto contenido de taninos y antocianinas que en acción sinérgica presentan una gran capacidad antioxidante muy recomendable para el consumo humano, por lo que este tipo de frutos deberían de ser revalorizados por los consumidores y productores como un alimento funcional.

4.7. Referencias

Antasionasti, I., Riyanto, S. & Rohman A. (2017). Antioxidant Activities and Phenolics Contents of Avocado (*Persea americana* Mill.) Skin *In Vitro*. *Research Journal of Medicinal Plants*, 11: 55 61. doi:10.3923/rjmp.2017.55.61

Carmona-Hernández, C. J., Ceballos-López, L., & González-Correa, C. (2018). Polyphenols and Flavonoids in Colombian Fruit and Vegetables - Applications and Benefits: A Review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(3), 176–181. doi:10.12691/jfnr-6-3-6

Carocho, M. & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25. doi:10.1016/j.fct.2012.09.021

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods. *JournalFood and Drug Analysis* 10(3): 176-182.

Corrales-García, J. E., del Rosario García-Mateos, M., Martínez-López, E., Barrientos-Priego, A. F., Ybarra-Moncada, M. C., Ibarra-Estrada, E., Méndez-Zúñiga, S.M. & Becerra-Morales, D. (2019). Anthocyanin and Oil Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*. doi:10.1007/s11130-019-00721-1

Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287–294. doi:10.1016/j.postharvbio.2003.09.008

Darré, M. (2019). Factores de pre y poscosecha que afectan el contenido de

compuestos antioxidantes en hortalizas. doi:10.35537/10915/73508

Duarte-Martino, H. C.,Bigonha, S. M.,De Morais, C. I. & De Oliveira B. R. C. (2012). Nutritional and Bioactive Compounds of Bean: Benefits to Human Health, pp. 233-258. In: Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds (ACS Symposium). Tunick, M. H.; González DE Mejía, E. (eds.). American Chemical Society. USA.

FAOSTAT (2017). Avocados crop production. http://www.fao.org/faostat/en/#data. Consultado: 13 July 2019

Fiedler, J., Bufler, G., & Bangerth, F. (1998). Genetic relationships of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica*, *101*(2), 249–255. https://doi.org/10.1023/A:1018321928400

Gahukar, R. T. (2014). Factors affecting content and bioefficacy of neem (*Azadirachtaindica* A. Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control: A review. *Crop Protection*, 62, 93–99. doi:10.1016/j.cropro.2014.04.014

García-Moreno, M. A., De la Garza-Ramos, M. A., Martínez-Ávila, G. C. G., Gutiérrez-Diez, A., Ojeda-Zacarías, M. D. C., & Aguirre-Arzola, V. E. (2017). Inhibición de la expresión del sistema AGR de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el uso de polifenoles totales de hojas de aguacate mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). *Nova Scientia*, 9(18), 200. doi:10.21640/ns.v9i18.737

Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5, 6697–6703. doi.org/10.5897/JMPR11.363.

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1–F1.2.13. doi:10.1002/0471142913.faf0102s00.

Guzmán-Maldonado, S.H., Paredes-López, O. (1998). Functional products of plants indigeneous of Latin America: amaranth, quinoa, common beans and botanicals. *In*: Functional Foods. Bichemical and Processing Aspects.MAZZA, G. (ed.). Thechnomic Publishing Company. Pennsylvania, USA. pp. 293-328.

Kumar, B., & Cumbal, L. (2016). UV-Vis, FTIR and antioxidants study of *Persea Americana* (Avocado) leaf and fruit: A comparison. *Revista de La Facultad de Ciencias Químicas*, *14*, 13–20.

Lara-Márquez, M., Báez-Magaña, M., Raymundo-Ramos, C., Spagnuolo, P. A., Macías-Rodríguez, L., Salgado-Garciglia, R., … López-Meza, J. E. (2020). Lipid-rich extractfrom Mexican avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*) induces apoptosis and modulates the inflammatory response in Caco-2 human colon cancercells. *Journal of Functional Foods*, 64, 103658. doi:10.1016/j.jff.2019.103658

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2004. Bioavailability, polyphenols: food sources. American Journal of Clinical Nutrition.

79, 727–747. http://dx.doi.org/10. 1038/nature05488.

Méndez-Zúñiga, S. M., Corrales-García, J. E., Gutiérrez-Grijalva, E. P., García-Mateos, R., Pérez-Rubio, V., & Heredia, J. B. (2019). Fatty Acid Profile, Total Carotenoids, and Free Radical-Scavenging from the Lipophilic Fractions of 12 Criollo Mexican Avocado Accessions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(4), 501–507. doi:10.1007/s11130-019-00766-2

Oboh, G., T.I. Adelusi and A.J. Akinyemi, 2013. Inhibitory effect of phenolic extract from leaf and fruit of avocado pear (*Persea americana*) on Fe^{2+} induced lipid peroxidation in rats' pancreas in vitro. *FUTA Journal of Research in Science*. 2: 276-286

Porras-Loaiza, A.P. & López-Malo, A. (2009). "Importancia de los grupos fenólicos en alimentos*," Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3 (1): 121-134.

Rani, K. (2019). Clinical Role of Antioxidants in the Treatment of Diseases. *Advances in Human Services and Public Health*, 392–401. doi:10.4018/978-1-5225-3267-5.ch013

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. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3

Rincón-Hernández, C. A., De La Pérez, J. L. S., & Espinosa-García, F. J. (2011). Caracterización química foliar de los árboles de aguacate criollo (*Persea americana* var. drymifolia) en los bancos de germoplasma de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *82*(2), 395–412.

Rodríguez-Carpena, J.G., Morcuende, D., Andrade, M.-J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado *(Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635. doi:10.1021/jf1048832

Sánchez-Pérez, J. de la L. (1999ª). Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill.) y especies afines en México. Revista Chapingo Serie Horticultura*.* 5:7-18.

SIAP. (2016). Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado el 13 de Julio de 2019, www.gob.mx/siap/articulos/el-cultivo-del-aguacate

Shahidi, F. (1997). Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients and phytochemicals in foods: An Overview. In: Antinutrients and Phytochemicals in Food. SHAHIDI, F. (ed.). ACS Symposium Series 662, American Chemical Society, Washington, DC.USA. Pp. 1-9.

Sotelo, A., Sousa, H., Sánchez, M. (1995). Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*).*Plant Foods*

Human Nutrition 47(2): 93-100.

Soto-Hernández. M., Palma-Tenango, M., García-Mateos, M. R. (2017). Phenolic compound. Biological activity. Croacia: INTECH. 227 p. doi: 10.5772/63693

Torres-Gurrola, G., Montes-Hernandez, S., & Espinosa-Garcia, F. J. (2009). Patterns of variation and geographic distribution in foliar chemical phenotypes of *Persea americana* var. *drymifolia*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 19–30.

Turkmen, N., Sari, F. & Velioglu, Y. S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and FolinCiocalteu methods. *Food Chemistry*. 99, 835–841.

Vinha, A. F., Moreira, J., & Barreira, S. V. P. (2013). Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Agricultural Science*, 5(12). doi:10.5539/jas.v5n12p100

Wang, M., Zheng, Y., Khuong, T., & Lovatt, C. J. (2016). Developmental differences in antioxidant compounds and systems in normal and small-phenotype fruit of “Hass” avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 206, 15–23. doi:10.1016/j.scienta.2016.04.029

Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198. doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.114

Waterman, P.G. & S. Mole. (1994). Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Methods in Ecology. Black well Scientific Publications. Oxford, UK. 238 p.

5. FATTY ACID PROFILE, TOTAL CAROTENOIDS, AND FREE RADICAL-SCAVENGING FROM THE LIPOPHILIC FRACTIONS OF 12 CRIOLLO MEXICAN AVOCADO ACCESSIONS [7]

5.1. Abstract

Mexico is the world's largest producer, exporter, and consumer of avocados. 'Hass' avocado is the most commercialized cultivar, while the criollo Mexican avocado varieties have been displaced. Thus, studies regarding their chemical and nutraceutical characterization are scarce. We studied the total lipid content, fatty acid profile, carotenoid content, and free radical-scavenging activity of the fruit pulp from 12 accessions of the criollo Mexican avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*). The results show that the chemical and nutraceutical characteristics depend on the accession type. The total lipid content ranged from 13.22 to 23.41 %. The major saturated fatty acid in all the avocado accessions was palmitic acid (15.54–22.68 %). Monounsaturated fatty acids, like oleic (56.58–74.19 %), linoleic (5.62–16.85 %) and linolenic (0.63–2.85 %) acids were the most abundant unsaturated fatty acids in all the criollo mexican avocado accessions. The total carotenoid content (1.57 to 7.83 mg eq. of β-carotene 100 g-1 fresh weight) and the free radical-scavenging activity (7.58–88.62 mmol Trolox equivalent 100 g−1 fresh weight) also varied significantly ($p < 0.05$) among accessions. Criollo Mexican avocados have a great nutraceutical potential due to their high content of omega-9, omega-6, and omega-3 fatty acids and carotenoids. These compounds have been reported to display antioxidant activities and protect against cardiovascular diseases.

Keywords: Avocados, Healthy food. Fatty acids, Omegas, Antioxidants

[7] Artículo publicado en la revista Plant Food for Human Nutrition
DOI: DOI 10.1007/s11130-019-00766-2
Autor: Sergio M. Méndez-Zúñiga

5.2. Resumen

Perfil de ácidos grasos, carotenoides totales y eliminación de radicales libres de la fracción lipofílica de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano [8]

México es el mayor productor, exportador y consumidor de aguacate en el mundo. El cv. 'Hass' es el más comercializado, mientras que las variedades nativas de aguacate mexicano han sido desplazadas. Por lo tanto, los reportes sobre sus propiedades nutracéuticas son escasos. En esta investigación se realizó una cuantificación del contenido total de lípidos, perfil de ácidos grasos, contenido de carotenoides y eliminación de radicales libres de la pulpa de fruta de 12 accesiones de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). Los resultados mostraron que las características químicas y nutracéuticas dependen de la accesión. El contenido total de lípidos varió de 13.22 a 23.41 %. El principal ácido graso saturado en todas las accesiones de aguacate fue el ácido palmítico (15.54–22.68 %); en cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados el principal fue el ácido oleico (56.58–74.19 %) y los ácidos grasos poliinsaturados fueron el ácido linoleico (5.62–16.85 %) y ácido linolénico (0.63–2.85 %). El contenido total de carotenoides (1.57 a 7.83 mg eq. de β-caroteno 100 g^{-1} p. f.) y la actividad de eliminación de radicales libres también varió significativamente (p <0.05) entre las accesiones (7.58–88.62 mmol E. T. 100 g^{-1} p. f.). Los aguacates criollos mexicanos tienen un gran potencial nutracéutico debido a su alto contenido de carotenoides, ácidos grasos omega-9, omega-6 y omega-3, se ha informado que estos compuestos tienen actividad antioxidante y protegen contra enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Aguacates, Comida sana, Ácidos grasos, Omegas, Antioxidantes

[8] Artículo científico publicado el 3 de septiembre de 2019 en la revista Plant Food for Human Nutrition. DOI: DOI 10.1007/s11130-019-00766-2
Autor: Sergio M. Méndez-Zúñiga

5.3. Introduction

Persea americana, commonly known as avocado, belongs to the *Lauracea* family and is originally from Mexico and Guatemala [1]. The main avocado cultivar consumed worldwide is 'Hass', and the main producer, exporter and consumer is Mexico. [2]. The main reasons of avocado acceptance for consumption are taste, high sensory quality attributes, and nutritional contribution. In this sense, avocado fruit is a source of carbohydrates (4.2 to 5.6 %), proteins (1.2 to 1.8 %), dietary fiber (12.55 to 15.8 %) and lipids (12 to 16 %) [3-5]. The high lipid content in avocado is mainly constituted of monounsaturated fatty acids (66.2 %), such as palmitoleic and oleic acids; and polyunsaturated fatty acids (14.7 %), such as linoleic and linolenic acids [5, 6]. The regular intake of these monounsaturated and polyunsaturated fatty acids has been associated with a decrease in the incidence of cardiovascular diseases by lowering total serum cholesterol and LDL associated with atherosclerosis [7, 8]. Moreover, the avocado pulp is also a source of carotenoids such as lutein, zeaxanthin, and β-carotene [9]; which have been studied as potential antiproliferative agents against liver, prostate and breast cancer [10-13].

Cultivar 'Hass' avocado is a rich source of polyphenols, carotenoids, and unsaturated fatty acids, therefore is nowadays considered as a functional food [9, 14]. However, in Mexico there are criollo varieties of avocado with a wide variety of sizes, shapes and colors, with a very fine and tasty skin of very attractive colors of blue-purple or dark reddish tones, which suggest the presence of antoxidant compounds such as anthocyanins. In addition, this type of avocados are eaten with skin, which gives it a horticultural advantage over commercial cultivars. [15]; that, unfortunately have been ignored mainly because cultivar 'Hass' retains its physical-chemical characteristics in post-harvest during a longer time which is an advantage when it comes to transport and marketing. [16]. It is important to

mention that, the phytochemicals in the crops such as carotenoids and polyphenols may vary depending on their biotic and abiotic stress, and geographical conditions [17]. The avocado accessions from this study grow at high altitudes; therefore their phytochemical composition may differ to 'Hass' and ‘Fuerte’ varieties [5, 6]. Since the nutritional, chemical and nutraceutical characterization of criollo mexican avocados is not well documented; the aim of this research was to evaluate the fatty acid profile of the fruit pulp oil of 12 accessions of criollo mexican avocado (*P. americana* var. *drymifolia*), as well as the carotenoid content and antioxidant activity of the lipophilic fraction of the pulp.

5.4. Materials and Methods

5.4.1. Plant Samples

Criollo mexican avocado fruits (*P. americana* var. *drymifolia*) were collected from Atlixco, Huaquechula, Tochimilco, and San Miguel Tecuanipa, Puebla, Mexico, in September 2017. The avocado fruits were collected based on their apparent absence of disease, and under similar characteristics regarding their physiological maturity. The obtained accessions were named according to the location of the tree and the order of collection. The accession Hua-1 was sampled in the Municipality of Huaquechula, which has an average temperature of 26.5 °C and an altitude of 1586 m; Atl-1, Atl-2, Atl-3, Atl-4, Atl-5 were collected in Municipality of Atlixco, which has an average temperature of 19.4 °C and an altitude of 1848 m; Toch-1, Toch-2 and Toch-3 were collected in Municipality of Tochimilco, which has an average temperature of 17.7 °C and an altitude of 2078 m; and finally Smie-1, Smie-2 and Smie-3 were collected in Municipality of San Miguel Tecuanipa, which has an average temperature of 16.1 °C and an altitude of 2292 m. Fruits were stored at 20 ± 2 ºC until they reached the maturity stage. After that, avocado fruits were skined manually, and pulp was sliced and frozen with liquid nitrogen. Then, samples were lyophilized (LABCONCO Free Zone 4.5, Freezer) for 48 h (vacuum: 0.014 millibars, collector temperature: -51 °C). Finally, freeze dried samples were pulverized in a windmill (IKA® M20).

5.4.2. Quantification of Total Lipids

Oil extraction was performed with 1 g of lyophilized pulp by refluxed petroleum ether at 70 °C for 5 h using the Soxhlet extraction method of the AOAC (1995) [18], with slight modifications, in an E-816 SOX equipment (BUCHI). The quantification of total lipids was determined by weight difference.

5.4.3. Fatty Acid Profile

Oil extraction for the fatty acid profile was carried out as reported by Metcalfe et al. [19], with slight modifications. Briefly, 2 g of lyophilized pulp were homogenized for 1 min with 10 mL of chromatographic grade methanol using an Ultraturrax (IKA T18 digital). After that, 20 mL of HPLC grade chloroform was added and homogenized for 2 min, then filtered using a Whatman® grade 1 filter paper. The pellet was used 3-times to repeat the same extraction process. The recovered supernatant was put in a methylation funnel, and 25 mL of 0.88 % KCl was added and stirred. The sample was used until phase separation occurred and a mix of methanol and water (1:1 v/v) was added until phase separation was observed. A sample from the lower phase was collected and evaporated to dryness using a rotary evaporator (Buchi R-215, Switzerland).

Methylation was carried out according to the method of AOAC (2012) 969.33 [20]. The concentrated sample was placed in a ball flask with a condenser, adding 10 mL of sodium hydroxide (0.5 N) in methanol. Flask was placed in a boiling and refluxed for 10 min. After that, 12 mL of boron trifluoride (BF_3) was added and kept under reflux for 3 min. Finally, 4 mL of heptane were added, and refluxed for 2 min. The sample was transferred to a test tube, and saturated NaCl was added until a white color was observed, then 1 g of sodium sulfate (Na_2SO_4) was added and stirred until phases were separated. The upper phase was filtered in a Pasteur pipette packed with glass fiber and recovered in a 2 mL vial. Oxygen was removed from the sample by using a nitrogen atmosphere and kept freezing until analysis. Fatty acids were identified as follows, 1 µL of the final extract was injected into a gas chromatograph system (Model 7820, Agilent) equipped with a flame ionization detector with a capillary column of 30 m X 0.32 mm X 0.25 µm

(Omegawax 320, Supelco). The temperature of the injector and the detector was set to 260 °C for 40 min. A mixture of 37 fatty acids of methyl esters of C4-C24 was used as the external standard for the identification of the fatty acids. Quantification of fatty acids was calculated using the area under the curve of the fatty acids identified.

5.4.4. Quantification of total carotenoids

Total carotenoid content was quantified as reported by Rodríguez-Amaya [21] with some modifications. Briefly, 5 mL of a mixture hexane: acetone (1:1 v/v) were mixed with 1 g of lyophilized avocado pulp and homogenized in an Ultraturrax for 1 min. The mixture was filtered and vacuum pumped using a Kitasato flask; this was repeated until pellet coloration was observed as clear. The filtered sample was placed in a separatory funnel, and 10 mL of distilled water at 4 °C were added, stirred and phases were allowed to separate. The upper phase of the sample was recovered and adjusted to 10 mL with hexane. An aliquot was taken and measured in a spectrophotometer Genesys 10s (Thermoscientific, Florida, USA) at a wavelength of 446 nm using hexane as blank. The concentration of total carotenoids was calculated using an extinction coefficient of 2500 and was reported as mg equivalents of β-carotene 100 g^{-1} fresh weight.

5.4.5. Free radical-scavenging of the lipophilic fraction

Lipophilic extracts were obtained by mixing 1 g of lyophilized avocado pulp with 10 mL of dichloromethane and homogenized using an Ultraturrax for 1 min, the homogenized sample was stirred during 2 h at room temperature, and after that incubated during 24 h. Finally, samples were filtered and centrifuged for 15 min at 1409 x g. The samples were kept under refrigeration conditions (4 °C) and darkness until the moment of analysis. ABTS free radical-scavenging assay was carried out according to the method described by Re et al. [22]. Briefly, two solutions of 7 mmol ABTS in distilled water (solution A), and 2.45 mmol $K_2S_2O_8$ (solution B) were mixed in a 1:1 ratio (solution A: solution B), and incubated for 16 h in darkness at 4 ºC. The resulting ABTS+ was diluted in ethanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. The assay was performed as follows, 30 µL of the sample was added to 3 mL of the ABTS+ radical solution, mixed and

kept in a water bath at 30 ° C. Finally, the absorbance was measured at 734 nm. Results were expressed in mmol equivalents of Trolox g^{-1} of fresh weight (mmol TE • 100 g^{-1} f. w.).

5.4.6. Statistical analysis

Each criollo mexican avocado accession was considered a treatment, and each fruit was a repetition. Each treatment had three repetitions. ANOVA and a comparison of means (Tukey's test, p = 0.05) under a completely random design were performed. MINITAB software (Minitab Inc., 2017) was used to perform all analyses.

5.5. Results and Discussion

5.5.1. Total lipids

The total lipid content of the criollo mexican avocado accessions is shown in table 18. The results showed that the total lipid content varied significantly between accessions ($p < 0.05$) and ranged from 13.22 to 23.41 %, where Toch-1, Atl-1, and Atl-4 showed the highest lipid content with 23.41, 23.05, and 23.04 %, respectively. Moreover, the results showed that some of the evaluated accessions had higher lipid content than the 'Hass' and 'Fuerte' cultivars as reported by Rodríguez-Carpena et al. [4] with 15.80 and 12.55 % of lipid content, respectively. This differences may be attributed to the fact that oil content in avocado fruits may vary depending on abiotic factors such as UV-light, water stress, soil composition, and other geographical conditions. In addition, the yield and quality of the avocado oil is strongly influenced by post-harvesting ripening period the extraction method. [23, 24]. The high oil content in criollo mexican avocados represents an opportunity for the agri-food and cosmetics industries due to the fact that it has a better thermal stability and resistance to oxidation than those of 'Hass' [25].

.

Table 18. Total carotenoid content, the antioxidant activity of the lipophilic fraction and total lipids in fruit pulp from criollo mexican avocados.

Accession	Carotenoids (mg eq. of β-carotene 100 g^{-1} f. w.)	Antioxidant activity (mmol TE 100 g^{-1} f. w.)	Total lipids (%)
Hua-1	6.73 ± 0.32 ^{ab}	33.82 ± 3.24 ^{bcd}	16.85 ± 0.68 ^{cde}
Atl-1	3.42 ± 0.37 ^{g*}	29.19 ± 3.94 ^{cde}	23.05 ± 0.75 ^{a}
Atl-2	1.71 ± 0.25 ^{h}	31.68 ± 3.15 ^{bcde}	17.35 ± 1.97 ^{cde}
Atl-3	1.57 ± 0.23 ^{h}	11.60 ± 2.56 ^{fg}	16.88 ± 2.43 ^{cde}
Atl-4	3.73 ± 0.49 ^{fg}	7.58 ± 2.32 ^{g}	23.04 ± 0.72 ^{a}
Atl-5	4.82 ± 0.24 ^{def}	29.46 ± 4.48 ^{cde}	17.44 ± 1.11 ^{bcd}
Toch-1	4.04 ± 0.47 ^{efg}	26.15 ± 3.37 ^{cde}	23.41 ± 1.83 ^{a}
Toch-2	7.83 ± 0.55 ^{a}	88.62 ± 6.14 ^{a}	13.22 ± 1.53 ^{e}
Toch-3	4.92 ± 0.31 ^{de}	41.23 ± 4.56 ^{b}	21.54 ± 0.82 ^{ab}
Smie-1	5.57 ± 0.32 ^{cd}	23.31 ± 2.14 ^{de}	17.45 ± 1.33 ^{bcd}
Smie-2	5.83 ± 0.16 ^{bcd}	20.92 ± 4.60 ^{ef}	18.79 ± 1.22 ^{bc}
Smie-3	6.38 ± 0.80 ^{bc}	35.11 ± 0.3.08 ^{bc}	13.54 ± 1.38 ^{de}
CV**	7.92	12.03	7.64

* Values with the same letter in each column are statistically equal (Tukey; $p \leq 0.05$) ** Coefficient of variation among accessions. Results are expressed as means ± standard deviation (n = 3).

5.5.2. Total carotenoid content

The total carotenoid content of the evaluated criollo mexican avocados significantly varied among accessions ($p < 0.05$). The highest carotenoid content was shown for the Toch-2 accession with 7.83 mg eq. of β-carotene • 100 g-1 f. w (Table 1). The carotenoid content is higher than the reported by Jacobo-Velázquez and Hernández-Brenes [26], who showed a carotenoid content less than 1.5 mg of β-carotene • 100 g-1 f.w. in paste of avocado 'Hass' cultivar. Carotenoids such as lutein and zeaxanthin, have been reported with photo-protective activity, DNA protection, and against diseases of prostate cancer, liver, and breast [9, 10, 27-29].

5.5.3. Free Radical-Scavenging Activity

The antioxidant activity, as measured by the ABTS method, for the criollo mexican avocado was significantly different between accessions ($p < 0.05$). The

antioxidant capacity of criollo mexican avocado accessions ranged from 7.58 (Atli-4) to 88.62 (Tochimilco 2) mmol TE 100 g^{-1} f. w. (Table 1). The antioxidant capacity of Toch-2 accession from criollo mexican avocado is higher than the reported by Rodríguez-Carpena et al. [4] of lipophilic extracts from 'Hass' and ‘Fuerte’ avocado pulp cultivars with antioxidant capacity values with 64 and 56 mmol TE 100 g^{-1} f. w., respectively. The antioxidant activity of the lipophilic fraction could be attributed to the synergistic action of unsaturated fatty acids and other compounds such as carotenoids, and tocopherols like vitamin E [29-31].

5.5.4. Fatty acid profile

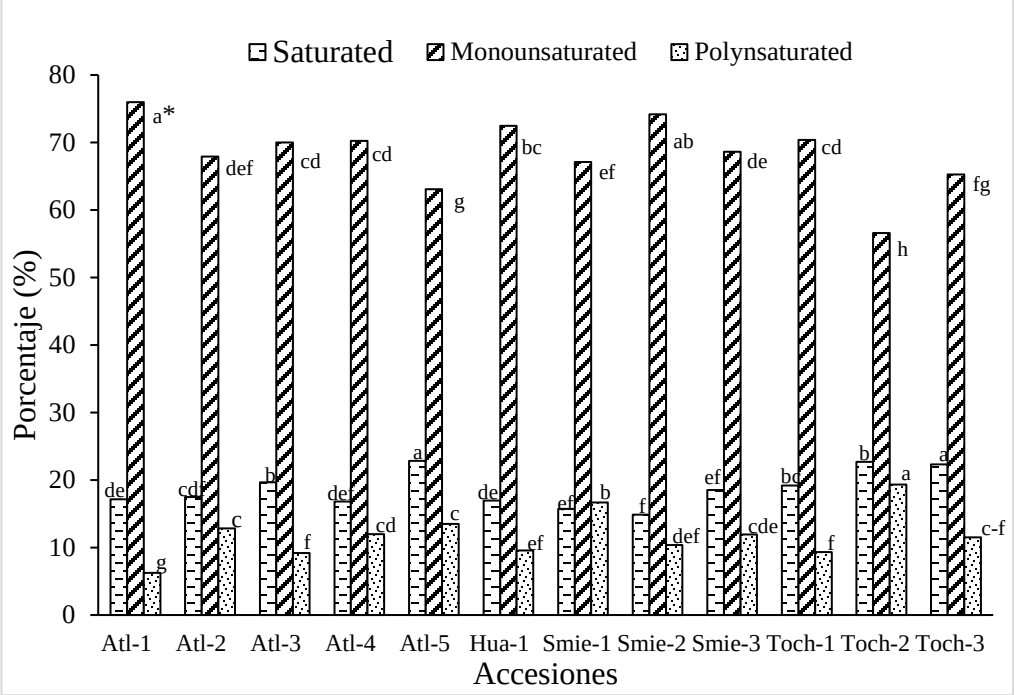
Oleic and palmitic acids were the most abundant fatty acids in the criollo mexican avocado accessions (Table 19). Smie-2, Hua-1 and Atl-1 were the accessions with the highest oleic acid content with 74.19 ± 0.27, 72.47 ± 0.10 and 72.37 ± 0.20, respectively. Moreover, the most elevated palmitic acid was observed in Atl-5 and Toch3 with 22.68 ± 0.76 and 22.17 ± 0.35, respectively. Similarly, Ferreyra et al. [6] reported oleic acid in 'Hass' avocado of around 66.0-71.1 % and palmitic acid from 14.69 to 22.64 % [5, 6, 32]. Furthermore, the content of linoleic acid (omega-6) in criollo mexican avocado accessions ranged between 5.62-16.85 %, and linolenic acid (omega-3) ranged from 0.63-2.85 %. Toch-2 was the accession with the highest linoleic and linolenic acid content with 16.85 ± 0.95 and 2.49 ± 0.36 %, respectively. Temperature is the factor that most influences the profile of fatty acids [6], however in this study it was not possible to observe a determinant effect of temperature or altitude of the collection site. Interestingly, trans fatty acids were not detected in any criollo mexican avocado accessions. Omega-3 and omega-6 are fundamental in the formation of the structure and functionality of the nervous and visual system of humans and can act as therapeutic agents against inflammatory, cardiovascular and neurodegenerative diseases [8, 33].

Table 19. Content (%) of fatty acids in fruit pulp from 12 accessions of criollo mexican avocado collected in different producing areas of the state of Puebla, Mexico.

Sample	Palmitic C16:0	Palmitoleic C16:1	Stearic C18:0	Oleic C18:1,	Linoleic C18:2	Linolenic C18:3
Hua-1	16.81 ± 0.13 ^{de}	N.D.	0.16 ± 0.01 ^{a}	72.47 ± 0.10 ^{ab}	7.46 ± 0.04 ^{h}	2.10 ± 0.06 ^{abc}
Atli-1	16.98 ± 0.49 ^{de*}	3.59 ± 0.31	0.16 ± 0.02 ^{a}	72.37 ± 0.20 ^{ab}	5.62 ± 0.30 ^{i}	0.63 ± 0.01 ^{d}
Atl-2	17.35 ± 0.83 ^{cde}	3.64 ± 1.78	0.15 ± 0.01 ^{a}	64.27 ± 3.41 ^{ef}	9.98 ± 0.74 ^{def}	2.85 ± 1.23 ^{a}
Atl-3	19.47 ± 1.31 ^{b}	N.D.	0.17 ± 0.01 ^{a}	70.00 ± 1.38 ^{bc}	8.28 ± 0.10 ^{gh}	0.89 ± 0.04 ^{d}
Atl-4	16.66 ± 0.16 ^{de}	N.D.	0.15 ± 0.01 ^{a}	70.24 ± 0.88 ^{bc}	10.76 ± 0.76 ^{d}	1.21 ± 0.03 ^{cd}
Atl-5	22.68 ± 0.76 ^{a}	N.D.	0.14 ± 0.02 ^{a}	63.10 ± 1.47 ^{f}	12.40 ± 0.82 ^{c}	1.07 ± 0.01 ^{cd}
Toch-1	19.04 ± 0.29 ^{bc}	0.23 ± 0.15	0.15 ± 0.02 ^{a}	70.14 ± 1.45 ^{bc}	8.45 ± 0.69 ^{fgh}	0.89 ± 0.20 ^{d}
Toch-2	22.64 ± 1.19 ^{a}	N.D.	0.07 ± 0.08 ^{b}	56.58 ± 0.60 ^{g}	16.85 ± 0.95 ^{a}	2.49 ± 0.36 ^{ab}
Toch-3	22.17 ± 0.35 ^{a}	N.D.	0.16 ± 0.01 ^{a}	65.26 ± 0.04 ^{def}	10.53 ± 0.24 ^{de}	0.98 ± 0.08 ^{d}
Smie-1	15.54 ± 0.31 ^{ef}	N.D.	0.17 ± 0.00 ^{a}	67.12 ± 0.16 ^{cde}	15.20 ± 0.18 ^{b}	1.48 ± 0.08 ^{bcd}
Smie-2	14.69 ± 0.07 ^{f}	N.D.	0.18 ± 0.00 ^{a}	74.19 ± 0.27 ^{a}	9.10 ± 0.21 ^{efg}	1.27 ± 0.12 ^{cd}
Smie-3	18.38 ± 0.27 ^{bcd}	N.D.	0.16 ± 0.00 ^{a}	68.62 ± 0.16 ^{cd}	10.57 ± 0.12 ^{de}	1.36 ± 0.04 ^{cd}
CV**	3.51	84.19	15.41	1.86	5.12	26.22

* Values with the same letter within each column are statistically equal (Tukey; $p \leq 0.05$), ** Coefficient of variation among accessions, N. D.: Not detected. Results are expressed as means ± standard deviation (n = 3).

Overall, MUFA were the most abundant fatty acids in criollo mexican avocados (56.6 - 78.0 %) (Figure 15); which is in agreement with the reported by Dreher and Davenport [34] for 'Hass' avocado (71 %). Moreover, Atl-1 and Smie-2 accessions showed the highest MUFA content (75.96 and 74.19 %, respectively). MUFA are of great interest for their health-promoting properties; it has been reported that oleic acid (omega-9) and palmitoleic acid (omega-7) may decrease the total cholesterol and LDL content in diabetic patients by replacing saturated fatty acids, reducing triglycerides and increasing or maintaining the level of HDL, which in turn may prevent cardiovascular complications, a common comorbidity in diabetes [31]. Furthermore, SFA represented only from 15.7 - 22.8 % of the total oils in criollo mexican avocado accessions; and was most abundant in Atl-5, Toch-2 and Toch-3 (22.82, 22.78 and 22.33 %, respectively). Similarly, Dreher and Davenport [34] reported that avocado 'Hass' contains around 16 % of SFA. On the other hand, PUFA were the less abundant in the samples, and Toch-2 with 19.34 % showed the highest content; while for 'Hass' avocado, only 13 % has been reported [34]. PUFA are commonly known for their anti-inflammatory and cardiovascular beneficial properties [34, 35].



* Values with different letter in the same type of fatty acid are statistically different (Tukey; $p \leq 0.05$). Results are expressed as means ± standard deviation (n = 3).

Figure 15. Saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in fruit pulp from 12 accessions of criollo mexican avocado.

The results suggest that there are outstanding accessions of criollo Mexican avocado such as Atl-4, Toch-1 and Toch-2 with higher amounts of PUFA, MUFA and carotenoids than those of 'Hass' cultivars that could be used for the selection of new commercial cultivars or in the genetic improvement, for the production of oil for the cosmetic and food industries or for the benefit of the health of consumers.

5.6. Conclusions

This study shows that criollo mexican avocado fruits have nutraceutical compounds such as carotenoids, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in quantities similar to those of commercial cultivars, however, it is advisable to carry out additional studies to evaluate the content of phenolic compounds, the potential to market them as a fresh vegetable and the acceptance in people who do not include this type of fruit in their diet.

5.7. References

1. Galindo-Tovar ME, Ogata-Aguilar N, Arzate-Fernández AM (2007) Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genet Resour Crop Evol* 55:441–450. https://doi.org/10.1007/s10722-007-9250-5

2. FAOSTAT Avocados crop production. 2017 http://www.fao.org/faostat/en/#data Accessed July 13, 2019

3. Ortiz-Moreno A, Dorantes L, Galíndez J, Guzmán RI (2003) Effect of Different Extraction Methods on Fatty Acids, Volatile Compounds, and Physical and Chemical Properties of Avocado (*Persea americana* Mill.) Oil*. J Agric Food Chem* 51 (8):2216-2221. doi:https://doi.org/10.1021/jf0207934

4.Rodríguez-Carpena J-G, Morcuende D, Andrade M-J, Kylli P, Estévez M (2011) Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *J Agric Food Chem* 59 (10):5625-5635. doi:https://doi.org/10.1021/jf1048832

5. Carvalho CP, Bernal EJ, Velásquez A, Régulo CV (2015) Fatty acid content of avocados (*Persea americana* Mill. cv. Hass) in relation to orchard altitude and fruit maturity stage. *Agron Colomb* 33 (2):220-227 doi:https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v33n2.49902

6. Ferreyra R, Sellés G, Saavedra J, Ortiz J, Zúñiga C, Troncoso C, Rivera SA, González-Agüero M, Defilippi BG (2016) Identification of pre-harvest factors that affect fatty acid profiles of avocado fruit (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' at harvest. S Afr J Bot 104:15-20. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.10.006

7. Salazar MJ, El Hafidi M, Pastelin G, Ramírez-Ortega MC, Sánchez-Mendoza MA (2005) Effect of an avocado oil-rich diet over an angiotensin II-induced blood pressure response. *J Ethnopharmacol* 98 (3):335-338. doi:https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.044

8. Wysoczański T, Sokoła-Wysoczańska E, Pękala j, Lochyński S, Czyż K, Bodkowski R, Herbinger G, Patkowska-Sokoła B, Librowski T (2016) "Omega-3 Fatty Acids and their Role in Central Nervous System - A Review", Current Medicinal Chemistry 23: 816. https://doi.org/10.2174/0929867323666160122114439

9. Lu Q-Y, Zhang Y, Wang Y, Wang D, Lee R-p, Gao K, Byrns R, Heber D (2009) California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, Tocopherol, Fatty Acid, and Fat Content during Maturation and from Different Growing Areas. *J Agric Food Chem* 57 (21):10408-10413. doi:10.1021/jf901839h

10. Kawagishi H, Fukumoto Y, Hatakeyama M, He P, Arimoto H, Matsuzawa T, Arimoto Y, Suganuma H, Inakuma T, Sugiyama K (2001) Liver Injury Suppressing Compounds from Avocado (*Persea americana*). *J Agric Food Chem* 49 (5):2215-2221. doi:10.1021/jf0015120

11. Lu Q-Y, Arteaga JR, Zhang Q, Huerta S, Go VLW, Heber D (2005) Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substances. *J Nutr Biochem* 16 (1):23-30. doi:https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.08.003

12. Butt AJ, Roberts CG, Seawright AA, Oelrichs PB, MacLeod JK, Liaw TYE, Kavallaris M, Somers-Edgar TJ, Lehrbach GM, Watts CK, Sutherland RL (2006) A novel plant toxin, persin, with *in vivo* activity activity in the mammary gland, induces Bim-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cancer Ther* 5 (9):2300

13. Evans JA, Johnson EJ (2010) The Role of Phytonutrients in Skin Health. *Nutrients* 2 (8):903-928. doi:10.3390/nu2080903

14. Antasionasti I, Riyanto S, Rohman A (2017) Antioxidant Activities and Phenolics Contents of Avocado (*Persea americana* Mill.) Skin *In Vitro*. *Res J Med Plants*, 11: 55 61. doi:10.3923/rjmp.2017.55.61

15. Corrales-García J E, García-Mateos M R, Martínez-López E, Barrientos-Priego A F, Ybarra-Moncada M C, Ibarra-Estrada E, Méndez-Zúñiga S M, Becerra-Morales, D. (2019) Anthocyanin and Oil Contents, Fatty Acids Profiles and Antioxidant Activity of Mexican Landrace Avocado Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(2), 210–215. doi:10.1007/s11130-019-00721-1

16. Márquez C J, Yepes D P, Sanchez L, Osorio J A (2014) Cambios físico-químicos del aguacate (*Persea americana* mill. cv. “Hass”) en poscosecha para dos municipios de antioquia. *Temas Agrarios*, 19(1), 32. doi:10.21897/rta.v19i1.723

17. Gahukar R T (2014) Factors affecting content and bioefficacy of neem (Azadirachta indica A. Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control: A review. *Crop Protection*, 62, 93–99. doi:10.1016/j.cropro.2014.04.014

18. AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official Methods of Analysis, 16th Edition. AOAC International, Gaithersburg, MD

19. Metcalfe LD, Schmitz AA, Pelka JR (1966) Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 38:514–515. https://doi.org/10.1021/ac60235a044

20. AOAC (2012) Oficial Method 969.33. Fatty acids in oils and fats. Preparation of methyl esters. Boron trifluoride method. AOAC International 19 th Ed.

21. Rodríguez-Amaya DB (2001) A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI press Washington, DC, USA

22. 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 Radic Biol Med* 26 (9):1231-1237. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3.

23. Ozdemir F, Topuz A (2004) Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry* 86 (1):79-83. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.012

24. Ortiz M A, Dorantes A L, Gallndez M J, Cárdenas S E (2004) Effect of a Novel Oil Extraction Method on Avocado (*Persea americana* Mill) Pulp Microstructure. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(1), 11–14. doi:10.1007/s11130-004-0032-3

25. Espinosa-Alonso L G, Paredes-López O, Valdez-Morales M, Oomah B D (2017) Avocado oil characteristics of Mexican creole genotypes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(10), 1600406. doi:10.1002/ejlt.201600406

26. Jacobo-Velázquez D A, Hernández-Brenes C (2012). Stability of avocado paste carotenoids as affected by high hydrostatic pressure processing and storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 121–128. doi:10.1016/j.ifset.2012.05.001

27.Agarwal S, Rao AV (2000) Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ* 163 (6):739

28. Cohen LA (2002) A Review of Animal Model Studies of Tomato Carotenoids, Lycopene, and Cancer Chemoprevention. *Exp Biol Med* 227 (10):864-868. doi:10.1177/ 153537020222701005

29. Palombo P, Fabrizi G, Ruocco V, Ruocco E, Fluhr J, Roberts R, Morganti P (2007) Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin Pharmacol Phys* 20 (4):199-210. doi:10.1159/000101807

30. Caramia G, Gori A, Valli E, Cerretani L (2012) Virgin olive oil in preventive medicine: From legend to epigenetics. *Eur J Lipid Sci Technol* 114 (4):375-388. doi:doi:10.1002/ejlt.201100164x

31. Traber M G, Atkinson J (2007) Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1), 4–15. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.02

32. Yanty NAM, Marikkar JMN, Long K (2011) Effect of Varietal Differences on Composition and Thermal Characteristics of Avocado Oil. *J Am Oil Chem Soc* 88 (12):1997-2003. doi:10.1007/s11746-011-1877-x

33. Valenzuela B A, Nieto K S (2003) Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. *Revista Chilena de Pediatría*, 74(2). doi:10.4067/s0370-41062003000200002

34. Dreher ML, Davenport AJ (2013) Hass avocado composition and potential health effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 53:738–750. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.556759

35. Micha R, Mozaffarian D (2010) Saturated Fat and Cardiometabolic Risk Factors, Coronary Heart Disease, Stroke, and Diabetes: a Fresh Look at the Evidence. *Lipids* 45 (10):893-905. doi:doi:10.1007/s11745-010-3393-4

6. VARIABILIDAD GENÉTICA DE AGUACATE CRIOLLO MEXICANO (*Persea americana* var. *drymifolia*)[9]

6.1. Resumen

El aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*), es un árbol que crece principalmente de manera silvestre en los traspatios de las casas rurales. Los frutos presentan una gran diversidad en tamaños, formas y colores, ya que es una especie de polinización abierta, lo que contribuye a que genéticamente sean muy variables. Principalmente, se utiliza como portainjerto de los cultivares comerciales como Hass y Fuerte porque les trasfiere ventajas agronómicas, entre las que destaca resistencia contra plagas y enfermedades y gran capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales. Actualmente, las investigaciones de este tipo de "criollos" se están centrando en sus propiedades nutracéuticas y funcionales debido a su contenido de antioxidantes, grasas insaturadas, propiedades anticancerígenas y antimicrobianas. Sin embargo; el contenido de fitoquímicos y propiedades nutracéuticas en este tipo de frutos es muy variable, por lo que es conveniente conocer si la variación genética que presenta este tipo de aguacate criollo está relacionada con la cantidad de fitoquímicos que produce. Se realizó una recolección de hojas de 11 accesiones de aguacate criollo en tres regiones productoras de Puebla, México (Atlixco, Tochimilco y San Miguel Tecuanipa). Se utilizaron 10 iniciadores ISSR para determinar la variabilidad genética mediante un análisis de similitud utilizando el coeficiente de Jaccard y se agruparon según el método UPGMA; además se realizó una prueba de Mantel para determinar la posible correlación entre la variabilidad genética y la producción de compuestos liposolubles. El objetivo de esta investigación fue estimar la variabilidad genética de aguacate criollo mexicano mediante marcadores moleculares ISSR y determinar la relación que tienen los factores genéticos en la producción de compuestos liposolubles. Las accesiones evaluadas presentaron alto grado de polimorfismo genético al analizarse con 184 marcadores ISSR y formaron 11 clados con una tendencia a agruparse según el lugar de recolección. Los resultados obtenidos indicaron que las accesiones de aguacate criollo utilizadas en el estudio no mostraron una correlación entre la variabilidad genética y la producción de compuestos liposolubles.

Palabras clave: marcadores ISSR, aguacate criollo mexicano, variabilidad genética

---

[9] Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora: Ma. Del Rosario García Mateos

6.2. Abstract

Genetic variability of mexican avocado criollo (*Persea americana* var. *drymifolia*) [10]

The Mexican criollo avocado (*Persea americana* var. *drymifolia*), is a tree that grows almost in the wild in the backyards of rural houses. The fruits have a wide diversity in sizes, shapes and colors, because it is a kind of open pollination, which contributes to genetically be highly variable. Today, it is mainly used as a rootstock in commercial cultivars such as Hass and Fuerte because it gives them agronomic advantages, including resistance against pests and diseases and widw ability to adapt to diverse environmental conditions. Currently, research on this type of "criollo" is focused on its nutraceutical and functional properties, mainly due to its content of antioxidants, unsaturated fats, anticancer and antimicrobial properties. However; The content of phytochemicals and nutraceutical properties in this type of fruit is highly variable, so it is convenient to know if the genetic variation that this type of criollo avocado presents is related to the amount of phytochemicals. Leaves from 11 accessions of Mexican criollo avocado were collected in three producing regions of Puebla, Mexico (Atlixco, Tochimilco and San Miguel Tecuanipa). Ten ISSR primers were used to determine the genetic variability by a similarity analysis using the Jaccard coefficient and they were grouped according to the UPGMA method, in addition a Mantel test was performed to determine the possible correlation between the genetic variability and the production of lipid-soluble compounds. The objective of this research was to determine the genetic variability of Mexican criollo avocado using ISSR molecular markers and to determine by the relationship that genetic factors have in the production of lipid-soluble compounds. The analyzed accessions presented a high degree of genetic polymorphism when analyzed with 184 ISSR markers and formed 11 clades with a tendency to group according to the collection site. The results obtained indicate that the accesions used in the study did not show a correlation between genetic variability and the production of lipid-soluble compounds.

Key words: ISSR, avocado criollo, genetic variability

---

[10] Tesis of Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: Sergio Manuel Méndez Zúñiga
Director de tesis: J. Joel E. Corrales García
Co-directora de tesis: Ma. Del Rosario García Mateos

6.3. Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill) pertenece a la familia *Lauraceae* y se ha clasificado convenientemente en tres razas ecológicas o variedades botánicas: la mexicana [*P. americana* var. *drymifolia* (Schlecht. & Cham.) Blake], la guatemalteca (*P. americana* var. *guatemalensis* L. Wms.) y la antillana (*P. americana* var. *americana* Mill.) (Bergh, 1995; Bergh y Lahav, 1996). México es considerado como su centro de origen y domesticación, también es el principal productor y exportador en el mundo, además su consumo está ‘Fuerte’mente arraigado en todo el territorio nacional (> 10 kg per cápita) integrándose en diversos platillos tradicionales (FAOSTAT, 2019; SIAP, 2019).

El cv. Hass es el más comercializado a nivel mundial; sin embargo, en México existen variedades nativas como el aguacate criollo mexicano con poca demanda y que se comercializa casi exclusivamente de manera regional (Fiedler *et al*., 1998). Las características físico-mecánicas del fruto y su alta perecibilidad dificultan su comercialización, motivo por el cual los productores han optado por producir cultivares como 'Hass' y ‘Fuerte’ con mejores características hortícolas (Rincón-Hernández *et al*, 2011). Actualmente, el aguacate criollo es una variedad subutilizada y su principal uso es como porta injerto para las variedades comerciales debido a las características agronómicas que les transfiere, como son, resistencia a plagas y enfermedades y facilidad de adaptación a diversas condiciones edafoclimáticas (Torres-Gurrola *et al*., 2009).

Los frutos se integran en la dieta de los consumidores y representan una fuente de ingreso para productores regionales, además, forma parte de la cultura de las comunidades donde se produce. El árbol se aprovecha de manera integral; la madera se utiliza en la fabricación de muebles y artesanías, las hojas como condimento en platillos tradicionales y en remedios contra diversos padecimientos al igual que la semilla. Particularmente para la semilla, se han

reportado propiedades farmacológicas muy importantes y se ha utilizado desde tiempos prehispánicos formando parte del conocimiento empírico de los pueblos nativos (Ben-ya'acov *et al*., 1992; Gama & Gómez, 1992).

A diferencia de las variedades comerciales, el aguacate criollo mexicano se reproduce por semillas, por lo que sigue siendo una especie en constante evolución y de una variabilidad genética muy alta por ser una especie con alto grado de alogamia. La progenie presenta características físicas y morfológicas impredecibles con un alto grado de polimorfismo que se expresa en frutos de diferentes tamaños, formas y colores (Figura 16), lo que representa una fuente de material genético de gran valor agronómico para el mejoramiento y creación de nuevas variedades (Lahav & Lavi, 2007; Sánchez-Pérez, 1999).

Figura 16. Frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*).

La producción de fitoquímicos como compuestos fenólicos y lípidos tiene una variación muy alta entre los frutos, que se ha atribuido principalmente a las condiciones medioambientales en las que se desarrollan los árboles (Darré, 2019). Por otra parte, la variación genética dentro de una población es otro factor determinante en la producción de metabolitos, por lo que antes de promover la utilización de variedades o especies, es necesario conocer su variabilidad genética conservada en su hábitat natural. Antes de la explotación de los recursos genéticos disponibles en un ecosistema se debe prestar atención a las especies silvestres, realizar inventarios para identificar y clasificar genotipos

nativos sobresalientes en algunas características deseables con propósitos de conservación, mejoramiento genético y desarrollo de nuevas variedades. Lo anterior permitirá lograr el aprovechamiento y uso sustentable de los recursos genéticos disponibles en una población sin afectar la biodiversidad, según lo recomienda El Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI, 2000).

Recientemente, el aguacate criollo mexicano ha despertado el interés de los investigadores desde un punto de vista nutracéutico y farmacológico; en este sentido, se ha reportado un alto contenido de antioxidantes en la piel, atribuido principalmente a los pigmentos presentes, principalmente antocianinas (Corrales-García *et al*., 2019). Además, la pulpa del fruto contiene carotenoides y un porcentaje de ácidos grasos insaturados superior al de las variedades comerciales, los cuales han sido relacionados con una buena salud cardiovascular (Méndez-Zúñiga *et al*., 2019). En adición, en recientes investigaciones se ha reportado la acción contra padecimientos degenerativos como leucemia y distintos tipos de cáncer (Flores-Álvarez., 2018; García-Moreno *et al*., 2017; Guzmán-Rodríguez *et al*., 2016; Lara-Márquez *et al*, 2020).

En el aguacate, como en otras especies frutales, tradicionalmente se han utilizado caracteres morfológicos y bioquímicos para identificar y clasificar genotipos y accesiones, sin embargo, dichos caracteres son afectados por las condiciones medioambientales reduciendo así su confiabilidad. Actualmente, se ha logrado la clasificación y separación de especies de una manera más confiable utilizando marcadores moleculares SSR (Secuencias Simples Repetidas), ISSR (Inter Secuencias Simples Repetidas) y RAPDs (Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico) aprovechando las propiedades del ADN de mantener su estabilidad ante las condiciones medioambientales (Azofeifa-Delgado, 2006; Cruz-Maya *et al*., 2018; Cuiris-Pérez *et al.*, 2009; Oyama, 2017; Reyes-Alemán, Valadez-Moctezuma, Simuta-Velázco, Barrientos-Priego & Gallegos-Vázquez, 2015).

Las huellas genéticas derivadas de los microsatélites, tienen varias ventajas como su carácter codominante, alto polimorfismo y reproducibilidad alta, las cuales son apropiados para estudiar diversidad y variabilidad genética y

establecer relaciones intra o interespecíficas. Desde hace dos décadas se han descrito diferentes microsatélites en aguacate (Ashworth *et al*., 2004; Borrone *et al*., 2007; Sharon *et al.* 1997) y se han utilizado para estudios de variabilidad y diversidad genética (Ashworth y Clegg, 2003; Schnell *et al*., 2003).

En el caso específico del aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) se han utilizado marcadores ISSR con éxito en propósitos de clasificación y agrupamiento (Cuiris-Pérez *et al*., 2009; Sánchez-González, Gutiérrez-Díez & Mayek-Pérez, 2019). El objetivo de este trabajo fue determinar la variabilidad genética de frutos de aguacate criollo mexicano recolectados en el estado de Puebla, México y su correlación con la producción de compuestos lipofílicos en la pulpa.

6.4. Materiales y métodos

6.4.1. Material vegetal

Se realizó una recolecta de hojas de diferentes accesiones de árboles de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) en tres zonas productoras del estado de Puebla, México (Cuadro 20). Las accesiones fueron nombradas con claves según el lugar y orden de recolección; cinco accesiones en el municipio de Atlixco (Atl-1, Atl-2, Atl-3, Atl-4 y Atl-5), tres del municipio de Tochimilco (Toch-1, Toch-2 y Toch-3) y tres más del municipio de San Miguel Tecuanipa (Smie-1, Smie-2 y Smie-3). Además, se recolectaron hojas de aguacate 'Hass' y ‘Fuerte’ en el municipio de Atlixco para ser utilizados como referencia en el análisis de variabilidad genética, debido a que como se multiplican asexualmente su material genético es más estable y presentan menor variabilidad genética. Las hojas se recolectaron sanas y de características homogéneas, posteriormente fueron transportadas en condiciones de refrigeración al laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Autónoma Chapingo en donde se lavaron con hipoclorito de sodio (2 % v/v) y se almacenaron en condiciones criogénicas en nitrógeno líquido hasta el momento de su análisis.

Cuadro 20. Características climáticas de las zonas de recolecta de hojas de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. drymifolia) en el Estado de Puebla, México.

Municipio	Tipo de clima	Temperatura media (°C)	Precipitación (mm al año)	Altitud (m.s.n.m.)
Atlixco	Cwb	19.4	882	1848
Tochimilco	Cwb	17.7	981	2078
San Miguel Tecuanipa	Cwb	16.1	1146	2292

*Cwb: Templado con invierno seco según el sistema Köppen-Geiger

6.4.2. Extracción de ADN

La extracción y purificación del ADN se realizó de acuerdo al método de CTAB 2 % (cetyltrimethlyammonium bromide) (Weising *et al*., 2005) con algunas modificaciones. Se utilizaron aproximadamente 0.3 g de tejido de las hojas ya congeladas en nitrógeno líquido y se maceraron manualmente en mortero utilizando más nitrógeno líquido cuando fue necesario. Posteriormente el tejido macerado se resuspendió en 1 mL de buffer CTAB 2X (0.1M Tris-HCl, 1,4 M NaCl, 0,02 M EDTA, 2 % CTAB) más 0.2 % (v / v) de β-mercaptoetanol en tubos Eppendorf de 2 mL y fueron incubados a 65 °C durante 45 min.

Se adicionaron 400 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1, v / v) y se centrifugó la muestra a 12,000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se transfirió a otro tubo Eppendorf, enseguida se agregó un volumen de isopropanol y se centrifugó a 12,000 rpm durante 20 min. Posteriormente, se desechó la fase líquida y se lavó el pellet con etanol 70 %. Finalmente, el pellet fue secado a temperatura ambiente y resuspendido en 100 µL de buffer TE (0,01 M Tris-HCl, 0.001M EDTA). La cantidad y calidad fue determinada mediante el uso de un nanodrop (ThermoScientific, USA).

6.4.3. Condiciones de PCR

La Reacción en Cadena de la Polimerasa se realizó bajo las siguientes condiciones de tiempo y temperatura: un ciclo inicial de desnaturalización de 5 min a 94 °C, 35 ciclos comprendiendo desnaturalización, alineamiento y extensión de 45 s a 94 °C, 45 s a 55 °C y 2 min a 72 °C, respectivamente, y al final un ciclo de extensión de 10 min a 72 °C. Los componentes de la reacción se agregaron en las siguientes cantidades y

concentraciones: 2 µL de ADN (20 ng μL^{-1}), 0.15 µL enzima Taq polimerasa (5 U μL^{-1}), 2.5 mL dNTPs (500 µM), 2.5 µL amortiguador Taq (1x), 1.25 µL de $MgCl_2$ (25 mM), 2 µL de iniciador y 2.6 µL de agua, sumando un volumen total de 13 µL por reacción. Se utilizaron 10 iniciadores con temperaturas de fusión (Tm) similares según la regla de Wallace (Cuadro 21) (Wallace *et al*, 1979).

Cuadro 21. Iniciadores ISSR utilizados

Número de oligo	Secuencia del iniciador (5' – 3')	Temperatura de fusión (Tm°)
816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	51.2
817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	52.8
818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	52.1
825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	49.3
834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	49.8
840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	52.9
857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	52.1
860	TGT GTG TGT GTG TGT GRA	49.3
880	GGA GAG GAG AGG AGA	49.1
891	HvH TGT GTG TGT GTG TG	51.8

C: Citocina, A: Adenina, G: Guanina, T: Timina, H: A, C o T, v: A, C o G

6.4.4. Electroforesis

Los productos amplificados con PCR se separaron mediante electroforesis vertical en geles de poliacrilamida 30 %. Para el corrimiento de las muestras se utilizaron 3 µL de la mezcla del producto de la reacción de PCR mezclada con 2 µL de buffer de carga "blue orange" y se utilizaron marcadores de peso molecular de 1 kb y 100 pb con fines de estimación de los marcadores de ADN. Los geles se corrieron a 254 volts por 90 min en amortiguador TBE 1X y se tiñeron con $AgNO_3$ 0.2 % de acuerdo al protocolo convencional (Sambrook, Fritsh & Maniatis.1989).

6.4.5. Análisis estadístico

Para realizar el análisis de variabilidad genética se elaboró una matriz de datos binarios a partir de los perfiles de bandas obtenidos en los geles, en donde se le asignaron 0 y 1 a la ausencia y presencia de bandas, respectivamente. Para el análisis se utilizó el criterio de distancias de similitud mediante el coeficiente Jaccard (Hancock, 2004). Para el análisis de variabilidad fitoquímica se realizó

una matriz utilizando los datos del contenido total de lípidos, contenido total de carotenoides y contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados reportados por Méndez-Zúñiga *et al*. (2019), para frutos de las mismas accesiones de aguacate y se realizó un análisis de agrupamiento utilizando un coeficiente de distancias para números reales. Se generó un dendograma para la variabilidad genética y otro para la variabilidad fitoquímica utilizando el método UPGMA (Sokal & Michener, 1958) en un agrupamiento tipo SAHN y se realizó un remuestreo ("bootstrapp") de 1000 repeticiones en el programa NTSYS pc (versión 2.1). Se realizó un Test de Mantel (Mantel, 1967) para determinar el grado de correlación entre dos matrices; una de las distancias genéticas entre accesiones de 11 árboles de aguacate criollo y la otra con las distancias químicas en el contenido de compuestos lipofílicos en los frutos de las mismas accesiones. Cabe señalar, que fue necesario transportar los datos reales de la matriz de compuestos fitoquímicos a datos binarios, esto se realizó fraccionando los datos en intervalos y asignándole un valor positivo (+) si la accesión presentaba un contenido de los compuestos fitoquímicos dentro de ese intervalo y cuando esto no ocurría se le asignaba un valor negativo (-).

6.5. Resultados y discusión

6.5.1. Calidad del ADN y fragmentos obtenidos con iniciadores ISSR.

Se obtuvieron concentraciones de ADN de 125.6 a 4364.8 ng μL^{-1} (Cuadro 22). La calidad del ADN fue aceptable según la relación 260/280 nm, puesto que un valor de ~ 1.8 generalmente refiere al ADN con calidad óptima; cuando la proporción de este valor resulta diferente, generalmente se debe a la presencia de proteínas, fenoles u otros metabolitos que absorben a 280 nm (Sánchez-Coello *et al*., 2012). Anteriormente, se ha reportado un alto contenido de fenoles en las hojas de aguacate (Rahman, Bohari & Utami, 2018); sin embargo, las concentraciones y calidad del ADN obtenidas con el protocolo de extracción utilizado fueron aceptables y en la amplificación con iniciadores ISSR se obtuvieron bandas con buena definición para su análisis

Cuadro 22. Cantidad y calidad de ADN de aguacate criollo mexicano

Accesión	Concentración (ng μL^{-1})	Relación 260/280 nm
Atl-1	508.3	2.03
Atl-2	1520.2	2.02
Atl-3	4364.8	2.01
Atl-4	568.5	2.04
Atl-5	291.4	1.96
Toch-1	125.6	1.89
Toch-2	478.8	2.01
Toch-3	367.7	1.98
Smie-1	262.1	1.97
Smie-2	145.5	1.96
Smie-3	286.8	1.97
'Hass'	722.4	1.99
'Fuerte'	359.4	1.97

La matriz binaria se realizó considerando un total de 184 fragmentos de ADN amplificados en las 11 accesiones de aguacate criollo mexicano (Cuadro 23), los iniciadores utilizados proporcionaron de 13 a 22 fragmentos de ADN con un polimorfismo de 61.5 a 97.8 %, lo que indica una variabilidad genética muy alta entre las accesiones evaluadas, éstos resultados son comparables con los obtenidos por Reyes-Alemán *et al*. (2018), quienes además reportan un nivel de polimorfismo alto en diferentes variedades de aguacate.

Cuadro 23. Fragmentos de ADN de aguacate criollo mexicano obtenidos con iniciadores ISSR

Iniciador	Número de fragmentos amplificados	Número de fragmentos polimórficos	Porcentaje de fragmentos polimórficos (%)
816	13	8	61
817	22	18	82
818	22	19	86
825	22	17	77
834	13	9	69
840	17	16	98
857	21	20	95
860	19	16	84
880	16	13	81
891	19	16	84

6.5.2. Variabilidad genética en aguacate criollo mexicano utilizando marcadores moleculares ISSR y variabilidad química utilizando compuestos lipofílicos.

El dendograma resultante contuvo 11 clados, esto indica una variabilidad genética muy alta tomando en cuenta que el análisis se realizó con 11 accesiones de aguacate criollo más dos cultivares comerciales (Figura 17). Las tres accesiones de aguacate criollo mexicano de Atlixco y dos Tochimilco se agruparon con el cv Hass con un coeficiente de similitud de 0.75; esto coincide con lo reportado por Rendón-Ayala *et* al. (2019) quienes indicaron que el aguacate 'Hass' tiene 61 % de parentesco con la raza mexicana y 39 %con la raza guatemalteca.

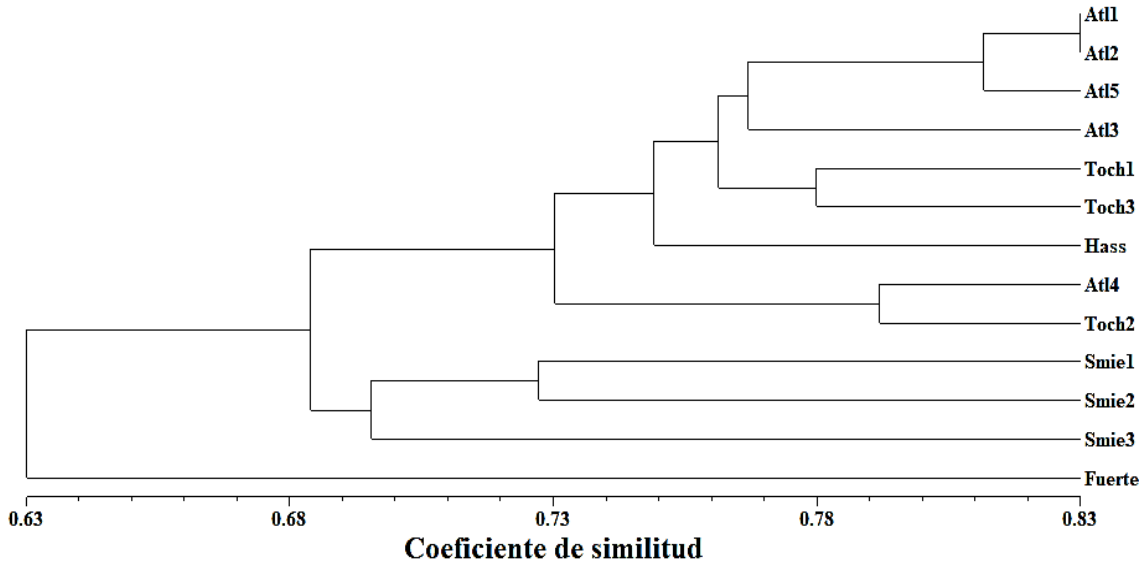


Figura 17. Dendrograma obtenido a partir de los perfiles generados con 10 iniciadores tipo ISSR en aguacate criollo mexicano y en las variedades 'Hass' y 'Fuerte'. Se utilizó el coeficiente Jaccard para el criterio de distancias de similitud y se utilizó el método UPGMA para el agrupamiento con un "boostraping" de 1000 repeticiones.

Por otra parte, el cultivar 'Fuerte' se mantuvo independiente, presentó un coeficiente de similitud con las accesiones de 0.63 (bajo). Cabe señalar que el cv. Fuerte es originario de la región de Atlixco y es considerado una hibridación entre las razas mexicana y guatemalteca. Chen *et al*. (2008) señalan que el cv.

Fuerte está más emparentado con la raza mexicana hasta en un 99 %; sin embargo, esto no sé confirmó en este estudio, lo cual podría atribuirse a la alta variabilidad genética entre individuos de la raza mexicana, debido a que es muy probable que para este tipo de análisis siempre exista variación en el coeficiente de similitud al comparar el cv. Fuerte con diferentes individuos de la raza mexicana.

Las accesiones colectadas en Atlixco (a excepción de la accesión Atl-4) formaron un grupo con un coeficiente de similitud de 0.77, las accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco formaron un grupo con un coeficiente de similitud de 0.73 en el que se incluyó la accesión Atl-4 y finalmente las accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa se agruparon con un coeficiente de similitud de 0.69. En general, las agrupaciones representadas en el dendograma se formaron según el lugar de recolección de las accesiones; cabe destacar que los coeficientes de similitud son bajos (< de 0.90) e indican una alta variación genética entre las accesiones evaluadas. En este contexto, Lahav y Lavi, (2007) atribuyen la variabilidad genética a la recombinación resultante de la polinización abierta que presenta este tipo de árbol; lo que se refleja también por la cantidad de fragmentos polimórficos de ADN observados (152 de un total de184).

Otro factor determinante que pudiese explicar la alta variabilidad en el aguacate criollo es el tamaño de su genoma (920 millones de pares de bases), en comparación con otras especies de vegetales como el arroz (*Oryza sativa* L.), cuyo genoma mide 320 millones de pares de bases. La gran cantidad de bases en el genoma del aguacate permite un mayor número de recombinaciones genéticas dada la forma de reproducción alógama, y por lo tanto un mayor grado de variabilidad genética (Goff *et al*., 2002). Todas las especies de aguacate tienen el mismo genoma; sin embargo, existen alelos y genes distintos en cada uno de ellos lo que contribuye a la variabilidad genética (Rendon-Ayala *et al*., 2019). La variabilidad genética que presentan las accesiones de aguacate criollo mexicano analizadas en este estudio le confiere un gran valor agronómico y ecológico a

este tipo de materiales genéticos que en su mayoría se encuentran inexplorados y que podrían ser de gran utilidad en futuros trabajos de mejoramiento genético y creación de nuevas variedades.

En otro experimento paralelo, se analizó la variabilidad en la producción de compuestos liposolubles, pero a partir de frutos de los mismos árboles que se consideraron para el análisis genético. En dicho estudio se determinó un alto grado de variabilidad con nueve clados (Figura 18). Las accesiones Atl-1 y Atl-3 formaron un grupo con un coeficiente de similitud de 0.56, separándose del resto. Las accesiones Smie-1 y Smie-2 presentaron el coeficiente de similitud más alto (0.82), sin embargo, no presentan una relación de similitud con la accesión Smie-3 recolectada en la misma zona de producción. Las accesiones provenientes del municipio de Tochimilco tuvieron un comportamiento similar a las de Smie-2 y contrario a lo que se esperaba, no formaron un grupo entre ellas. Al respecto Donetti y Terry, (2014) reportaron que, en la composición de bioactivos en la pulpa de aguacate, incluyendo ácidos grasos, influye principalmente el origen del fruto y los factores ambientales en pre y postcosecha; sin embargo, en este estudio no se observó una relación entre el lugar de producción y el contenido de lípidos.

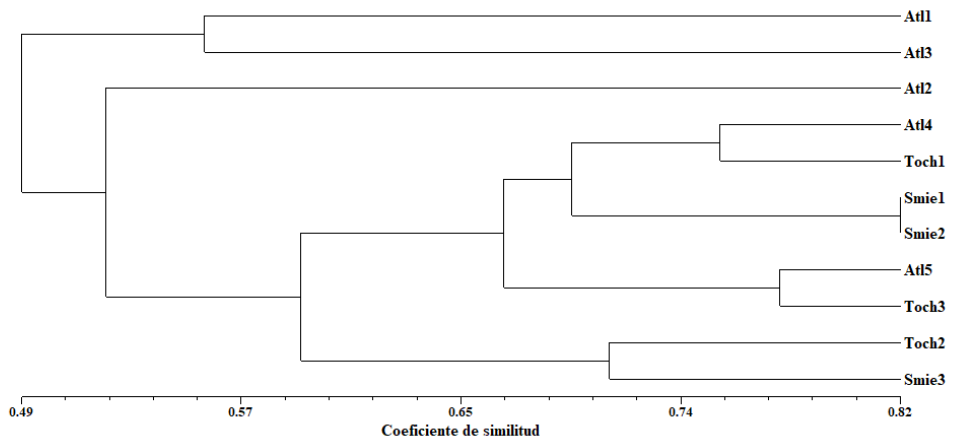


Figura 18. Dendrograma obtenido a partir de los descriptores químicos obtenidos de los compuestos lipofílicos en frutos de aguacate criollo mexicano. Se utilizó el coeficiente de distancias y se utilizó el método UPGMA para el agrupamiento con un “boostraping” de 1000 repeticiones.

En adición, los lípidos sintetizados en las plantas cumplen funciones muy específicas como son estructurales, de señalización, hormonales y de selectividad contra elementos externos. En este contexto, la variación en el contenido de lípidos entre accesiones se pudiera deber a las condiciones de estrés y necesidades de los frutos de manera individual (Salas *et al*., 2000). Los análisis de agrupamiento para establecer grupos genéticos en aguacate resultan más confiables cuando se realiza en conjunto con marcadores morfológicos o bioquímicos, debido al alto grado de polimorfismo que existe en la especie por lo que se sugiere que para futuras investigaciones se contemple la utilización de un mayor número de descriptores (Donneti & Terry,2014: Gutiérrez-Díez *et al*., 2009).

6.5.3. Correlación de matrices

Del análisis de correlación de matrices resultaron 56 puntos, los cuales presentan la similitud que tiene cada accesión respecto a las otras diez en dos parámetros, el genético utilizando los marcadores ISSR y el fitoquímico utilizando el contenido de compuestos liposolubles (Figura 19). El análisis de correlación de matrices, además, permitió comprobar que las accesiones Atl-1 y Atl-2 presentan el coeficiente de similitud más alto (0.83) utilizando los marcadores moleculares ISSR; y por otra parte, las accesiones Smie1 y Smie-2 colectadas en San Miguel Tecuanipa de diferentes árboles se comportaron como las accesiones más relacionadas en el análisis de agrupamiento utilizando los descriptores fitoquímicos con un coeficiente de similitud de 0.82. Sin embargo, no fue posible observar que las accesiones con mayor coeficiente de similitud obtenido con los marcadores ISSR sean las mismas que tengan también un coeficiente de similitud alto en la producción de compuestos liposolubles.

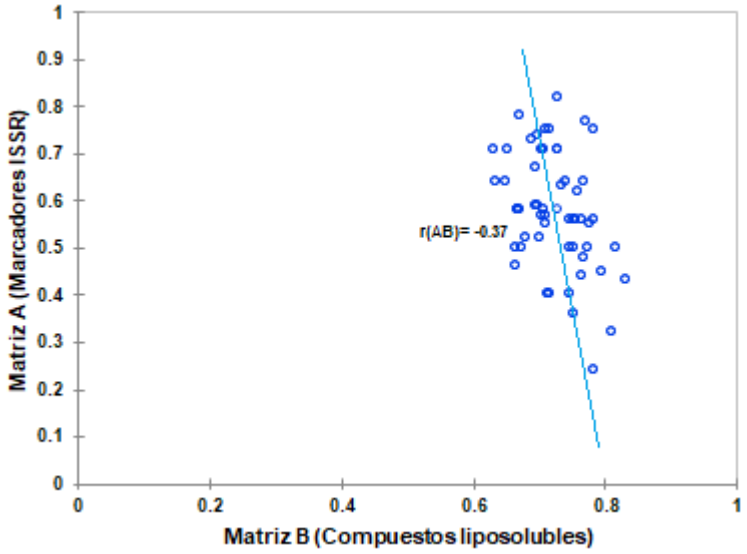


Figura 19. Correlación entre las matrices entre marcadores moleculares ISSR y compuestos liposolubles en aguacate criollo mexicano.

En el contexto anterior, el coeficiente de correlación entre la matriz de marcadores ISSR y la matriz de compuestos liposolubles fue de – 0.37, este valor es muy pobre (se considera una correlación alta cuando es >0.90); lo que indica que la variabilidad observada en el genoma no se relacionó con las cantidades de compuestos liposolubles. Es posible que, la relación hubiera sido diferente al evaluar variabilidad entre genes específicos asociados a la producción de estos compuestos liposolubles. En este contexto, Rubinstein *et al*. (2019) proponen trabajar con loci polimórficos utilizando solamente los genes de interés, como una manera más simple y menos engañosa que trabajar con todo el ADN para establecer grupos genéticos de aguacate criollo. En este contexto, Ge *et al*. (2020), reportaron avances en la identificación de genes involucrados en la biosíntesis de lípidos en los tejidos de pulpa y semilla de aguacate 'Hass', además, identificaron genes relacionados con la producción de lípidos específicos estableciendo un antecedente para próximas investigaciones de este tipo en aguacate criollo mexicano. Sin embargo, se debe de tomar en cuenta que los resultados obtenidos en aguacate 'Hass' por Ge *et al*. (2020), difícilmente son aplicables para aguacates criollos ya que estos últimos presentan mayor variabilidad genética debido a que para su reproducción se utiliza la semilla y en menor número las formas de reproducción asexual utilizadas en las variedades comerciales en las que se limita la variabilidad genética.

Anteriormente, en diversas investigaciones se han tratado de establecer relaciones entre la producción de lípidos y factores medioambientales. Ferreyra *et al*. (2016) reportó que a menores temperaturas aumentan los ácidos grasos de 18 carbonos y disminuyen los ácidos grasos de 16 carbonos y lo atribuyen a posibles mecanismos de defensa para evitar daños por frío y congelamiento, dado que el punto de fusión de los ácidos grasos disminuye al aumentar el número de insaturaciones. En otras investigaciones, Ozdemir & Topuz, (2004) y Villa-Rodríguez *et al*. (2011), reportaron que la producción de lípidos en los frutos de aguacate 'Hass' está determinado por la nutrición y el estado de madurez del fruto, a estados de madurez más avanzados aumentan los ácidos grasos saturado y monoinsaturados y disminuyen los ácidos grasos poliinsaturados. En adición, Carvalho, Bernal, Velásquez y Cartagena, (2015) reportaron que, a mayor altitud, existe una mayor producción de lípidos totales y que los ácidos grasos mono y poliinsaturados aumentan cuando los frutos se producen a altitudes más altas en donde la temperatura generalmente es más baja. Asimismo, se ha reportado que la producción de lípidos y el perfil de ácidos grasos se ve afectado con el cambio de las estaciones durante el año atribuyendo los cambios principalmente a la temperatura (Requejo-Tapia *et al*., 1999).

El análisis combinado de caracteres moleculares y descriptores fitoquímicos es útil para caracterizar la diversidad genética entre las variedades nativas de aguacate (Liu *et al.,*2020); sin embargo, falta profundizar en qué medida los factores genéticos contribuyen a una mayor o menor producción de dichos compuestos en el aguacate criollo mexicano.

6.6. Conclusiones

El uso de marcadores ISSR permitió determinar un alto grado de variabilidad genética en el aguacate criollo mexicano recolectado en Puebla, México. Estos resultados demuestran el gran valor ecológico y agronómico que tiene este tipo de materiales genéticos en la creación y mejoramiento de nuevas variedades, además del valor ecológico que tienen dentro del ecosistema donde se producen,

por lo que es necesaria su conservación y protección. Por otra parte, no se logró establecer una correlación positiva entre la producción de lípidos y la variabilidad genética, lo que indica que posiblemente su producción está principalmente relacionada con las condiciones ambientales.

7. Referencias

Alcaraz, M. L., & Hormaza, J. I. (2007). Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs. *Hereditas*, 144(6), 244–253. doi:10.1111/j.2007.0018-0661.02019x.

Ashworth, V. E. T., Kobayashi, M., De La Cruz, M., & Clegg, M. (2004). Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Scientia Horticulturae*, 101(3), 255–267. doi: 10.1016/j.scienta.2003.11.008

Azofeifa-Delgado, Á. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221. doi:10.15517/am.v17i2.5163

Barrientos, F.A. y López, L. (1998). Historia y Genética del Aguacate. Memoria. Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C. Coatepec Harinas, México. p 33-51

Ben-Ya'acov, A; Bufler, G.; Barrientos-Priego, A.; De La Cruz-Torres, E.; López-López, 1. (1992). A study of avocado germplasm resources, 1988-1990. 1.- General description of the intemational project and its findings. Proc. of Second World Avocado Congress 1992. pp. 535-541.

Bergh, B. O., and N. C. Elistrand (1986) Taxonomy of the avocado. Calif. Avocado Soc. Yrbk. 70: 135-145.

Cañas-Gutiérrez, G. P., Galindo-López, L. F., Arango-Isaza, R., & Saldamando-Benjumea, C. I. (2015). Diversidad genética de cultivares de aguacate (*Persea americana* Mill) en Antioquia, Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 129. doi:10.15517/am.v26i1.16936.

Carvalho, C. P., Bernal E., J., Velásquez, M. A., & Cartagena V., J. R. (2015). Fatty acid content of avocados (*Persea americana* Mill. cv. Hass) in relation to orchard altitude and fruit maturity stage. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 220–227. doi:10.15446/agron.colomb.v33n2.49902

Chen, H., Morrell, P. L., Ashworth, V. E. T. M., de la Cruz, M., & Clegg, M. T. (2008). Tracing the Geographic Origins of Major Avocado Cultivars. *Journal of Heredity*, 100(1), 56–65. doi:10.1093/jhered/esn068

Cruz-Maya, M. E., Barrientos-Priego, A. F., Zelaya-Molina, L. X., Rodríguez-de la O, J. L., … Reyes-Alemán, J. C. (2018). Phylogenetic analysis of some members

of the subgenus *Persea* (*Persea, Lauraceae*). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 24(2), 133–150. doi:10.5154/r.rchsh.2017.12.038

Cuiris-Pérez, H., Guillén-Andrade, H., Pedraza-Santos, M. E., López-Medina, J., & Vidales-Fernández, I. (2009). Genetic variability within mexican race avocado (*Persea americana* Mill.) Germplasm collections determined by ISSRs. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XV(2), 169–175. doi:10.5154/r.rchsh.2009.15.023

Darré, M. (2019). Factores de pre y poscosecha que afectan el contenido de compuestos antioxidantes en hortalizas. doi:10.35537/10915/73508

Donetti, M., & Terry, L. A. (2014). Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(1), 90–98. doi:10.1016/j.jfca.2013.11.011

Ferreyra, R., Sellés, G., Saavedra, J., Ortiz, J., Zúñiga, C., Troncoso, C., Rivera, S. A., González-Agüero, M. & Defilippi, B. G. (2016). Identification of pre-harvest factors that affect fatty acid profiles of avocado fruit (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' at harvest. *South African Journal of Botany*. 104:15-20. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.10.006

García-Moreno, M. A., De la Garza-Ramos, M. A., Martínez-Ávila, G. C. G., Gutiérrez-Diez, A., Ojeda-Zacarías, M. D. C., & Aguirre-Arzola, V. E. (2017). Inhibición de la expresión del sistema agr de Staphylococcus aureus resistente a meticilina mediante el uso de polifenoles totales de hojas de aguacate mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). Nova Scientia, 9(18), 200. doi:10.21640/ns.v9i18.737

Gama, C. L., Gómez P., A 1992. An ethnoecological approach tor the study of Persea: A case study in the maya area. Proc. of Second World Avocado Congress 1992., pp. 11-17

Ge, Y., Dong, X., Liu, Y., Yang, Y., & Zhan, R. (2020). Molecular and biochemical analyses of avocado (*Persea americana*) reveal differences in the oil accumulation pattern between the mesocarp and seed during the fruit developmental period. doi:10.21203/rs.3.rs-20746/v1

Gutiérrez-Díez, A., Sánchez-González, E. I., Torres-Castillo, J. A., Cerda-Hurtado, I. M., & Ojeda-Zacarías, M. D. C. (2015). Genetic Diversity of Mexican Avocado in Nuevo Leon, Mexico. *Molecular Approaches to Genetic Diversity*. doi:10.5772/59795

Hancock, J. M. (2004). Jaccard Distance (Jaccard Index, Jaccard Similarity Coefficient). *Dictionary of Bioinformatics and Computational Biology*. doi:10.1002/9780471650126.dob0956

Lahav, E., & Lavi, U. (2007). Avocado Genetics and Breeding. *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, 247–285. doi:10.1007/978-0-387-71201-7_8

Liu, Y., Ge, Y., Zhan, R., Lin, X., Zang, X., Li, Y. & Ma, W. (2020). Molecular Markers and a Quality Trait Evaluation for Assessing the Genetic Diversity of Avocado Landraces from China. *Agriculture*, 10(4), 102. doi:10.3390/agriculture10040102

Mhameed, S., Sharon, D., Kaufman, D., Lahav, E., Hillel, J., Degani, C., & Lavi, U. (1997). Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) cultivars and between *Persea* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(2), 279–286. doi:10.1007/s001220050411

Méndez-Zúñiga, S. M., Corrales-García, J. E., Gutiérrez-Grijalva, E. P., García-Mateos, R., Pérez-Rubio, V., & Heredia, J. B. (2019). Fatty Acid Profile, Total Carotenoids, and Free Radical-Scavenging from the Lipophilic Fractions of 12 Criollo Mexican Avocado Accessions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(4), 501–507. doi:10.1007/s11130-019-00766-2

Oyama, K. (2017). El uso de marcadores moleculares en las ciencias vegetales. *Botanical Sciences*, (60), 71. doi:10.17129/botsci.1520

Ozdemir, F. & Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. Food Chemistry, 86(1), 79–83. doi:10.1016/j.foodchem.2003.08.012

Rahman, N., Bohari., Utami Dewi, N. (2018). Phytochemical and Antioxidant Activity of Avocado Leaf Extract (*Persea americana* Mill.). Asian Journal of Scientific Research, 11(3), 357–363. doi:10.3923/ajsr.2018.357.363

Rendón-Anaya, M., Ibarra-Laclette, E., Méndez Bravo, A., Lan, T., Zheng, C., Carretero-Paulet, L., …Herrera-Estrella, L. (2019). The Avocado Genome Informs Deep Angiosperm Phylogeny, Highlights Introgressive Hybridization, and Reveals Pathogen-Influenced Gene Space Adaptation. doi:10.1101/654285

Requejo-Tapia, L.C., Woolf, A.B., Roughan, G., Schroeder, R., Young, H., White, A., (1999). Seasonal changes in lipid content and fatty acid composition of 'Hass' avocados. *Avocado Postharvest Research* 99, 1–29.

Reyes-Alemán, J. C., Valadez-Moctezuma, E., Simuta-Velázco, L., Barrientos-Priego, A. F., & Gallegos-Vázquez, C. (2018). Distinción de especies del género *Persea* mediante RAPD e ISSR de ADN. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(4), 517–529. doi:10.29312/remexca.v4i4.1185

Rubinstein, M., Eshed, R., Rozen, A., Zviran, T., Kuhn, D. N., Irihimovitch, V., … Ophir, R. (2019). Genetic diversity of avocado (*Persea americana* Mill.) germplasm using pooled sequencing. *BMC Genomics*, 20(1). doi:10.1186/s12864-019-5672-7

Sambrock, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). Gel electrophoresis DNA and molecular cloning. In: Molecular cloninga laboratory manual. 2nd e. New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sánchez-Coello, N. G., Luna-Rodríguez, M., Vázquez-Torres, M., Sánchez-Velásquez, L. R., *et al*. (2012). Optimización de un protocolo del aislamiento del ADN y de un sistema de amplificación ISSR-PCR para *Ceratozamia mexicana* Brongn. (*Zamiaceae*). *Revistas Chapingo Seria Ciencias Forestales y Del Ambiente*, XVIII(1), 123–133. doi:10.5154/r.rchscfa.2011.03.024

Sánchez-González, E. I., Hernández-Delgado, S., Aguirre-Arzola, V. E., Torres-Castillo, J. A., & Gutiérrez-Díez, A. (2018). Etiquetas de secuencias expresadas diferenciales de frutos de aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(1). doi:10.1590/0100-29452018184

Sánchez-González, E. I., Gutiérrez-Díez, A., & Mayek-Pérez, N. (2019). Outcrossing Rate and Genetic Variability in Mexican Race Avocado. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1–7. doi:10.21273/jashs04785-19.

Sánchez-Perez, J. de la L. (1999). Recursos genéticos de aguacate (*Persea americana* Mill.) y especies afines en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5*(1101), 7–18.

Sokal & Michener (1958). "A statistical method for evaluating systematic relationships". *University of Kansas Science Bulletin*. 38: 1409–1438.

Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of “Hass” avocado. *Food Research International*, 44(5), 1231–1237. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.012

Wallace, R. B., Shaffer, J., Murphy, R. F., Bonner, J., Hirose, T., Itakura, K. (1979). *Nucleic Acids Res*. 6, 3543

Weising, K., Nybom, H., Pfenninger, M., Wolff, K., & Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants*. doi:10.1201/9781420040043

7. CONCLUSIONES GENERALES

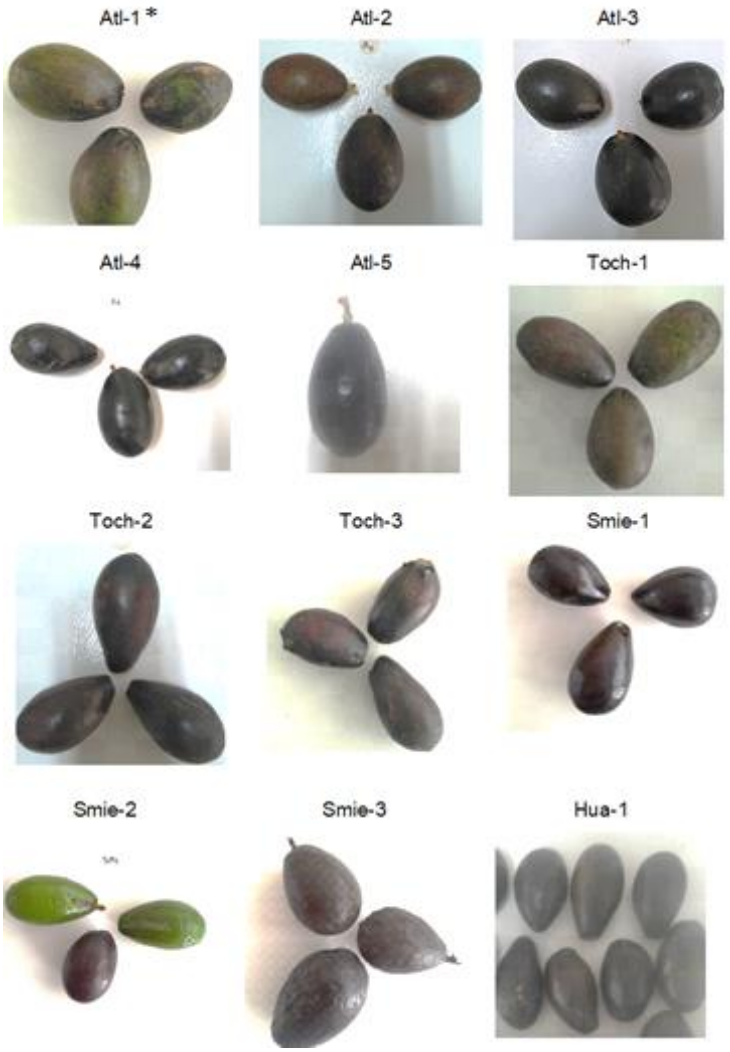
Los frutos de aguacate criollo de raza mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*) presentaron una variabilidad muy alta en los parámetros físicos y fisiológicos evaluados, la accesión Atl-5 destaca por presentar atributos deseables como un alto porcentaje de pulpa y un bajo porcentaje de semilla. Las accesiones Atl-2 y Toch-2 destacan por presentar un bajo patrón de respiración, baja emisión de etileno y baja pérdida de peso en postcosecha, lo que significa una mayor vida de anaquel. Los resultados obtenidos resultan de gran importancia en el diseño de tecnologías postcosecha que permitan una comercialización eficiente.

Los frutos presentaron un alto contenido de compuestos nutracéuticos en la pulpa como: compuestos fenólicos totales, flavonoides, carotenoides y lípidos ricos en ácidos grasos mono y poliinsaturados; sin embargo, la piel destaca por tener un contenido más alto que la pulpa, de compuestos fenólicos totales y flavonoides, además de un alto contenido de taninos y antocianinas que en acción sinérgica presentan una gran capacidad antioxidante. Por otra parte, el uso de marcadores ISSR permitió determinar un alto grado de variabilidad genética en el aguacate criollo mexicano; sin embargo, no se logró establecer que dicha variabilidad genética contribuya en la producción de compuestos liposolubles.

La alta variabilidad que presentaron los frutos en los parámetros evaluados demuestra el gran potencial que tiene este tipo de materiales genéticos en la creación y mejoramiento de nuevas variedades, por lo que es necesaria su conservación y protección. Además, el alto contenido de compuestos nutracéuticos los hace muy recomendable para el consumo humano, por lo que el aguacate criollo mexicano tendría que ser revalorizado por los productores y consumidores desde un punto de vista ecológico, hortícola y nutracéutico.

8. APÉNDICE

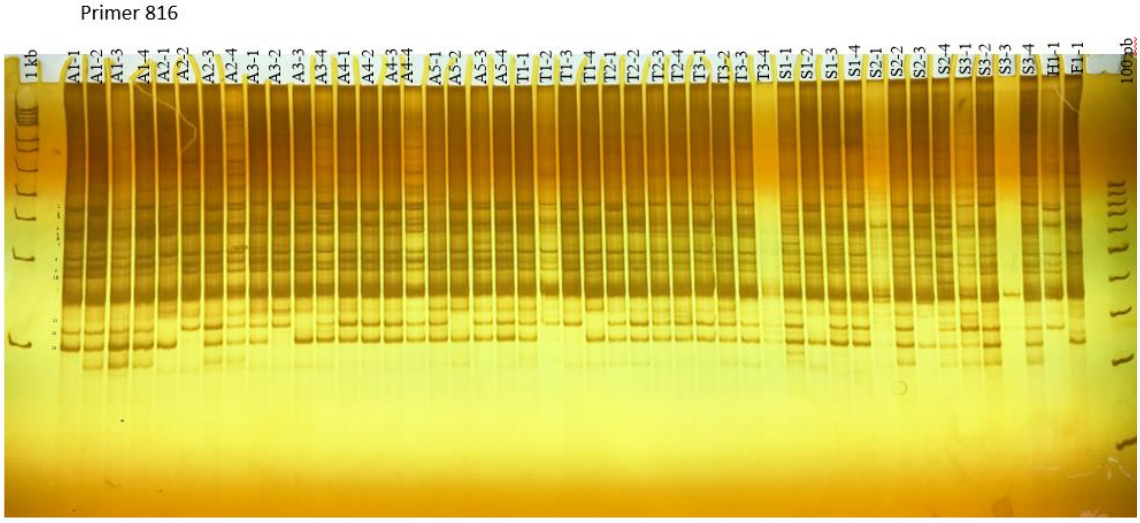
8.1 Frutos de aguacate criollo mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) colectados en regiones productoras de Puebla, México.



* Atl: municipio de Atlixco, Toch: municipio de Tochimilco, Smie: municipio de San Miguel Tecuanipa, Hua: municipio de Huaquechula. Los números en la clave corresponde al orden de recolección.

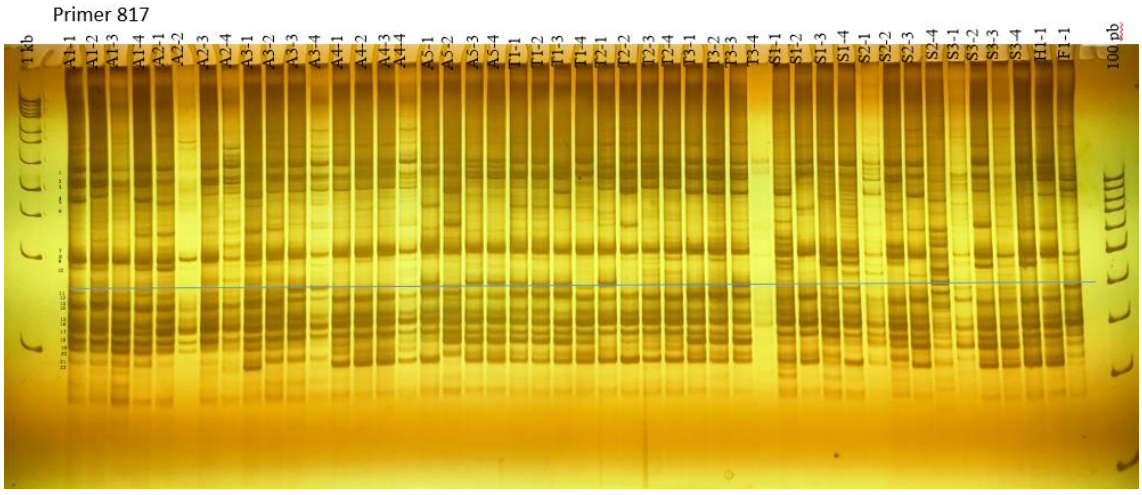
Figura 20 Frutos de accesiones de aguacate criollo mexicano colectados en regiones productoras de Puebla, México.

8.2. Geles de acrilamida utilizando 10 iniciadores ISSR para determinar variabilidad genética en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano colectados regiones productoras de Puebla, México.



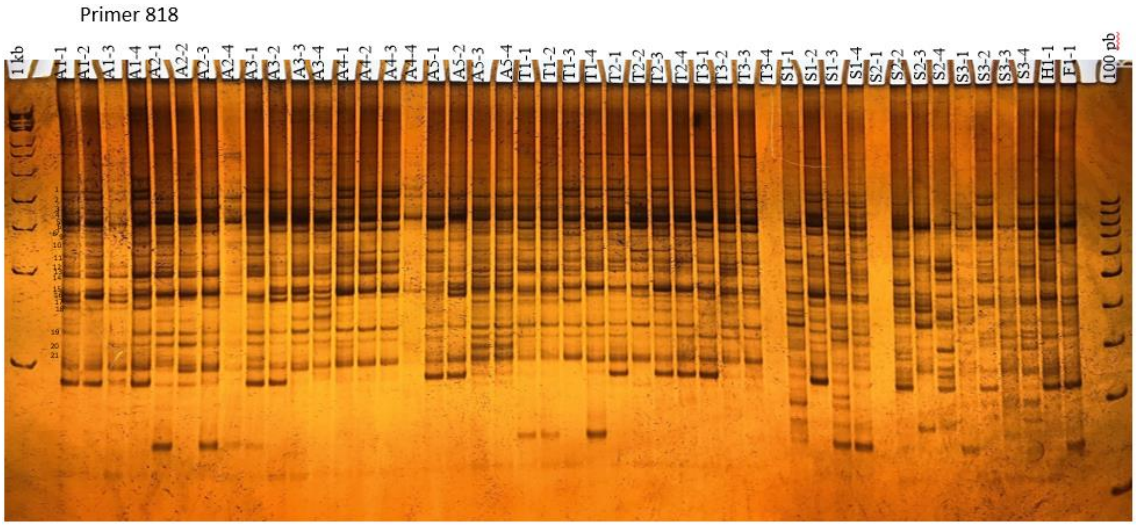
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol.

Figura 21. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 816 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



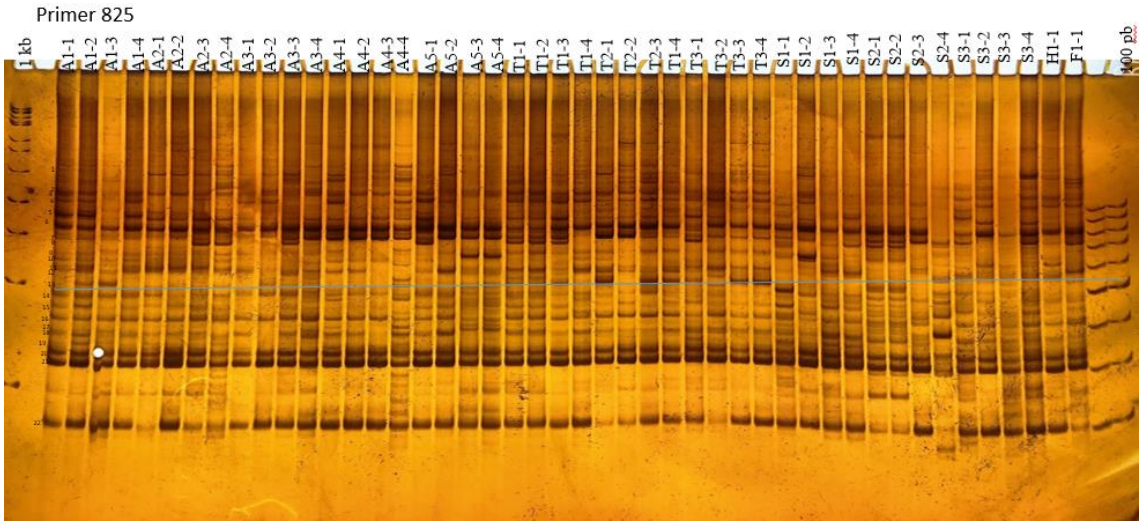
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol.

Figura 22. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 817 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



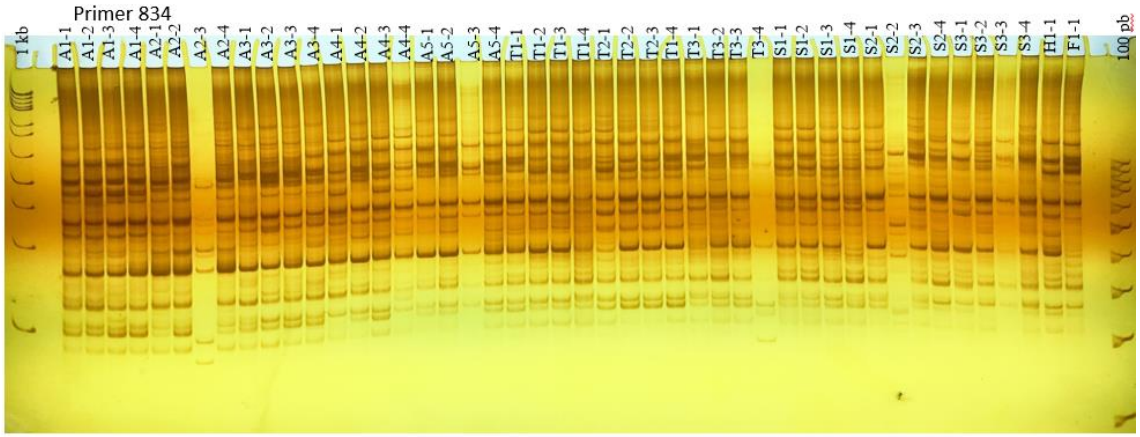
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol.

Figura 23. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 818 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



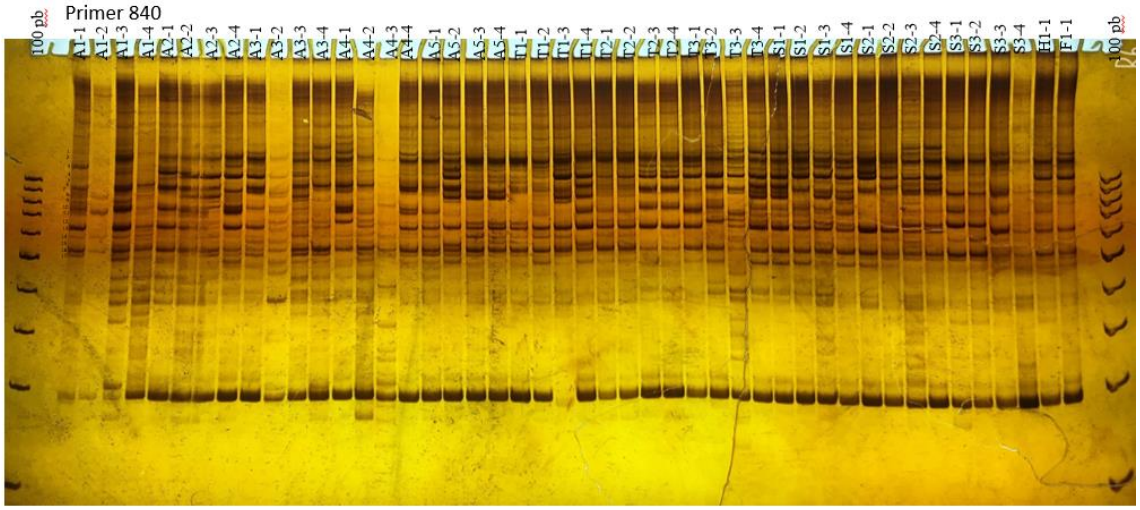
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol.

Figura 24. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 825 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



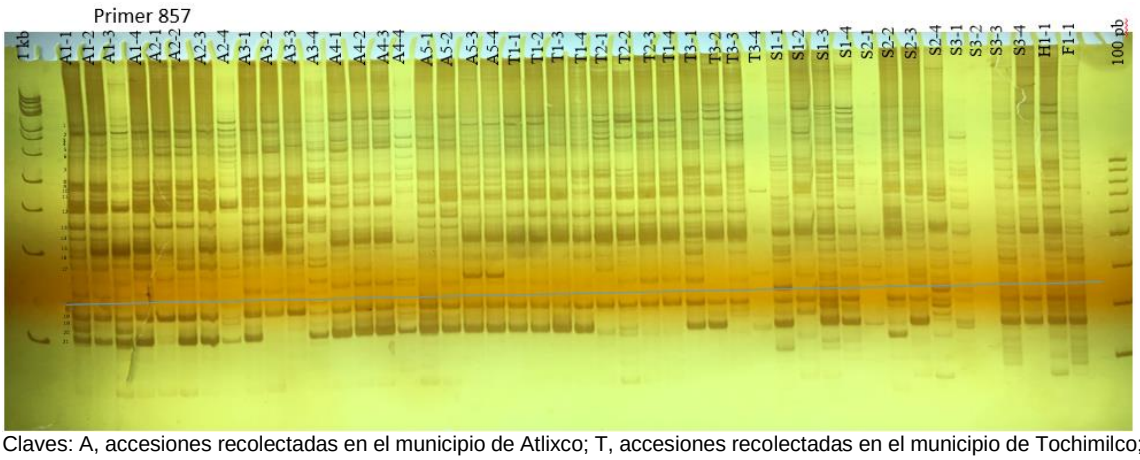
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 25. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 834 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



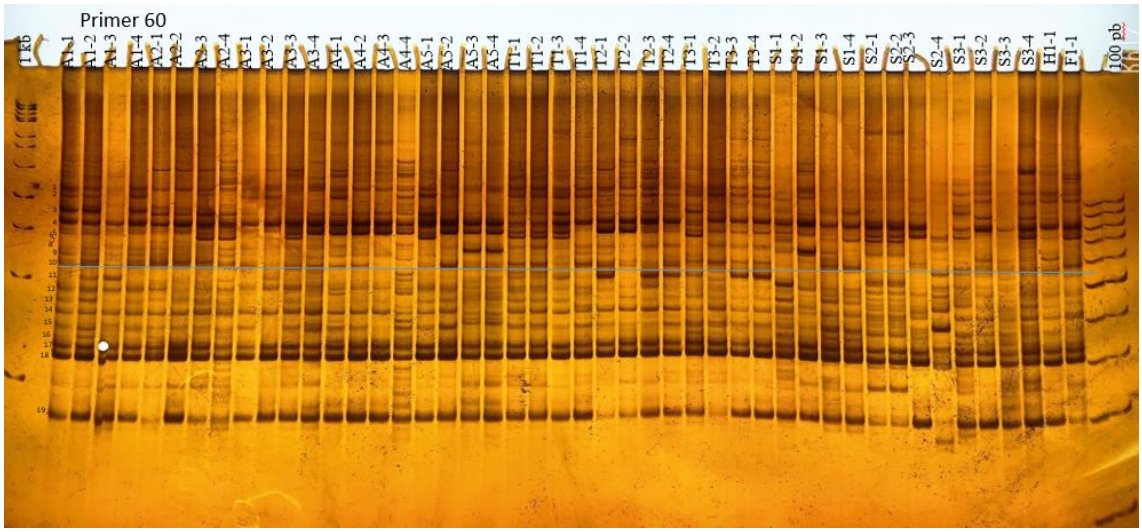
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 26. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 840 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



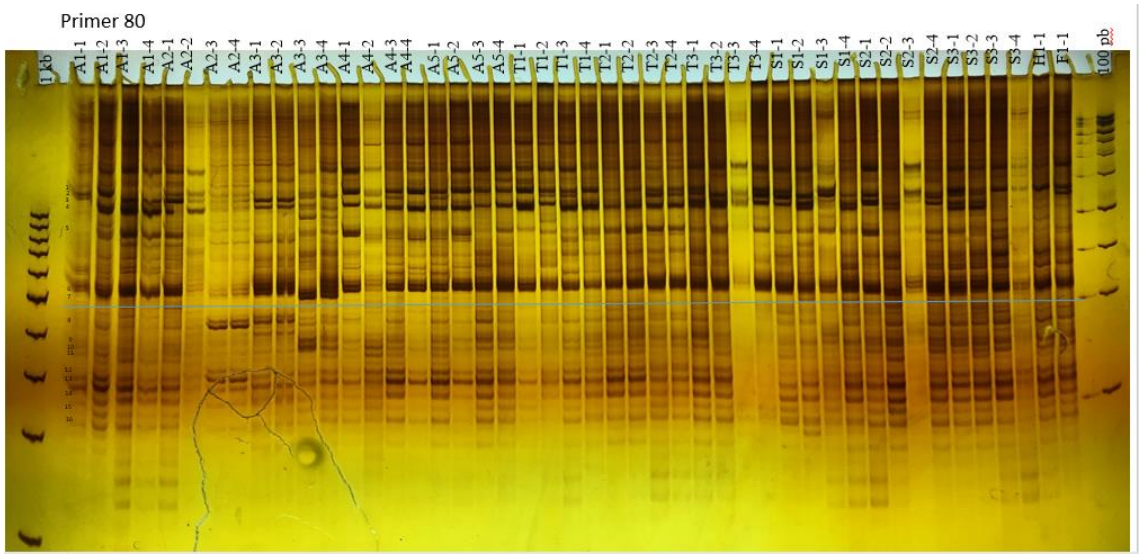
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 27. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 857 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



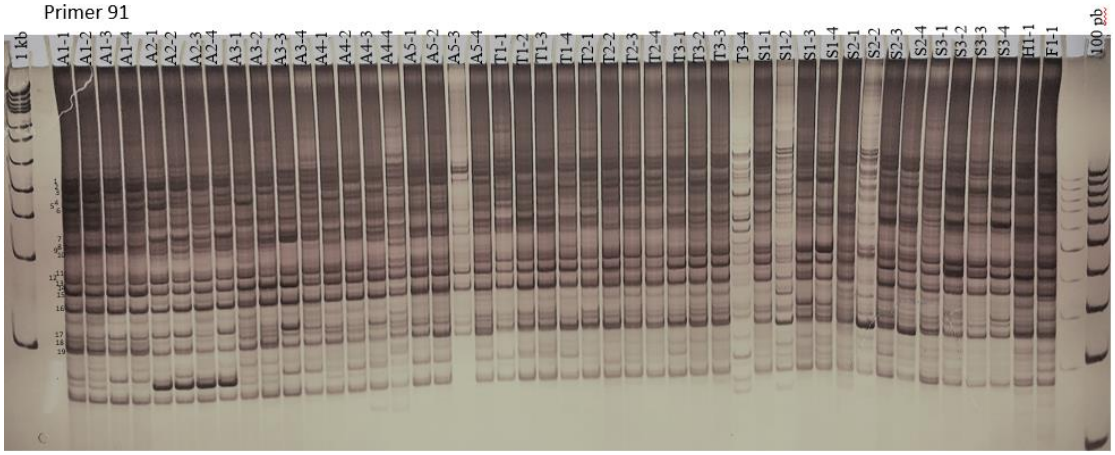
Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 28. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 860 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 29. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 880 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').



Claves: A, accesiones recolectadas en el municipio de Atlixco; T, accesiones recolectadas en el municipio de Tochimilco; S, accesiones recolectadas en el municipio de San Miguel Tecuanipa; H, cultivar 'Hass'; F, cultivar 'Fuerte'
Números: 1, ADN obtenido del árbol; 2, 3 y 4 ADN obtenido de plántulas germinadas con semillas del mismo árbol

Figura 30. Gel de acrilamida con marcadores ISSR amplificados con el iniciador 891 en 11 accesiones de aguacate criollo mexicano, tres plántulas obtenidas a partir de frutos de cada accesión y dos muestras de cultivares comerciales ('Hass' y 'Fuerte').