

# Universidad Autónoma de Sinaloa Facultad de Ciencias Químico Biológicas Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Análisis de expresión transcripcional de genes relacionados con la tolerancia al daño por frío en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente

## **TESIS**

Que presenta

IBT. CYNTHIA ITZEL JUÁREZ BARRAZA

Para obtener el Grado de

**MAESTRA EN CIENCIA** 

Y

**TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS** 

Directores

DR. JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ VALENZUELA

DRA. NANCY YARELI SALAZAR SALAS

Culiacán, Sinaloa, Marzo de 2019

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular del Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Ángel López Valenzuela y la Dra. Nancy Yareli Salazar Salas, así como la asesoría del Dr. Misael Odín Vega García y la Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo. Contó con financiamiento del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Cynthia Itzel Juárez Barraza recibió Beca de Estudios de Maestría por parte de CONACYT.



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

#### CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de <u>Culiacán de Rosales</u>, <u>Sinaloa</u> el día <u>21</u> del mes <u>marzo</u> del año <u>2019</u>, el (la) que suscribe <u>IBT</u>. <u>Cynthia Itzel Juárez Barraza</u>, alumno (a) del Programa de <u>Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos</u> con número de cuenta <u>1531223-2</u>, de la Unidad Académica <u>Facultad de Ciencias Químico Biológicas</u>, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de <u>Dr. José Angel López Valenzuela y Dra. Nancy Yareli Salazar Salas</u> y cede los derechos del trabajo titulado "<u>Análisis de expresión transcripcional de genes relacionados con tolerancia al daño por frío en frutos de mango cy <u>Keitt tratados hidrotérmicamente</u>", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.</u>

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

IBT. Cynthia Itzel Juárez Barraza

#### **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y a la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos por permitirme llevar a cabo mis estudios profesionales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo económico otorgado durante mi estancia en la maestría.

Primero que nada quiero agradecer a mis directores de Tesis, el Dr. José Ángel López Valenzuela y a la Dra. Nancy Yareli Salazar Salas, por su paciencia, por todos los conocimientos que me compartieron y por hacerme parte de esa gran familia que fue para mí el laboratorio.

A mi asesor de Tesis, el Dr. Misael Odín Vega García por todo que me transmitió durante los 2 años de maestría y por sus asesorías.

A mi asesora la Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo, por su entrega en la realización del proyecto, por su compromiso y por ser más que una asesora para mí, espero siga siempre leal a sus convicciones y conserve ese carisma y esas ganas de siempre hacer las cosas lo mejor posible, por dar más del cien siempre que es necesario, ¡mil gracias!.

A la M.C. Jeanett Chávez Ontiveros, por siempre estar preocupada porque nada nos hiciera falta, estar al pendiente de cada uno de nosotros, y alentarnos hacer las cosas bien.

A la Dra. Martha López López por permitirnos trabajar en el laboratorio de poscosecha y siempre darnos las facilidades, además de compartir información y experiencias que fueron de mucha ayuda para la realización del proyecto, también a todos sus compañeros de laboratorio.

Al equipo de trabajo del laboratorio 5 en especial al Dr. Ricardo y a la Dra. Yesmi por permitirme realizar una parte del proyecto en su laboratorio, por todas las atenciones y facilidades prestadas.

Al inigualable equipo de trabajo de laboratorio, sin ustedes esto no hubiera sido posible y no me hubiera divertido tanto. Fernanda, David, Christian gracias por esos días que me alegraban con sus "etzo", por sus consejos, por escucharme, y por siempre estar ahí para cuando los necesité. Veranito gracias por ser mi ayudante en mi proyecto, por esa disposición para hacer las cosas, por ese sentido de humor tan agradable. Albertou mil gracias por ayudarme en todo lo que te pedía, síguete superando y cumpliendo tus sueños. Cynthia T y Claudia, fue poco lo que conviví con ustedes pero les agradezco lo aprendido y la buena convivencia con ustedes. Yanelit y Diana gracias por su disposición para hacer que el lab siempre estuviera bonito, por ser tan chacalitas cuando era necesario, fue poco pero muy agradable el tiempo que compartí con ustedes. Y de manera muy especial a Milton y Dennise quienes

son parte de este proyecto del mango, y tuvieron siempre la disposición para ayudarme, orientarme en cualquier duda, por esos meses de desvelo procesando mango, fueron una de las mejores experiencias que me dejó el laboratorio, aprendí mucho de ustedes y admiro la paciencia que me tuvieron mil gracias por todo!

A mis compañeros de maestría Jordi, Yesenia, Carito, Samuel, Santos, Carlitos, Fernanda, Yazmín, Demis, Martín, Yudith, Aliette, Maribel y al extranjero Julio, que fueron sinceramente los mejores, rompiendo paradigmas de separarnos entrando a los laboratorios, siempre bien unidos en lo académico y ni se diga para hacer una fiesta, una reunión o un convivio, siempre dispuestos ayudarnos unos a otros, creo que fueron para mí un gran ejemplo de compañerismo, espero nuestra amistad siga y nos sigamos reuniendo.

A mi familia que son el pilar más importante de mi vida, son la razón por la cual he llegado hasta donde estoy, mi hermana Karina por su aliento constante y por darme a mis 3 sobrinos Giovanni, Marco e Isabella que con solo un abrazo me hacían sentir que todo era posible, los amo con todo el corazón! A mi hermana Alexa por escucharme tantas veces, por darme ánimos y ayudarme siempre en todo lo que ocupé. Mi cuñado Marco por su accesibilidad y siempre estar al pie del cañón para todos. A mi madre que la amo con todo mi corazón y le estoy infinitamente agradecida porque gracias a todo lo aprendido estoy donde estoy y sin duda alguna esto es para ella y para mi padre que lo perdí físicamente en el camino de la realización de esta maestría, pero que siempre está en mis pensamientos, en mis logros y fracasos, siempre presente y sé que desde donde estés estarás festejando junto conmigo este gran paso en mi vida, mil gracias padre te amo con el alma por siempre!.

Y por último y no menos importante a mi compañero de vida, a mi esposo Jorge que se aventuró conmigo en este reto, que se desveló junto conmigo tantas veces, que aprendió de material de laboratorio solo para ayudarme y hacerme más ligera la carga de trabajo, por soportarme en mis días difíciles y estar dispuesto a compartirme tanto tiempo con la escuela, gracias mi amor, te amo con todo mi corazón!

## **ÍNDICE GENERAL**

	Pág
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE CUADROS	vii
I RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II INTRODUCCIÓN	5
III REVISIÓN DE LITERATURA	7
A GENERALIDADES DEL MANGO	7
1 Origen	7
2 Importancia económica	7
3 Clasificación taxonómica	8
4 Composición nutrimental	14
5 Maduración	18
6 Manejo poscosecha y almacenamiento	19
B DAÑO POR FRÍO	21
1 Síntomas de daño por frío en mango	21
2 Mecanismos de daño por frío	22
a Daño a membrana	23
b Estrés oxidativo	24
3 Tratamiento hidrotérmico y tolerancia al daño por frío	24
C CAMBIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA RELACIONADOS CON LA	28
EXPOSICIÓN A BAJAS TEMPERATURAS	

1 Cambios de expresión de genes relacionados con susceptibilidad y	
tolerancia al daño por frío en frutos de mango	31
IV JUSTIFICACIÓN	36
V OBJETIVOS	37
A OBJETIVO GENERAL	37
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
VI MATERIALES Y MÉTODOS	38
A MATERIALES	38
B MÉTODOS	38
1 Aplicación del tratamiento hidrotérmico	38
2 Índice de daño por frío	39
3 Determinación de parámetros de calidad	39
a Color	39
b Firmeza	39
4 Lixiviación de electrolitos	40
5 Contenido de malondialdehído (MDA)	40
6 Extracción de RNA total	41
7 Tratamiento de RNA con DNAsa	42
8 Análisis de expresión de genes relacionados con tolerancia al DF	42
9 Análisis estadístico	45
VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
A ÍNDICE DE DAÑO POR FRÍO	46
1 Coloración no uniforme	46

2 Marchitez	51
3 Picado superficial	53
4 Áreas necróticas	53
B PARÁMETROS DE CALIDAD	57
1 Color en cáscara	57
2 Firmeza	59
C CAMBIOS EN PARÁMETROS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS CON	
ESTRÉS POR BAJA TEMPERATURA Y TOLERANCIA INDUCIDA AL	
DAÑO POR FRÍO	61
1 Lixiviación de electrolitos	61
2 Contenido de malondialdehído (MDA)	63
D CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON	
ESTRÉS POR BAJA TEMPERATURA Y TOLERANCIA INDUCIDA AL	
DAÑO POR FRÍO	66
1 Genes relacionados con respuesta al estrés	67
a Proteína de choque térmico 17.6 kDa (Hsp 17.6)	67
b CBF-1	70
c Catalasa (CAT)	71
d Superóxido dismutasa (SOD)	72
e Peroxidasa ( <i>POX</i> )	73
2 Genes relacionados con procesos de desarrollo y maduración del	
fruto	74
a β-galactosidasa (β GAL)	74

b Fitoeno desaturasa ( <i>PSD</i> )	76
c Pectato liasa (PL)	77
d Fenilalanina amonio liasa (PAL)	78
3 Genes relacionados con respiración y fotosíntesis	80
a Ubiquinol oxidasa (UbOx)	80
4 Genes relacionados con patogénesis	81
a β 1,3- glucanasa (β <i>GLU</i> )	81
b Quitinasa ( <i>CHI</i> )	82
VIII CONCLUSIONES	84
IX BIBLIOGRAFÍA	85
ABREVIATURAS	99

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura	Descripción	Página
1	Variedades de mango de mayor importancia comercial a nivel	15
	mundial	
2	Esquema de la respuesta molecular al daño por frío en cáscara	34
	de mango cv. Keitt	
3	Principales síntomas de daño por frío en mango cv. Keitt	47
	almacenado durante 20 días a 5°C más un periodo de	
	maduración de 7 días a 21°C	
4	Cambios en aparencia y maduración de frutos de mango con y	48
	sin tratamiento hidrotérmico durante el almacenamiento a 5°C	
	más un periodo de maduración de 7 días a 21°C	
5	Desarrollo de coloración no uniforme en frutos de mango cv. Keitt	49
	tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados por 20	
	días a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C	
6	Desarrollo de marchitez en frutos de mango cv. Keitt tratados	52
	hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después	
	de un periodo de maduración a 21°C	
7	Desarrollo de picado superficial en frutos de mango cv. Keitt	54
	tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y	
	después de un periodo de maduración a 21°C	
8	Desarrollo de áreas necróticas en frutos de mango cv. Keitt	56
	tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y	

Figura	Descripción		
	después de un periodo de maduración a 21°C		
9	Cambios en los parámetros de color a*(verde-rojo) (A) y b*(azul-	58	
	amarillo) (B) en cáscara de mangos con tratamiento hidrotérmico		
	(TH) y control almacenados a 5 °C y posteriormente madurados		
	7 días a 21 °C		
10	Cambios en firmeza de mango cv. Keitt tratados	60	
	hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y		
	madurados por 7 días a 21°C		
11	Lixiviación de electrolitos en frutos de mango cv. Keitt tratados	62	
	hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después		
	de un periodo de maduración a 21°C		
12	Contenido de malondialdehído en frutos de mango con TH y	65	
	control almacenados a 5°C y después de un periodo de		
	maduración a 21°C		
13	Expresión relativa de genes relacionados con susceptibilidad y	68	
	tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt con y sin		
	tratamiento hidrotérmico almacenados por 20 días a 5 °C		
14	Expresión relativa de genes relacionados con susceptibilidad y	69	
	tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt con y sin		
	tratamiento hidrotérmico almacenados por 20 días a 5 °C más 7		
	días a 21 °C		

## **ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro	Descripción	Página
1	Principales países productores de frutos de mango,	9
	mangostanes y guayaba el año 2017	
2	Principales estados productores de mango en México en	10
	2016	
3	Taxonomía del mango	11
4	Principales características de los grupos de frutos de mango	13
	primitivos	
5	Composición química del fruto de mango	16
6	Tratamientos hidrotérmicos que brindan tolerancia al daño	26
	por frío en diferentes cultivos	
7	Iniciadores utilizados para el análisis de expresión de genes	
	relacionados con la tolerancia al DF inducida por la aplicación	44
	de TH	

#### I RESUMEN

El mango (Mangifera indica L.) es un fruto climatérico ampliamente consumido a nivel mundial debido a su agradable sabor y aroma. Sin embargo, su comercialización a mercados lejanos se ve restringida por su susceptibilidad a desarrollar un desorden fisiológico denominado daño por frío (DF) al ser expuesto a temperaturas menores a 12 °C. Los principales síntomas de DF reportados en mango son decoloración de lenticelas, picado superficial, coloración no uniforme y áreas necróticas. Una alternativa para disminuir los efectos del DF en mango es la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH), el cual se ha demostrado que provee tolerancia a este desorden. No obstante, se desconoce cuáles son los genes que se expresan en respuesta al TH y que pudieran asociarse con la tolerancia al DF inducida por este tratamiento térmico. El objetivo del presente estudio fue analizar la expresión transcripcional de genes relacionados con la tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente. Se utilizaron frutos de mango en estado verde maduro y se separaron en dos lotes, uno de los cuales recibió un TH (46.1°C/90-110 min) y el otro se utilizó como control; ambos fueron almacenados a 5°C por 20 días y posteriormente fueron sometidos a un periodo de maduración de 7 días a 21°C. Se evaluó el índice de daño por frío (IDF) por cada síntoma, parámetros de calidad (color y firmeza), parámetros fisiológicos [lixiviación de electrolitos (LE), contenido de malondialdehído (MDA)] y la expresión transcripcional mediante PCR en tiempo real (RT-qPCR) de genes que codifican para proteínas previamente relacionadas con tolerancia al DF. Los resultados de IDF mostraron que los frutos control presentaron una mayor severidad de los síntomas, siendo la coloración no uniforme el principal síntoma y se presentó a partir de los 10 días de almacenamiento a 5°C. Los parámetros fisiológicos LE y contenido de MDA presentaron valores menores en los frutos con TH, sugiriendo un menor daño de las membranas con respecto a los frutos control. Los frutos con TH mostraron mayor tolerancia al DF evidenciado por una menor fuga de electrolitos y peroxidación de lípidos, así como una menor incidencia y severidad de síntomas (coloración no uniforme, marchitez, picado superficial y áreas necróticas). Los frutos con TH presentaron una mayor expresión de genes que codifican para una proteína de choque térmico (HSP 17.6) y para un factor de unión a un elemento sensible a la deshidratación (CBF-1), los cuales podrían estar contribuyendo a la adquisición de la tolerancia al DF manteniendo el funcionamiento correcto de las proteínas y evitando su desnaturalización. Los frutos tratados hidrotérmicamente también presentaron una mayor expresión de genes que codifican enzimas del sistema antioxidante, las cuales podrían estar eliminando de manera más eficiente las especies reactivas de oxígeno y contribuyendo a una mejor estabilidad de la membrana celular. Otros genes relacionados con el proceso de maduración y con la defensa de patógenos también presentaron mayor expresión en frutos con TH. En los frutos control se observó una mayor expresión de genes que codifican las enzimas ubiquinol oxidasa (UbOx) y fenilalanina amonio liasa (PAL), ambas relacionados con diversas condiciones de estrés en los frutos. Los resultados sugieren que la tolerancia al DF inducida por el TH está asociada con una mayor protección de las proteínas ante el estrés por frío, una mayor actividad del sistema antioxidante y de protección contra patógenos, favoreciendo un mejor desarrollo y maduración del fruto y una menor incidencia de síntomas.

#### **ABSTRACT**

Mango (Mangifera indica L.) is a climacteric fruit widely consumed worldwide. However, the commercialization of this fruit to distant markets is restricted by its susceptibility to develop a physiological disorder known as chilling injury (CI) when it is exposed to temperatures below 12 °C. The main CI symptoms reported in mango fruit are discoloration of lenticels, superficial pitting, non-uniform color and necrotic areas. An alternative to reduce the effects of CI in mango is the application of a hot water treatment (HWT), which has been demonstrated to provide tolerance to this disorder. Nevertheless, there is a lack of information about the changes in gene expression in response to HWT and their association with the tolerance to Cl. The aim of this study was to analyze the transcriptional expression of genes related to CI tolerance induced by HWT in mango fruit cv. Keitt. Mature green mango fruit were divided in two groups, one of them was treated with hot water (46.1°C, 90-110 min) and the other was used as control; both groups were stored at 5°C for 20 days followed by a ripening period of 7 days at 21°C. Chilling injury index (CII) was evaluated for each symptom, quality parameters (color and firmness), physiological parameters [electrolyte leakage (EL), malondialdehyde (MDA) content] and transcriptional expression by real-time PCR of genes encoding for proteins previously related to CI. Chilling injury index (CII) showed that control fruit had the highest severity of symptoms; non-uniform color was the main symptom and appeared after 10 days of storage at 5°C. The physiological parameters EL and MDA content showed lower values in fruit with HWT, suggesting they had less damage of the membranes with respect to the control fruits. Fruit with HWT showed greater CI tolerance as evidenced by a lower leakage of electrolytes and lipid peroxidation, as

well as a lower incidence and severity of symptoms (non-uniform coloration, withering, superficial pitting and necrotic areas). Fruit with HWT showed higher expression of genes encoding a small heat shock protein (HSP17.6) and a C-repeat binding factor sensitive to dehydration (CBF-1), which may be contributing to CI tolerance by keeping the correct function of the proteins and preventing their denaturation. HWT fruit also showed higher expression of genes encoding antioxidant enzymes, which may be removing more efficiently the reactive oxygen species and contributing to a better stability of the cell membranes. Other genes related to the ripening process and defense against pathogens also showed higher expression in HWT fruit. Control fruit shower higher expression of genes encoding ubiquinol oxidase (UbOx) and phenylalanine ammonia liase (PAL), both associated with stress conditions. The results suggest that CI tolerance induced by HTW is associated with a better protein protection against the cold stress, as well as higher activity of the antioxidant and pathogen protection systems, resulting in better fruit development and ripening and less incidence of CI symptoms.

## II INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos tropicales de mayor consumo a nivel mundial debido a su agradable sabor y aroma, además de poseer un alto valor nutrimental al ser una fuente importante de vitamina C y minerales como potasio y fósforo (Yahia y col 2006). México ocupa el quinto lugar a nivel mundial en producción de mango con aproximadamente 1.9 millones de ton (FAOSTAT 2018).

El fruto de mango es climatérico y para prolongar su vida poscosecha normalmente se almacena y comercializa bajo refrigeración. Sin embargo, al igual que otros frutos tropicales y subtropicales es susceptible a desarrollar un desorden fisiológico conocido como daño por frío (DF) cuando es expuesto a temperaturas inferiores a 12 °C, cuyos síntomas se manifiestan normalmente cuando los frutos son expuestos a temperaturas superiores y afectan la calidad del producto. Se han propuesto dos mecanismos principales involucrados en el desarrollo del daño por frío, los cuales no son mutuamente excluyentes; el primero fue descrito hace varias décadas y consiste en alteraciones en la estructura e integridad de las membranas celulares (Lyons 1973), mientras que el segundo está relacionado con un estrés oxidativo como consecuencia del mal funcionamiento de las membranas de organelos como mitocondrias y cloroplastos, generando una gran cantidad de radicales libres (Hodges y col 2004). A nivel transcripcional, Sivankalyani y col (2016) propusieron un mecanismo de respuesta al frío en mango, en el cual el fruto responde activando genes que actúan bajo diferentes condiciones de estrés, alterando diferentes rutas metabólicas como la de los fenilpropanoides encargada de la síntesis de compuestos fenólicos, los cuales son oxidados provocando la decoloración de lenticelas. Otra ruta que se activa durante el estrés por frío es la de los fosfolípidos, donde los lípidos liberados son oxidados por las especies reactivas producidas en exceso llevando a la pérdida de la integridad de la membrana.

Se han utilizado diversos tratamientos para disminuir el DF en los frutos, pero uno de los más utilizados y que ha resultado efectivo es el hidrotérmico. López-López y col (2018) aplicaron un tratamiento hidrotérmico en frutos de mango cv. Keitt previo al almacenamiento a 5°C por 20 días y posterior maduración por 7 días a 21°C, encontrando una menor incidencia de síntomas de DF en los frutos tratados hidrotérmicamente con respecto a los frutos sin tratamiento. La tolerancia inducida por el TH se evidenció por una menor peroxidación de lípidos y fuga de electrolitos, así como una mayor actividad de enzimas del sistema antioxidante (CAT, SOD).

Sin embargo, se conoce poco acerca de las bases bioquímicas y moleculares de la tolerancia inducida al daño por frío en frutos de mango con tratamiento hidrotérmico. Recientemente, Chairez-Vega (2018) realizó un análisis proteómico en frutos de mango cv. Keitt con y sin TH encontrando una mayor acumulación de proteínas de choque térmico, del sistema antioxidante y metabolismo energético en frutos con TH y menor incidencia de daño por frio. No obstante, no existe información acerca de la expresión de los genes que codifican para dichas proteínas en este cultivar que es de importancia económica para el estado de Sinaloa y México. Por ello, el objetivo del presente estudio fue determinar la expresión a nivel transcripcional de genes que codifican para proteínas de choque térmico, estrés oxidativo, maduración y patogénesis y su relación con la tolerancia inducida al daño por frío por tratamiento hidrotérmico en frutos de mango cv Keitt (*Mangifera indica* L.).

#### III REVISIÓN DE LITERATURA

#### A GENERALIDADES DEL MANGO

#### 1 Origen

El origen del mango se ha propuesto en la zona comprendida entre Asma (India) y la antigua Birmania, donde actualmente existen plantas silvestres y se estima que la planta fue domesticada hace 6000 años (Kostermans 1993).

Este fruto fue introducido en África del Este por los Persas en el siglo X. Los portugueses lo llevaron de la India hasta Brasil durante el siglo XIX y los españoles lo llevaron a Filipinas, México y las Indias Occidentales a principios de ese mismo siglo (Schaffer y col 1994). De Cuba se llevó a Florida, Estados Unidos, a finales del siglo XIX, donde se establecieron plantaciones experimentales a inicios del siglo XX (Whiley y col 1933), dando lugar a un centro de origen secundario debido a la producción de una gran diversidad de mangos mono y poliembriónicos que se han distribuido por todo el mundo (Knight y Schnell 1994).

#### 2 Importancia económica

El mango es uno de los frutos con mayor distribución en México debido a su capacidad de adaptación a diferentes condiciones adversas, por lo que la mayor parte de la producción nacional proviene de huertos de traspatio. Se consume como fruta fresca o procesada en diferentes presentaciones, como jalea, conservas, salsas, ensaladas, helados y jugos (SIAP 2018).

De acuerdo con la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), la producción mundial de frutos tropicales (Mangos, mangostanes y guayabas) en el 2016 fue de aproximadamente 51 millones de toneladas (Ton), situándose India en el primer lugar con 19,506,000 Ton, seguido de China y Tailandia con 4,791,271 y 3,824,279 Ton, respectivamente (**Cuadro 1**) (FAOSTAT 2018). México ocupó el quinto lugar con una producción de 1,958,491 Ton, siendo Guerrero el principal estado productor con 358,235 Ton, seguido por Sinaloa con 334,239 Ton y Nayarit con 312,000 Ton (**Cuadro 2**) (SIAP 2018). En ese mismo año, México fue el principal país exportador de mango logrando comercializar este fruto a 27 diferentes países, entre los que se encuentran principalmente, Estados Unidos, Canadá, Rusia, Australia, Noruega, España, Francia, Italia y Reino Unido (SIAP 2018).

#### 3 Clasificación taxonómica

El mango (*Mangifera Indica* L.) deriva su nombre de la palabra antigua Tamil (mankay), corrompida por el portugués (manga). Pertenece a la familia Anacardiaceae, donde la gran mayoría de las plantas pertenecientes a éste género son especies tropicales (Matheyambath y col 2016). En el **Cuadro 3** se muestra la descripción taxonómica del mango según Popenoe (1974).

El árbol de mango normalmente es frondoso de hasta 20 metros de altura, de copa redonda, hoja perenne, verde y longevo. Las condiciones óptimas para su desarrollo son en climas tropicales o subtropicales, se debe de tener una época seca

**Cuadro 1.** Principales países productores de frutos de mango, mangostanes y guayaba el año 2017.

País	Producción (Ton)
India	19,506,000
China	4,791,271
Tailandia	3,824,279
Indonesia	2,566,046
México	1,958,491
Pakistán	1,685,304
Brasil	1,547,606
Bangladesh	1,517,691
Egipto	1,351,316
Malawi	1,323,680
Nigeria	935,954
Sudan	879,321
Otros	8,762,188
Total Mundial	50,649,147

Fuente: FAOSTAT (2018)

Cuadro 2. Principales estados productores de mango en México en 2016.

Estado	Producción (Ton)
Guerrero	358,235
Sinaloa	334,239
Nayarit	312,039
Chiapas	237,530
Oaxaca	158,847
Michoacán	146,767
Otros	300,000
Total Nacional	1,847,657

Fuente: SIAP (2018)

Cuadro 3. Taxonomía del mango

Reino	Plantae
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Suborden	Anacardiineae
Familia	Anacardiaceae
Genero	Mangifera
Especie	Indica

Fuente: Popenoe (1974)

de por los menos tres meses antes de la floración, una temperatura entre 24 y 27°C y una altitud máxima de 600 metros sobre el nivel del mar.

Los cultivares de mango existentes se clasifican en dos grupos cuyos orígenes son: India (monoembriónicos) y Filipinas (poliembriónicos); los caracteres esenciales de estos grupos se resumen en el **Cuadro 4**.

El fruto es una drupa que varía en forma, tamaño y color; dependiendo de la variedad, los frutos varían en peso de 0.2 a 2 kg. Contiene una pulpa carnosa de color anaranjado-amarillo con gran cantidad de fibrillas suaves, rodeando a la semilla que tiene una forma ovalada y es dura. Su aroma es placentero y su sabor es dulce con una acidez leve (Schnee 1960).

El fruto puede dividirse en tres secciones, el exocarpio, mesocarpio y endocarpio. El exocarpio es la parte que protege a la fruta, inicialmente es de color verde y cuando avanza el proceso de maduración su coloración cambia a amarillo, rojizo o naranja dependiendo de la variedad, debido a la degradación de las clorofilas presentes y al incremento en los carotenoides (Tharantathan y col 2006). El mesocarpio (pulpa) puede ser fibroso o sin fibra con sabor desde ácido hasta dulce. Esta estructura provee una pulpa comestible, la cual contiene un jugo dulce y de buen sabor y aroma, además de ser rico en carotenoides. El endocarpio es leñoso y fibroso y forma una cubierta para la semilla gruesa, dura y glandular, denominada como cáscara. La semilla puede ser monoembriónica o poliembriónica (Yahia y col 2006), es grande y plana, ovoide alargada. La piel exterior es suave y verde en mangos inmaduros pero se vuelve amarilla dorada, rojo carmesí, amarilla, o rojo-

Cuadro 4. Principales características de los grupos de frutos de mango primitivos

Caracter	Hindú (Monoembriónicos)	Filipino (Poliembriónicos)
Número de embriones	Uno	Varios
Contenido de fibra	Bajo	Alto
Trementina	Poco	Mucho
Agrupación en árbol	Solitarios	En racimos
Color	Rojizos y/o Amarillo	Amarillo verdoso
Forma	Redondos	Largos

Fuente: Cartagena y Vega (1992)

anaranjada cuando madura dependiendo del tipo de cultivo (Matheyambath y col 2016).

Hoy en día existen más de 1000 variedades de mango en todo el mundo y casi todas se derivan de una variedad obtenida por evolución natural y adaptación climática a través del tiempo. Cabe mencionar que no todas las variedades de mango son comestibles, y de ellas no todas son comercializadas. Las variedades de mayor consumo a nivel mundial se muestran en la **Figura 1**.

#### 4 Composición nutrimental

El mango es una de las frutas más importantes debido a sus características organolépticas y nutricionales, ya que es una buena fuente de potasio y fósforo, así como también de vitamina C (**Cuadro 5**). Aunado a esto también tiene un efecto laxante, diurético, astringente y refrescante, entre otros beneficios.

El mango contiene diferentes clases de fitoquímicos como polifenoles, ácido ascórbico y carotenoides, los cuales promueven efectos positivos en el organismo y tienen actividad antioxidante (Talcott y col 2005). Polifenoles, ácido gálico, galotaninos, mangiferina, quercetina, kaemferol, ácido p-hidroxibenzoico, ácido cumárico, ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico han sido reportados en mango fresco (Schieber y col 2003). En el caso de los carotenoides, se ha reportado que las variedades Haden y Ataulfo presentan mayor contenido de β-caroteno que las variedades Tommy Atkins y Kent (Ornelas y col 2008).



**Figura 1.** Variedades de mango de mayor importancia comercial a nivel mundial SIAP (2018)

Cuadro 5. Composición química del fruto de mango.

Componente	Contenido por 100 g de tejido
	fresco
Componentes mayoritarios (g)	
Agua	83.46
Proteína (N x 6.25)	0.82
Lípidos	0.38
Hidratos de carbono (por diferencia)	14.98
Fibra dietaria total	1.60
Azúcares totales	13.66
Aminoácidos (g)	
Ácido glutámico	0.431
Ácido aspártico	0.135
Ácidos orgánicos (g)	
Cítrico	0.43
Málico	0.08
Vitaminas (mg)	
Vitamina C (ácido ascórbico total)	36.4
Ácido nicotínico	0.594
Vitamina E (α-tocoferol)	0.90
Vitamina B6	0.119
Tiamina	0.037
Riboflavina	0.019
Vitamina A (UI)	1082
Niacina	0.669
Minerales (mg)	
Potasio	168
Fósforo	14
Magnesio	10
Calcio	11
Sodio	1

Fuente: USDA (2018)

La pulpa del fruto de mango maduro contiene aproximadamente 15% de azúcares, siendo los principales sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa; la sacarosa es el azúcar más abundante en mango maduro. Con respecto al contenido de lípidos se reporta un porcentaje de 0.26 a 0.67 %. El contenido de proteína en base húmeda varía entre 0.5 a 1 %. Se ha encontrado la presencia de algunos aminoácidos tales como lisina, leucina, cisteína, valina, arginina, fenilalanina, y metionina en algunos cultivos. La acidez del fruto se debe principalmente a la presencia de los ácidos málico y cítrico.

El consumo diario de mango por grupos de población de todas las edades puede satisfacer las recomendaciones de vitaminas A y C. El contenido de ácido ascórbico es muy variable dependiendo la variedad, prácticas culturales y factores ambientales, con valores desde 9.79 hasta 189 mg por 100 g de pulpa (Matheyambath y col 2016). El equivalente de vitamina A en mango oscila entre 1000 y 6000 UI. Además, posee un importante contenido de ácido fólico (3.6 mg/100 g), vitamina B1 (35-61 mg/100g) y vitamina B2 (37-73 mg/100g), así como tiamina y riboflavina de 0.08 mg/100 g y niacina de 0.09 mg/100 g en mango maduro.

Los carotenoides son compuestos liposolubles asociados con efectos protectores para la salud, en especial contra el cáncer. Además, algunos de ellos como los trans-carotenos son precursores de la vitamina A. Varios carotenoides han sido identificados en diferentes frutos, pero solo unos pocos aparecen en concentraciones significativas. Reportes previos encontraron que los más predominantes son los trans-carotenos, trans-violaxantinas y 9-cisviolaxantinas, llegando a representar el 27, 28 y 18% del contenido total de carotenoides, respectivamente (Sarawong y col 2004; Kang y col 2008). El β-caroteno representa el

60% de los carotenoides totales en mango, por lo que su consumo es muy importante para algunas poblaciones en regiones tropicales, donde la deficiencia de vitamina A constituye un problema de salud pública (Matheyambath y col 2016).

#### 5 Maduración

Tradicionalmente el mango es cosechado con base en la observación de la apariencia física y se toman en cuenta atributos como el tamaño, color, forma, la formación de los hombros y el llenado de los cachetes. Es importante tomar en cuenta el estado de maduración en el cual será cosechado el mango ya que de eso dependerá su calidad poscosecha; el estado de maduración ideal es el de madurez fisiológica, ya que si es cosechado antes existe una mayor probabilidad de que sufra daño por frío. Por otro lado, los frutos que son cosechados en madurez comercial tienen mayor riesgo de sufrir lesiones físicas por daño mecánico y provocar la pérdida de agua o mayor susceptibilidad al ataque de patógenos (Yahia 1998).

El crecimiento y la maduración fisiológica del fruto solo se completan cuando permanece unido a la planta de la cual procede, pero debido a que es un fruto climatérico puede continuar con el proceso de madurez comercial y la senescencia una vez separado de la planta. Cuando el fruto es cosechado se interrumpe la síntesis de ATP y el flujo de nutrientes, por lo que inicia la hidrólisis de los polímeros para obtener compuestos de bajo peso molecular y poder así respirar (Montalvo y col 2007).

El mango es un fruto climatérico que presenta una curva de respiración simple, la cual se puede dividir en 4 etapas: 1) Pre-climatérica que tiene una duración de hasta tres días (26°C y 45-65% H.R.) después de haber sido cosechados y se

caracteriza por una baja producción de CO<sub>2</sub> (70 mg CO<sub>2</sub>/Kg-h), fruta firme y piel de color verde; 2) Aumento del período climatérico entre el cuarto y sexto día de poscosecha, donde se produce un aumento repentino de CO<sub>2</sub>, pero los frutos permanecen verdes y firmes; 3) Máximo del climatérico, el cual ocurre al noveno día de poscosecha (cv. Kent) y en donde se produce la mayor liberación de CO<sub>2</sub> (250 mg CO<sub>2</sub>/Kg-h aprox.), produciendo un quiebre del color, aumento del jugo y del olor del fruto, y 4) Senescencia, la cual se produce después de los 10 días de cosecha, en donde los niveles de CO<sub>2</sub> disminuyen bruscamente y se produce el aroma característico del fruto (Krishnamurthy y Subramanyam 1970).

Una vez cosechado el fruto aumenta la producción de etileno y a su vez se producen una serie de cambios como pérdida de textura, cambio de color, aumento de sólidos solubles, pérdida de acidez, entre otros (Schmilovitch y col 2000).

El color es una de las características fisicoquímicas más importantes en el proceso de maduración y es uno de los principales criterios de aceptación por parte de los consumidores (Slaughter 2009). Las clorofilas son las responsables del color verde, las cuales se van degradando conforme avanza el proceso de maduración de tal manera que permiten que los compuestos carotenoides absorban luz del espectro visible y por tanto la transmitan a la longitud de onda propia del color amarillo (Jha y col 2007; Ornelas y col 2008).

### 6 Manejo poscosecha y almacenamiento

La vida poscosecha se define como el periodo en el cual un producto mantiene un nivel predeterminado de calidad, bajo condiciones específicas de almacenamiento (Shewfelt 1986). Hoy en día es común encontrarse con una serie

de tratamientos poscosecha, como los cuarentenarios y fitosanitarios, entre los que se tienen métodos químicos, de irradiación y métodos físicos, incluyendo en éstos últimos a los tratamientos hidrotérmicos, los cuales se aplican con la finalidad de prolongar la vida útil del producto (Tang y col 2007).

Los frutos de mango destinados a la exportación deben recibir un tratamiento hidrotérmico después de la cosecha, el cual consiste en inmersión en agua caliente para eliminar posibles infestaciones de moscas de la fruta. Los mangos se sumergen durante 60-90 minutos a 46.1 °C de acuerdo a su tamaño según lo estipulado por la normatividad de la USDA (2018). Posterior al tratamiento se dejan enfriar a temperatura ambiente para evitar inconvenientes en la fruta por un cambio brusco de temperatura y esto provoque que se aumente la susceptibilidad al ataque de patógenos. Después de alcanzar la temperatura ambiente deben ser introducidos en cámaras de almacenamiento refrigerado (Nindo y Tang 2007).

El almacenamiento es una de las operaciones más importantes cuyo objetivo principal es mantener la vida útil del fruto, así como conservar la calidad mediante la aplicación de condiciones ambientales adecuadas que disminuyan el metabolismo del fruto y por ende su maduración y deterioro (Mc Donald 1994). La disminución de la temperatura es uno de los métodos de conservación más utilizado a nivel mundial. El mango normalmente es transportado, almacenado y distribuido a temperaturas entre 10 y 12 °C para controlar la maduración y mantener las características de calidad, ya que es susceptible a un desorden conocido como daño por frío (DF) que se presenta cuando los frutos son expuestos a temperaturas inferiores. Sin embargo, la vida de anaquel del fruto a estas temperaturas es corto por lo que limita la posibilidad de comercialización a mercados distantes (Soleimani y col 2013).

El daño por frío es un desorden fisiológico que se presenta en una amplia variedad de frutos y conlleva pérdidas de la calidad como maduración irregular, picado de la cáscara u oscurecimiento y marchitez entre otros síntomas que se describirán con detalle en la siguiente sección. Por ello, existe una fuerte necesidad de aplicar y buscar medidas que ayuden a reducir el DF y a su vez prolongar la vida de anaquel de estos productos hortofrutícolas susceptibles (Vasquez-Salinas y Lakshminarayana 1985).

#### **B DAÑO POR FRÍO**

El término daño por frío (DF) se utiliza para describir un daño fisiológico desarrollado en muchas plantas, así como en frutas y hortalizas, como resultado de su exposición a temperaturas bajas sin llegar al punto de congelación (Malacrida y col 2006). El daño por frío se produce cuando un producto está expuesto a una temperatura perjudicial, durante un tiempo suficiente para iniciar una lesión irreversible. El umbral de temperatura es la temperatura más baja a la cual una fruta o vegetal susceptible se puede mantener sin desarrollar síntomas de DF. En mango, se ha reportado que a temperaturas por debajo de los 13°C pueden inducir daño por frío (Hatton 1990).

#### 1 Síntomas de daño por frío en mango

Los síntomas de DF incluyen un color grisáceo, escaldado en la piel, seguido por picaduras, maduración no uniforme y un deficiente sabor y desarrollo de color (Medlicott y col 1990). Estos últimos dos son especialmente importantes ya que la pérdida de sabor debido al frío puede ocurrir sin el desarrollo de otros síntomas

visibles. Los síntomas debido al frío no son siempre aparentes mientras el fruto está a baja temperatura, pero se desarrollan cuando la fruta se expone a temperaturas más cálidas para la maduración. Los síntomas que se observan en frutos de mango almacenados a bajas temperaturas y madurados de 1 a 2 días son zonas con pérdidas de color y picaduras en la superficie (Srivastava 1967), seguido por la maduración irregular, perdida de color y sabor, así como una mayor susceptibilidad al deterioro microbiano (Subramanyam y col 1975). Ketsa y col (2000) reportaron que mangos cv. "Nam Dokmai" almacenados a 4°C durante 3 semanas desarrollaron oscurecimiento de lenticelas y manchas grisáceas en la piel después de que los frutos fueron transferidos a temperatura ambiente.

El oscurecimiento inducido por las temperaturas bajas ha sido asociado con la conversión enzimática de fenólicos libres a *o*-quinonas, las cuales después se polimerizan de manera no enzimática a pigmentos oscuros. La fenilalanina amonio liasa (PAL, del inglés phenylalanine ammonia lyase) es una enzima que inicia la síntesis de fenólicos libres. En algunos frutos, se ha sugerido que la actividad de PAL es el factor limitante en el oscurecimiento inducido por temperaturas bajas (Chidtragool y col 2011).

#### 2 Mecanismos de daño por frío

Dentro de las posibles respuestas primarias del daño por frío se tienen: 1) incremento en la concentración de calcio en el citosol, 2) variación conformacional de las enzimas, 3) cambios estructurales a nivel celular y 4) transición en los lípidos de las membranas. Si el fruto se mantiene por tiempo prolongado a temperatura de daño por frío, se pueden presentar respuestas secundarias tales como: 1) aumento

de la producción de etileno, 2) cambios en la actividad respiratoria, 3) pérdida de agua, 4) aumento de la permeabilidad de la membrana, 5) emisión de aceites esenciales, 6) aumento en volátiles, y 7) producción de enzimas implicadas en el metabolismo de los fenoles.

#### a Daño a membrana

Jackman y col (1988) explicaron las respuestas primarias de las plantas a la temperatura de DF, las cuales son de naturaleza física e incluyen alteraciones de la membrana celular y disfunción de proteínas. La membrana celular está compuesta principalmente por lípidos los cuales dan forma a la estructura celular. Existen numerosos síntomas de daño por frío asociados a cambios en la permeabilidad de las membranas, entre ellos, el picado, los desecamientos y marchitamientos que se pueden considerar como el resultado de la mayor permeabilidad al vapor de agua, desde las células al ambiente. En el caso del picado, esto puede limitarse a ciertas células de parénquima.

Además, se ha reportado que las temperaturas bajas alteran las propiedades físicas de los lípidos de la membrana, afectando su elasticidad, uniformidad, fluidez (Sharom y col 1994), composición y permeabilidad, provocando un aumento en la lixiviación de electrolitos (Kasamo y col 1992; Lurie y col 1997). Se ha propuesto que el mal funcionamiento de las membranas celulares a bajas temperaturas es el evento primario que conduce al DF (Lyons 1973); aunque en los últimos años se ha sugerido que los síntomas de DF son consecuencia de un estrés oxidativo en los tejidos, lo cual se describe en el siguiente punto.

#### b Estrés oxidativo

El estrés por frío aumenta los niveles de las EROs que estimulan la peroxidación de lípidos en las membranas celulares (Zhang y col 2009). El estrés oxidativo se da por el desequilibrio entre la producción de las especies reactivas de oxígeno y la reducción del sistema antioxidante.

Moller (2001) sugirió que la planta se protege ante el estrés oxidativo por dos vías. La primera de ellas está relacionada con la activación de genes que codifican para proteínas involucradas en la evasión de EROs como la ubiquinol oxidasa (UbOx), la cual es una vía alterna de la cadena de transporte de electrones, evitando así la acumulación de las EROs. La segunda defensa consiste en la inducción de genes que codifican para proteínas secuestradoras de EROs tales como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión S- transferasa (GST) y glutatión reductasa (GR).

#### 3 Tratamiento hidrotérmico y tolerancia al daño por frío

El mango para ser comercializado es sometido a un tratamiento térmico cuarentenario con el fin de eliminar huevecillos de insectos como la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*). Existen tres métodos diferentes de tratamientos térmicos: Agua caliente, vapor caliente y aire caliente, siendo el tratamiento con agua caliente o hidrotérmico el que es aplicado al mango en huertos comerciales. El tratamiento hidrotérmico (TH) además de ser eficaz en contra de los huevecillos de la mosca de la fruta, también controla hongos patógenos, ya que las esporas o infecciones se localizan en la superficie o en las primeras capas celulares de la cáscara (Lurie, 1998). Para el control de patógenos se requiere una exposición al agua caliente de

pocos minutos y temperaturas mayores a 50 °C, mientras que para el control de insectos, los tiempos de inmersión se elevan a 1 h o más, pero las temperaturas deben estar por debajo de 50 °C. Lo anterior debido a que los insectos se pueden localizar más hacia el interior del fruto (Lurie, 1998). El tratamiento establecido por la USDA (2018) consiste en la inmersión del fruto en agua a una temperatura de 46.1°C durante 90 minutos. Los tratamientos térmicos poscosecha pueden modificar las respuestas de los frutos al estrés por frío, inducir el fenómeno de tolerancia cruzada y mantener su calidad durante el almacenamiento (Lurie y Pedreschi, 2014). Numerosos estudios en diferentes frutos han reportado que los tratamientos con agua caliente inducen tolerancia al daño por frío, algunos de los cuales se muestran en el **Cuadro 6**.

Yimyong y col (2011) investigaron el efecto de un tratamiento hidrotérmico (TH) en el metabolismo del fruto de mango cv. Okrong durante el almacenamiento a bajas temperaturas y maduración. Frutos en estado verde maduro se trataron por inmersión en agua caliente (50  $\pm$  1°C) o ambiente (30  $\pm$  2 °C) por 10 min, y luego fueron almacenados a 8 ó 12 °C por 15 días, seguido de un almacenamiento a temperatura ambiente (30  $\pm$  2°C) por 5 días.

**Cuadro 6.** Tratamientos hidrotérmicos que brindan tolerancia al daño por frío en diferentes cultivos

Cultivo	Temperatura óptima °C	Referencia
	(tiempo)	
Aguacate (cv. Hass)	38 (60 min)	Woolf (1997)
Ciruela (cv. Friar)	45-50(30-35 min)	Abu-Kpawoh y col (2002)
Manzana (cv Golden	55 (15 s)	Fallik y col (2001a,b)
Delicious)		
Mango	46.1 (110 min)	Shellie y Mangan (2002)
Naranja (cv. Tarocco)	53 (3 min)	Schirra y col (1997)
Pimiento morrón	45 (15 min), 53 (4 min)	Gonzalez-Aguilar y col
		(2000)
Tomate (cv. Sunbean)	39,45 (60 min)	McDonald y col (1999)
Tomate (cv. Imperial)	42 (5 min)	Salazar-Salas y col (2017)

Los autores observaron que la velocidad de producción de etileno se redujo significativamente por el TH durante el almacenamiento en frío y la maduración. El TH incrementó la actividad de la enzima catalasa, además de suprimir la actividad de la enzima ascorbato peroxidasa, y no tuvo efecto significativo en la actividad de la enzima glutatión reductasa durante la fase de maduración, pero mostró un ligero efecto durante el almacenamiento en frío. El TH incrementó los niveles de transcritos para las enzimas superoxido dismutasa dependiente de manganeso, pectato liasa, βgalactosidasa, y β-1,3-glucanasa durante el almacenamiento en frío. Los patrones de proteínas totales fueron alterados por todos los tratamientos durante el estrés por frío y maduración, pero el TH disminuyó la pérdida de varias proteínas durante el periodo de maduración. Se concluyó que el TH incrementa el periodo de almacenamiento del mango extendiendo la vida de anaquel a través de la regulación de un gran número de parámetros metabólicos, incluyendo tendencias de genes de antioxidantes e hidrolasas de pared celular y la expresión de proteínas durante su almacenamiento a temperaturas bajas y a temperatura ambiente.

Zhang y col (2012) investigaron el efecto de la aplicación de un TH (55 °C, 10 min) en mango cv. Tainong 1 almacenado a 5 °C y un posterior almacenamiento a temperatura de 20°C durante 5 días sobre el metabolismo de pared celular y maduración. La severidad de los síntomas del DF fue menor en los frutos que fueron tratados hidrotérmicamente, mientras que en los valores de firmeza no hubo diferencia significativa entre los tratamientos durante el almacenamiento.

López-López y col (2018) aplicaron un TH (46.1°C, 75-90 min) en frutos de mango cv. Keitt y un posterior almacenamiento a 5°C por un periodo de 20 días más 7 días de maduración a 21°C. Los autores visualizaron una menor incidencia de

síntomas de DF en los frutos tratados hidrotérmicamente con respecto a los frutos sin tratamiento, además de encontrar en éstos últimos una mayor peroxidación de los lípidos de membrana y fuga de electrolitos, así como una menor actividad antioxidante. También encontraron una mayor actividad de las enzimas CAT, SOD y APX en los frutos con TH, evidenciando la efectividad del tratamiento térmico para mantener la integridad de la membrana y con ello la calidad poscosecha de los mangos prolongando su vida útil.

Chairez-Vega (2018) realizó un análisis proteómico para identificar proteínas relacionadas con la tolerancia al DF inducida por un TH en frutos de mango cv. Keitt, encontrando que dicha tolerancia parece estar asociada con una mayor protección de las proteínas ante el estrés por frío y una mayor actividad del sistema antioxidante, manteniendo la integridad de la membrana y el funcionamiento normal de la célula.

# C CAMBIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA RELACIONADOS CON LA EXPOSICIÓN A BAJAS TEMPERATURAS

El conocimiento cualitativo y cuantitativo sobre los genes existentes en el genoma de las plantas se debe en gran parte al desarrollo tecnológico de las ciencias ómicas, sobre todo a la transcriptómica, la cual representa una herramienta de gran utilidad para el análisis de expresión global e identificar genes que se expresan bajo condiciones específicas; también permite realizar un mapeo de genes nuevos en los cromosomas, la identificación de diferentes isoformas, la determinación de las diferentes funciones que poseen los RNA, entre otras aplicaciones. Entre las tecnologías desarrolladas para el estudio del transcriptoma se

encuentran principalmente las basadas en la hibridación o las basadas en la secuencia del RNA. Las primeras implican la incubación del cDNA marcado con un agente fluoróforo y el microarreglo que contienen los oligos complementarios al cDNA, lo que produce una emisión de fluorescencia proporcional a la expresión génica o cantidad de cDNA presente. Sin embargo, los microarreglos presentan algunas desventajas como un rango limitado de detección y saturación de señales, así como la necesidad de conocer el genoma del organismo en cuestión, limitando sus aplicaciones (Wang y col 2008; Haider y Pal 2013). En cuanto a las tecnologías basadas en la secuencia del RNA se encuentran el análisis serial de la expresión de genes (SAGE), la secuenciación masiva en paralelo (MPS) y PCR tiempo real. Esta última es una de las técnicas más utilizadas debido a su alta precisión y rendimiento en la medición de la expresión génica, pero el análisis se realiza en un solo transcrito y es difícil distinguir las diferentes isoformas presentes (Wang y col 2008).

En años recientes, la tecnología de secuenciación de RNA (RNA-Seq) ha proporcionado una nueva manera de identificar el nivel de expresión génica (Hong-xia y col 2014). El RNA-Seq no requiere conocer la secuencia el genoma, puede ser menos costoso y más eficiente, permite el descubrimiento de genes más rápido y de perfiles de transcriptoma más sensibles y precisos que otras técnicas.

Las plantas han desarrollado diferentes mecanismos de defensa como respuesta a los diversos tipos de estrés biótico y abiótico en los que se enfrentan, lo que les proporciona la capacidad de sobrevivir a dichas condiciones. Cambios en la expresión de genes, así como en la acumulación y modificación postraduccional de proteínas son en gran medida los principales mecanismos de defensa utilizados por las plantas (Timperio y col 2008).

Las temperaturas bajas representan uno de los tipos de estrés abiótico más común y de mayor impacto sobre el ciclo de vida de la planta. Los efectos provocados por estas temperaturas varían desde una simple anomalía en la planta hasta la muerte de la misma, por lo que el estudio de los mecanismos moleculares involucrados en la resistencia o sensibilidad a esta condición es esencial para el desarrollo de cultivares resistentes al frío.

En los últimos años se han identificado una gran cantidad de genes, proteínas y rutas metabólicas involucradas en la percepción y transducción de señales como respuesta de las plantas a las temperaturas extremas (Sung y col 2003). Diversos estudios se han enfocado en el análisis de la transducción de señales hacia el núcleo en diferentes plantas expuestas a temperatura baja, mostraron una correlación entre la disponibilidad del calcio, la expresión génica durante la aclimatación al frío y el desarrollo de la tolerancia al DF, lo que evidencia la importancia del calcio como mensajero en la cascada de transducción de señales a temperatura baja (Monroy y col 1993). Se ha observado que las células presentan una regulación diferencial de los miembros de una familia de genes de la proteína quinasa dependiente de calcio durante las primeras etapas de aclimatación al frío (Monroy y Dhindsa 1995).

COR (regulación por frío) representa una superfamilia de genes cuya expresión ha sido relacionada con una mayor tolerancia a las bajas temperaturas (Thomashow 1990). Su activación se debe a la expresión de genes que codifican para factores de transcripción como ICE1 y CBF1; el primero codifica para un factor de transcripción tipo MYC el cual potencializa la expresión del segundo gen, que codifica para un factor de transcripción de unión al elemento regulador cis (CTR;

Repetición C o DRE; elemento sensible a deshidratación) (Baker y col 1994) que posee esta familia (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki 1994; Miura y col 2012).

# 1 Cambios de expresión de genes relacionados con susceptibilidad y tolerancia al daño por frío en frutos de mango

La respuesta al daño por frío en mango puede ser monitoreada mediante análisis transcriptómicos, fisiológicos y microscópicos. Existen pocos trabajos en los que se estudie la tolerancia al daño por frío inducida por un tratamiento hidrotérmico, ya que la mayoría de los reportes en mango se enfocan en el proceso de maduración o capacidad antioxidante. Los tratamientos térmicos poscosecha pueden modificar las respuestas al estrés por frío, destacando posibles alteraciones en la expresión génica, lo cual demora, interrumpe o promueve la maduración del fruto, afectando la textura, el sabor, la tasa de respiración y la producción de etileno y compuestos volátiles (Lurie y Pedreschi 2014).

En un estudio realizado por Yimyong (2011) en mango cv. Okrong evaluaron el efecto del TH (50 y 30°C, 10 min) previo al almacenamiento a 8 y 12°C, observando un incremento en la actividad de la enzima catalasa y una inhibición de la actividad de la enzima ascorbato peroxidasa, sin un efecto significativo sobre la actividad de la enzima glutatión reductasa durante la etapa de maduración. Además, encontraron un incremento en la expresión transcripcional de genes que codifican para las enzimas manganeso-superoxido dismutasa, pectato liasa,  $\beta$ -galactosidasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa durante el almacenamiento a temperaturas bajas, las cuales están relacionados con la respuesta del sistema AOX y el mantenimiento de la pared

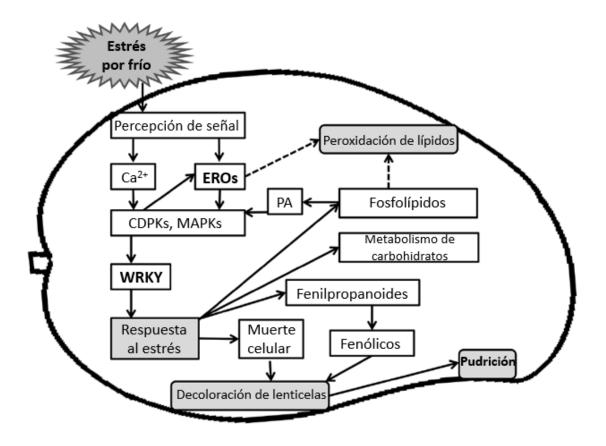
celular, concluyendo que el tratamiento térmico incrementa la vida de anaquel del mango y brinda tolerancia al DF.

Dautt-Castro y col (2018) realizaron un estudio sobre la expresión de genes en mango (*Mangifera Indica* cv. "Ataulfo") sometidos a un tratamiento con agua caliente en conjunto con un cepillado antes del almacenamiento en frío y concluyeron que dos días después de estar expuestos a temperaturas de daño por frío comienzan a expresarse genes que codifican para receptores transmembrana, NADPH oxidasa, MAP quinasas y WRKYs, que pueden conducir a la muerte celular. También se observó una acumulación de fenoles alrededor de lenticelas descoloridas, y un aumento de la peroxidación de lípidos. Los genes involucrados en el metabolismo de azúcares también fueron inducidos, posiblemente para mantener el equilibrio osmótico. Los mangos sometidos a estrés térmico mostraron las mejores características de calidad, probablemente debido a los mecanismos de respuesta al estrés que actúan coordinadamente para prevenir el ataque de microorganismos patógenos, previenen el daño celular y restablecen la homeostasis celular.

Fenilalanina amonio liasa (PAL) es una enzima ubicada al inicio de la ruta de la síntesis de compuestos fenólicos y cataliza la conversión de fenilalanina a ácido cinámico. La actividad de esta enzima incrementa con la exposición a bajas temperaturas tanto en pulpa como cáscara y además ha sido correlacionada con el oscurecimiento típico de los síntomas de DF (Chidtragool y col 2011).

En relación a los mecanismos moleculares implicados en el DF, Sivankalyani y col (2016) analizaron el transcriptoma de cáscara de mango (*Mangifera Indica* cv Keitt) después de ser expuesto a diferentes temperaturas (5, 8, 12 y 18 °C). A partir de los resultados obtenidos los autores propusieron un esquema de la respuesta

molecular del fruto ante el estrés por frío (Figura 2). Cuando el fruto es expuesto a bajas temperaturas, éste responde mediante una cascada de señalización que comienza con un incremento en la producción de calcio y especies reactivas de oxígeno que actúan como mensajeros secundarios activando quinasas las cuales a su vez activan los factores de transcripción WRKY, una familia de proteínas que actúan cuando el fruto se encuentra bajo algún tipo de estrés ya sea biótico o abiótico. Esta respuesta al estrés lleva a la activación de diferentes rutas metabólicas, una de ellas es la de los fenilpropanoides que se encarga de la síntesis de compuestos fenólicos los cuales al entrar en contacto con enzimas como polifenol oxidasa son oxidados provocando la decoloración de lenticelas. Otras rutas que se activan son las de los carbohidratos y la de los fosfolípidos. De la ruptura de estos últimos se libera el ácido fosfatídico que activa las quinasas de señalización por lo que se sigue generando una respuesta al estrés. Los lípidos liberados son oxidados por las especies reactivas que se están produciendo en exceso llevando a la pérdida de la integridad de la membrana y al daño de otras moléculas como proteínas y ADN, al final lleva a la muerte celular y pudrición del fruto.



**Figura 2**. Esquema de la respuesta molecular al daño por frío en cáscara de mango cv. Keitt.

Adaptada de Sivankalyani y col (2016).

Sivankalyani y col (2016) también encontraron que el oscurecimiento de las lenticelas es debido a la acumulación de fenoles oxidados que son transportados por los ductos de resina y son el resultado de la activación de la vía de los fenilpropanoides. Los autores sugieren que el daño por frío en mango está en relación directa con el incremento en la peroxidación de lípidos y la regulación de transcriptos relacionados con la vía oxidativa del ácido α-linolénico y el metabolismo de glicerofosfolípidos.

A pesar de los estudios anteriormente mencionados, a la fecha no se ha encontrado información acerca de la expresión de genes candidatos responsables de la tolerancia al DF en un genotipo de mango de importancia económica y agronómica para Sinaloa como lo es el cultivar Keitt. En este sentido, resulta interesante relacionar los cambios en la expresión de estos genes con la tolerancia inducida al DF en el fruto por medio de la aplicación de un TH.

# **IV JUSTIFICACIÓN**

El mango es un fruto climatérico de gran importancia económica, pero es susceptible al daño por frío cuando se almacena a temperaturas inferiores a 13°C, lo que no permite mantener su calidad poscosecha por tiempos prolongados para su comercialización.

Dentro de los tratamientos poscosecha utilizados para disminuir el daño por frío en mango se encuentra la aplicación de tratamiento hidrotérmico, el cual se utiliza normalmente como tratamiento cuarentenario pero que ha resultado ser efectivo en la disminución de los síntomas del daño por frío.

Algunos estudios han analizado cambios de expresión a nivel de transcritos y proteínas relacionados con la susceptibilidad al DF en frutos de mango. Sin embargo, no existe información sobre los cambios de expresión de genes relacionados con tolerancia al DF en cultivares de mango de importancia económica para el estado de Sinaloa. Por ello, en el presente estudio se planteó analizar la expresión a nivel transcripcional de estos genes en frutos de mango cv Keitt tratados hidrotérmicamente antes de ser sometidos a temperaturas de DF (5 °C), lo cual permitiría mejorar el entendimiento de los mecanismos moleculares implicados en la tolerancia al DF inducida por el TH.

### **V OBJETIVOS**

### A OBJETIVO GENERAL

Determinar la expresión a nivel transcripcional de genes que codifican para proteínas de choque térmico, estrés oxidativo, maduración y patogénesis y su relación con la tolerancia al daño por frío inducida por tratamiento hidrotérmico en frutos de mango cv Keitt.

## **B OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1. Evaluar el índice de daño por frío, parámetros de calidad (color y firmeza) y fisiológicos (lixiviación de electrolitos y contenido de malondialdehído) en frutos de mango con y sin TH almacenados por 20 días a 5 °C y después de un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.
- 2. Determinar la expresión de genes que codifican para proteínas de choque térmico, estrés oxidativo, maduración y patogénesis en frutos de mango con y sin TH almacenados por 20 días a 5 °C y después de 7 días a 21 °C.
- 3. Evaluar la relación entre los niveles de transcritos y los parámetros evaluados en frutos con y sin TH almacenados durante 20 días a temperatura de DF y después de un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.

# **VI MATERIALES Y MÉTODOS**

### A MATERIALES

Se utilizaron frutos de mango cv. Keitt, obtenidos de huertos ubicados en la zona centro del estado de Sinaloa, los cuales fueron seleccionados en estado de madurez fisiológica. Los frutos fueron llevados al laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, donde se lavaron con jabón y se sumergieron durante 3 min en hipoclorito de sodio a 200 ppm; transcurrido el tiempo se hizo una segunda selección para descartar aquellos que presentaran algún defecto o daño. Posteriormente, se dividieron en dos lotes: un lote fue utilizado como control y el otro recibió un tratamiento hidrotérmico. Se almacenaron por 20 días a 5 °C, seguido de un segundo almacenamiento (periodo de maduración) por 7 días a 21 °C.

## **B MÉTODOS**

## 1 Aplicación de tratamiento hidrotérmico

El tratamiento hidrotérmico se aplicó tomando como base las condiciones establecidas para los tratamientos cuarentenarios aprobados para el control de plagas de la fruta (USDA 2018). Los frutos se sumergieron en un baño de acero inoxidable que contenía agua a una temperatura de 46.1 °C durante un tiempo de 90 min (501-700 g) ó 110 min (701-900 g). Posteriormente, fueron enfriados a 25 °C durante 30 min. Una vez transcurrido este tiempo, se retiró el exceso de humedad utilizando toallas de papel.

## 2 Índice de daño por frío

La evaluación se llevó de acuerdo a lo reportado por Salazar-Salas y col (2017) de manera visual con algunas modificaciones. Se determinó el índice de daño con la ayuda de una escala hedónica. Se tomaron en cuenta diferentes daños como A=marchitez, B=picado superficial, C=coloración no uniforme y D=áreas necróticas. Se tomó una escala de 5 puntos donde 0=no daño, 1= 1-25%, 2=26-50%, 3=51-75%, 4=>76%. Los síntomas fueron evaluados por separado. El IDF fue utilizado para medir el daño por frío de cada fruta mediante la siguiente ecuación:

$$IDF = \frac{\Sigma[(ND)(\# de frutos)]}{Total de frutos x réplica}$$

Donde IDF es el índice de daño por frío y ND es el nivel de daño para cada uno de los síntomas.

## 3 Determinación de parámetros de calidad

#### a Color

Se determinaron los valores a\* y b\*, en base a la escala CIE Lab, en tres puntos equidistantes de la región ecuatorial del pericarpio de cada uno de los frutos utilizando un colorímetro Minolta CR 200 (Minolta, Japón).

#### b Firmeza

Se determinó la firmeza del pericarpio del fruto. Se midieron 3 puntos equidistantes en el fruto con un penetrómetro digital DFE 100 (Chatillon) provisto con una punta delgada de 2 mm de diámetro que penetró una profundidad de 5 mm a una velocidad constante de 50 mm min<sup>-1</sup>. Los resultados se reportaron como la fuerza de penetración máxima en Newtons (N).

### 4 Lixiviación de electrolitos

La evaluación de lixiviación se realizó siguiendo la metodología reportada por López-López y col (2018) con modificaciones. Se tomaron 6 discos de 10 mm de diámetro de cáscara, se lavaron con agua desionizada, se cubrieron con 30 mL de manitol (0.3 M) y se incubaron en agitación (200 rpm) a 25°C por 1 h. Se midió la conductividad de la solución inmediatamente después de la incubación con un conductímetro (Hanna instruments EC/TDS modelo HI 98311) y después de someter las muestras a 120°C en autoclave por 25 min para liberar todos los electrolitos. La lixiviación se expresó como porcentaje total de electrolitos.

# 5 Contenido de malondialdehído (MDA)

La determinación del contenido de MDA se basa en el hecho de que esta molécula es el producto final secundario de la oxidación de los ácidos grasos y reacciona con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico a través de una reacción de adición nucleofílica catalizada por un ácido produciendo un cromógeno de color rosa con una absorbancia máxima a 532 nm (Kappus 1985). Se utilizó la técnica descrita por Hodges y col (1999) para lo cual primeramente se homogenizó 1 g de tejido congelado en una mezcla de etanol:agua en una relación 80:20 (v:v) y se centrifugó a 3,000 g (Eppendorf, 5804 R, USA) durante 10 min. Después se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra y se añadió en un tubo de ensayo conteniendo 1 mL de solución ya sea (i) –TBA, compuesta de 20 % (w/v) ácido tricloroacético y 0.01 % hidroxitolueno butilado, o bien (ii) +TBA, conteniendo todo lo anterior más 0.65 % de ácido tiobarbitúrico. Posteriormente las muestras se agitaron vigorosamente e incubaron a 95 °C por 25 min. Transcurrido este tiempo se enfriaron en hielo observando un cambio de coloración y se centrifugaron a 3,000 g durante 10 min. Se

registró la absorbancia del sobrenadante a 440, 532 y 600 nm. El contenido de MDA fue calculado de la siguiente manera y expresado en nmol/g de peso fresco (pf).

- 1)  $A = [(Abs 532_{+TBA}) (Abs 600_{+TBA}) (Abs 532_{-TBA} Abs 600_{-TBA})]$
- 2) B =  $[(Abs 440_{+TBA} Abs 600_{+TBA}) 0.0571]$
- 3) Equivalentes de MDA (nmol  $mL^{-1}$ ) = (A B / 157,000)  $10^6$

### 6 Extracción de RNA total

Se utilizó la metodología empleada por Chang y col (1993) con algunas modificaciones. Primeramente se molieron los tejidos de pericarpio en presencia de nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. Para la extracción del RNA total, se mezclaron 2 g de tejido molido con 10 mL de amortiguador de extracción CTAB estéril (2% de CTAB, 2% PVP K40, 100 mM de Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA, NaCl 2 M y β- mercaptoetanol 2%), se agitó la mezcla en vortex por 2 min, seguido de una incubación por 15 min a 65°C. Se agregaron 10 mL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se centrifugó a 10,000 g por 20 min, se tomó la fase superior y se repitió el procedimiento de la adición de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1). Se precipitó adicionando cloruro de litio 2.5 M (1/4 del volumen recolectado) y se dejó durante toda la noche a -20°C. Después de centrifugar (5,000 g, 45 min, 4°C) a la pastilla obtenida se le añadieron 700 µL de amortiguador SSTE precalentado (10 mM Tris-HCl, 1 M NaCl, SDS 5% y EDTA 1 mM pH 8.0) y se homogenizó. La suspensión fue transferida a un tubo nuevo de 1.5 mL, se le agregaron 700 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó a 10,000 g a temperatura ambiente por 10 min. El lavado con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) se repitió dos veces. Posteriormente se recolectó la fase superior, se le agregó 1 mL de etanol al 100% y se dejó precipitar durante 2 horas a -70°C. Después de centrifugar (10,000 g, 35 min, 4°C), se dejó secar la pastilla y por último se resuspendió en 20-30  $\mu$ L de agua tratada con DEPC.

### 7 Tratamiento de RNA con DNAsa

El DNA genómico presente en la muestra de RNA se eliminó utilizando el kit DNase I (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA). Se inició el tratamiento con 3 μg de RNA total y se le agregaron 1 μL de amortiguador de reacción 10X y 1 μL de DNAsa I (1 U/μL), ajustado a un volumen final de 10 μL con agua tratada con DEPC. Posteriormente la mezcla se incubó 15 min a temperatura ambiente, se añadió 1 μL de la solución de paro y se incubó 15 min a 65 °C. Finalmente la muestra se almacenó a -70°C hasta su uso.

## 8 Análisis de expresión de genes relacionados con tolerancia al DF

Para el análisis de expresión de genes de los frutos control y tratados hidrotérmicamente a los diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR). El RNA se cuantificó utilizando un espectrofotómetro BioMate 3s (Thermo Scientific) y se utilizaron 20 ng por reacción. Se utilizó el kit SCRIPT One-Step RT-PCR (Jena Bioscience, California, USA) siguiendo las recomendaciones del proveedor y la amplificación se realizó en un sistema de tiempo real CFX-96 (Bio-Rad, California, USA). Los iniciadores utilizados fueron diseñados a partir de la secuencia de genes involucrados en la respuesta a temperaturas bajas, los cuales han sido reportados previamente por diversos autores para diferentes genotipos de mango. Se utilizó el

programa PRIMER BLAST disponible en la página <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/</a> (Cuadro 7). Los criterios utilizados para el diseño de los iniciadores fueron una temperatura de alineamiento de 60-66°C y que amplificaran una región de 100-200 pb. Las condiciones de amplificación fueron: 50°C por 30 min (cDNA), 95 °C por 5 min, seguido de 40 ciclos a 95 °C (15 s) y 60-66 °C (1 min) con una velocidad de rampa de 2.2 °C/s. Las curvas de fusión se obtuvieron por calentamiento de 65 °C a 95 °C con una velocidad de rampa de 0.5 °C/s.

Los niveles de expresión de los genes analizados se calcularon usando como gen de referencia *Actina*, el cual ha sido reportado previamente en mango. Para cada gen analizado, el valor del ciclo umbral promedio (Ct) se calculó de tres réplicas para cada genotipo.

La expresión relativa se calculó usando la ecuación:

$$2^{[(WX-WC)-(GX-GC)]}$$

En donde:

X= Gen de interés

C= Gen control

W= Promedio de los Ct de frutos Control

G= Promedio de los Ct de frutos con TH

**Cuadro 7.** Iniciadores utilizados para el análisis de expresión de genes relacionados con la tolerancia al DF inducida por la aplicación de TH.

Gen	Forward primer 5´-3´	Reverse primer 5´-3´	Та
HSP 17.6	TCAAGGCTGATCTTCCAGGG	CTCCGGCAACTTAAACCTCCT	
PSD	AGGGAGTGAATTGATGGGCA	ACGAGCAGAAGCACGAAAGG	
POX	TTCCAATGGACCCTGGAAGC	GACTGAGCGAACTCGGTGAA	
β-GAL	ACTCAAGGTGGTCCGATAATCC	GTCCCAAGATCCACAGCCAT	
CBF-1	CACCTGGTTCTGACTTGCCTACTG	ACGACCCGCTCGCTTCTTTG	
CAT	GCCCTGGTATTGTGGTTCCT	TGGTCCTAGACGGTGCCTTT	60°C
PAL	AGGAGGAATTGAAGGCCGTTT	TGTTGGGAATCGCCGCATTT	
ACT	TCCCAGTATTGTGGGTAGGC	GGCAACTCGAAGCTCATTGT	
PL	ATGGCGGTTTCTCCTAGA	TCACTGTCGATGCTTTAACG	
UbOx	AGGAAATTCGAGCACAGCGG	GAACACGCCTTGGACGGTAA	64°C
CHI	CGGAAACTGGCAACCCACTA	ACCCAATGCGATCCTGAACC	
SOD	GAGCAAACACTCGGTGCAAA	AGCGTGAATATGGAAGCCGT	66°C
β-GLU	GGCTGCAATGTTGTTGCTCT	CGCATCTGCCCAATGTTGTT	

Ta: temperatura de alineamiento. HSP17.6: proteína de choque térmico 17.6 kDa; PSD: fitoeno desaturasa; POX: peroxidasa;  $\beta$ -GAL:  $\beta$ -galactosidasa; CBF-1: factor de repetición C de unión-1; CAT: catalasa; PAL: fenilalanina amonio liasa; ACT: actina; PL: pectato liasa; UbOx: ubiquinol oxidasa; CHI: quitinasa; SOD: superóxido dismutasa;  $\beta$ -GLU:  $\beta$  1-3, glucanasa.

## 9 Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA bifactorial, teniendo como factores el tratamiento (control y TH) y las condiciones de almacenamiento (20 días a 5°C y 20 días a 5°C + 7 días a 21°C). Se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Fisher (LSD) con un α=0.05. Todos los análisis se realizaron con el programa STATGRAPHICS Centurión versión 15.2.06 (Stat Point Technologies, Inc. Warrenton, VA, USA).

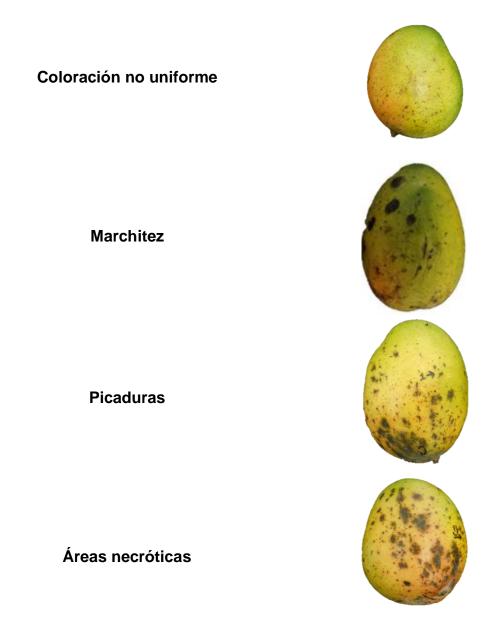
# VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## A ÍNDICE DE DAÑO POR FRÍO

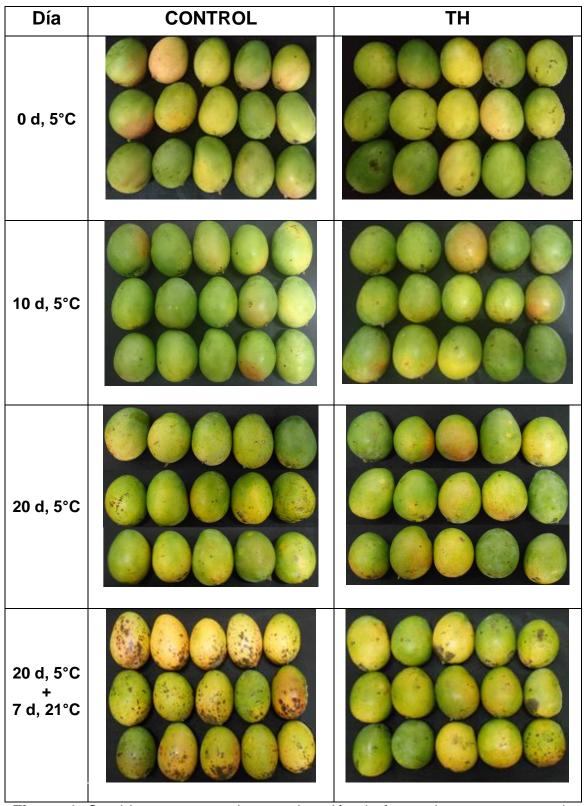
El índice de daño por frío (IDF) se evaluó para cada uno de los síntomas después de 10 y 20 días a 5°C y después de 20 días a 5°C más 7 días a 21°C. Los principales síntomas de DF observados en los frutos después del almacenamiento en frío y posterior maduración fueron coloración no uniforme, marchitez, picaduras y la aparición de áreas necróticas (**Figura 3**). Algunos síntomas fueron visibles desde el día 10 de almacenamiento, mientras que a partir de los 20 días a 5°C todos los síntomas fueron visibles en ambos tratamientos, los cuales presentaron mayor severidad cuando fueron transferidos de la baja temperatura al periodo de maduración a 21°C (**Figura 4**). A continuación se describen los cambios observados en cada uno de los síntomas.

## 1 Coloración no uniforme

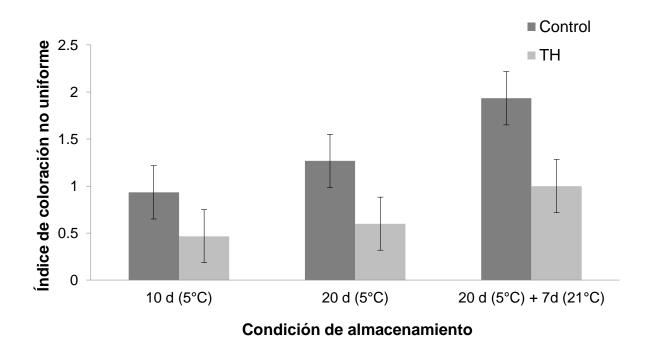
Este síntoma fue el primero que se presentó en los frutos y se observó desde el día 10 de almacenamiento a 5°C, aunque sin diferencias significativas entre mangos con TH y control (Figura 5). Después de 20 días a 5°C, el IDF de este síntoma fue significativamente menor en los frutos con TH comparado con los frutos control, mostrando que el tratamiento térmico permitió un mejor desarrollo del color en los frutos. La severidad del daño asociado a este síntoma incrementó significativamente en los frutos control después del periodo de maduración de 7 días a 21°C.



**Figura 3**. Principales síntomas de daño por frío en mango cv. Keitt almacenado durante 20 días a 5°C más un periodo de maduración de 7 días a 21°C.



**Figura 4.** Cambios en aparencia y maduración de frutos de mango con y sin tratamiento hidrotérmico durante el almacenamiento a 5°C más un periodo de maduración de 7 días a 21°C.



**Figura 5**. Desarrollo de coloración no uniforme en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados por 20 días a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 0.2370 ( $\alpha$ =0.05).

Medlicott y col (1990) estudiaron el desarrollo de la maduración después de un almacenamiento en frío en tres variedades de mango (Amelie, Tommy Atkins y Keitt) y observaron que los frutos presentaron coloración no uniforme, pérdida de sabor y disminución de compuestos volátiles responsables del aroma cuando fueron expuestos a temperaturas menores a 10 °C por un tiempo prolongado.

Sivankalyani y col (2016) estudiaron el comportamiento de mango cv. Keitt al ser almacenado a diferentes temperaturas (5, 8, 12 y 18 °C), donde los frutos almacenados a 5 y 8 °C tuvieron un retraso en el cambio de color en comparación con los frutos almacenados a 12 y 18°C, lo cual sugiere que el estrés por frío retarda el proceso de maduración del fruto y resulta en una coloración no uniforme.

El color de los frutos se debe principalmente a compuestos como carotenoides, antocianinas, clorofilas y betalainas. Los carotenoides y las antocianinas son metabolitos secundarios sintetizados por la ruta de los terpenoides y los ácidos fenólicos respectivamente (Kato 2004). Un estudio de expresión de genes realizado en frutos de mango cv. Shelly sometidos a TH mostró una mayor expresión de genes relacionados con la síntesis de antocianinas [antocianina 5-aromatico (antocianin5a) 4) y UDP-glicosiltransferasa 85a2-like (85A2)] y una disminución en genes que codifican para pigmentos como clorofilas a/b, lo que sugiere que el TH activa diferentes rutas que modulan la acumulación de antocianinas y reduce los procesos asociados con la acumulación de clorofila lo que conlleva al desarrollo de color en el fruto (Luria y col 2014).

Los resultados del presente estudio concuerdan con lo reportado previamente por diversos autores en donde evidencian el efecto benéfico que tiene el tratamiento

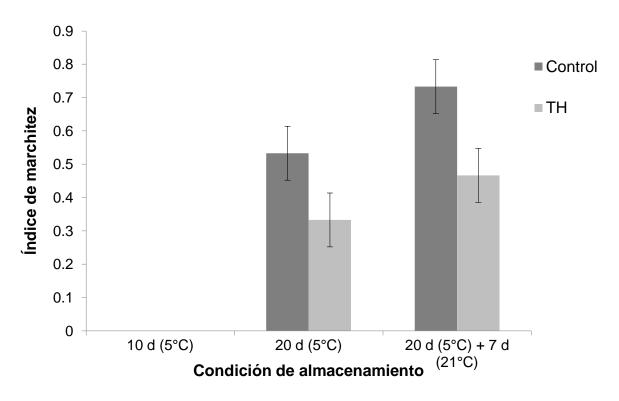
hidrotérmico para disminuir la severidad de los síntomas del daño por frío, como lo es maduración regular (Yimyong y col 2011; Zhang y col 2012).

### 2 Marchitez

La marchitez se observó a partir del día 20 de almacenamiento en frío, siendo significativamente más severa en los frutos control con respecto a los frutos que recibieron el tratamiento hidrotérmico (Figura 6).

La marchitez del fruto después de ser cosechado se asocia con la pérdida de agua por el proceso de transpiración. Cantre y col (2017) reportaron la salida de agua intracelular en tejido dañado por frío observando que las células de frutos de mango dañado por bajas temperaturas eran más puntiagudas, menos esféricas, comparado con frutos no dañados, lo cual es un indicador de lixiviación celular. Esta lixiviación de agua intracelular contribuyó a la disminución en porosidad y conectividad de los poros durante el desarrollo de DF, lo cual afectó el intercambio de gases en el fruto aumentando de manera drástica en frutos dañados. De igual manera reportan que la salida de agua pudo ayudar a la formación de cavidades en el mesocarpio exterior, cerca de la cáscara, incrementando la disponibilidad del agua libre la cual pudo fluir fácilmente entre poros más pequeños por capilaridad, difundirse y evaporarse en la superficie del fruto creando cavidades aún más grandes en el mesocarpio.

Lo crítico de la presencia de este síntoma es que provoca de forma directa la aparición de otro síntoma como lo es el oscurecimiento de la cáscara, ya que el agua libre que viaja a través de los capilares y se evapora en la superficie del fruto puede



**Figura 6**. Desarrollo de marchitez en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 0.1171 ( $\alpha$ =0.05).

contener compuestos fenólicos (Agillon y Lizada 2010), los cuales pueden causar reacciones de oscurecimiento con polifenoloxidasa en cáscara.

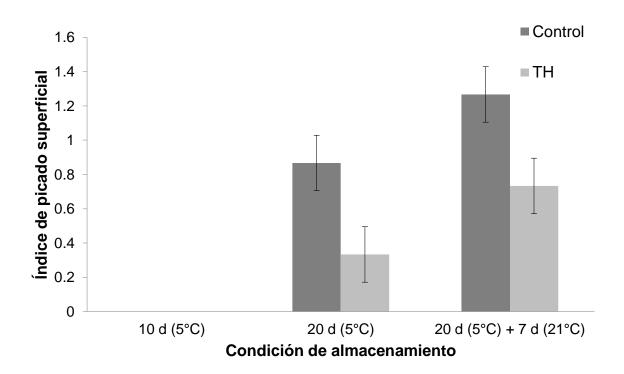
## 3 Picado superficial

Uno de los daños más notorios y reportados en frutos de mango de distintas variedades a causa del DF es la aparición de picado superficial mostrándose como hundimientos en el pericarpio del fruto. Este síntoma fue observado después de 20 días de almacenamiento a 5°C y su severidad aumentó cuando fue transferido a temperatura de maduración (Figura 7). En ambas condiciones de almacenamiento, el daño fue significativamente mayor en los frutos control con respecto a los tratados térmicamente.

Zhao y col (2014) realizaron un análisis estructural del daño por picado superficial y encontraron que está asociado con grietas en la cutícula y con el hundimiento de las células epidérmicas cercanas a los estomas, los cuales en conjunto llevan a un aumento en la velocidad de respiración, así como mayor presencia de pudriciones debido al crecimiento de hongos necrotróficos (Fernández-Trujillo 2006; Tatsumi y col 1987).

# 4 Áreas necróticas

El daño por frío se manifiesta principalmente en el pericarpio del fruto y otro de los síntomas de mayor prevalencia es la aparición de áreas necróticas. Las causas de este síntoma son, en primera instancia, las alteraciones de las propiedades físicas de los lípidos de membrana, afectando la elasticidad, uniformidad y fluidez de la membrana (Sharom y col 1994), así como cambios en la composición lipídica y



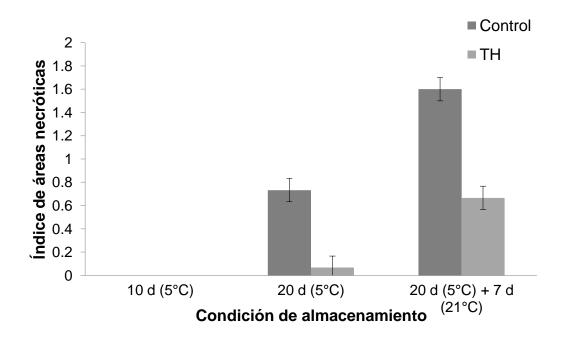
**Figura 7**. Desarrollo de picado superficial en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 0.1171 ( $\alpha$ =0.05).

permeabilidad provocando un aumento en la lixiviación de electrolitos (Lurie y col 1997). Esto aumenta la susceptibilidad al ataque de patógenos y, al mismo tiempo, propicia las pudriciones en el fruto (Lyons, 1973). Además, el colapso de las células ha sido asociado con la liberación de algunos terpenoides a través de los canales de resina, causando un daño irreversible en la pared celular, y así la aparición de síntomas como picaduras y áreas necróticas (Sivankalyani y col 2016).

En el presente estudio, la aparición de áreas necróticas se pudo observar después de 20 de almacenamiento a 5°C, encontrándose que la severidad del daño en frutos control fue 6 veces mayor que en los frutos con TH (**Figura 8**). Después del periodo de maduración, este índice incrementó en ambos tratamientos, siendo significativamente menor en los frutos tratados hidrotérmicamente; los frutos control presentaron un porcentaje de daño de 25-50% de la superficie total mientras que en el caso de los frutos con TH la superficie afectada fue menor al 25%.

En un estudio realizado en mango cv. Okrong se observó que al someter los frutos a un TH (50 °C, 10 min) mejoraron su apariencia externa durante el almacenamiento en frío y luego de un periodo de maduración a 30 °C (Yimyong y col 2011). López-López y col (2018) reportaron que la aplicación de un TH en frutos de mango cv. Keitt disminuyó considerablemente el desarrollo de síntomas de DF manteniendo la calidad de los mismos por un periodo mayor que los frutos control.

El IDF refleja directamente el grado de desarrollo de los síntomas del DF y ha sido ampliamente utilizado en el estudio de este desorden en distintos frutos para juzgar la tolerancia al frío. En este sentido, los resultados del presente estudio



**Figura 8**. Desarrollo de áreas necróticas en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 0.0706 ( $\alpha$ =0.05).

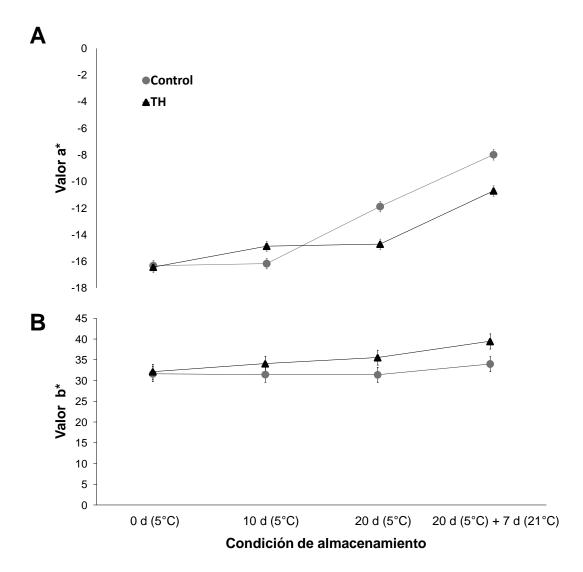
sugieren que el TH brinda cierta tolerancia al daño por frío en los frutos de mango lo cual se ve reflejado en una menor incidencia de síntomas.

## **B PARÁMETROS DE CALIDAD**

## 1 Color en cáscara

El color es uno de los atributos de calidad más importantes en los frutos ya que tiene gran influencia en la apariencia y aceptabilidad del producto por el consumidor. Los parámetros de color a\* (verde-rojo) y b\* (azul-amarillo) son los que reflejan de mejor manera los cambios de color en mango. El parámetro a\* mostró diferencias significativas entre los frutos control y TH a los 10 días de almacenamiento en frío (**Figura 9A**), mientras que en el parámetro b\* se observaron diferencias significativas hasta después de 20 días a 5 °C (**Figura 9B**), siendo los frutos tratados los que presentaron los valores más altos. Esta diferencia en color fue más evidente después de que los frutos fueron madurados durante 7 días a 21 °C.

El cambio de color es atribuido a la degradación de la clorofila, lo cual es asociado con la ruptura de la membrana de los tilacoides en los cloroplastos durante las primeras etapas del proceso de maduración (Medlicott y col 1986), por lo que se sugiere que el proceso de síntesis de carotenoides se ve restringido durante el almacenamiento a bajas temperaturas (Vazquez-Salinas y Lakshminarayana 1985).



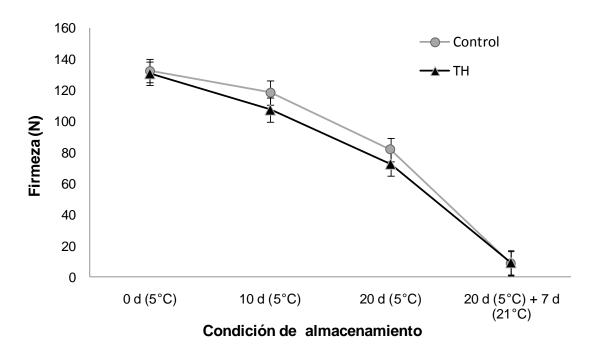
**Figura 9**. Cambios en los parámetros de color a\*(verde-rojo) (A) y b\*(azul-amarillo) (B) en cáscara de mangos con tratamiento hidrotérmico (TH) y control almacenados a 5 °C y posteriormente madurados 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican LSD= 0.3904 y LSD=1.1155 ( $\alpha$ =0.05) para a\* y b\*, respectivamente.

Los niveles de carotenoides cambian dependiendo del cultivar de mango pero los compuestos mayormente reportados en estos frutos son  $\beta$ -caroteno,  $\zeta$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, luteoxantina, zeaxantina, violaxantina, anteraxantina, auroxantina y neoxantina (John y col 1970; Cano y De Ancos 1994; Mercadante y Rodriguez-Amaya 1997; Ben-Amotz y Fishler 1998). Se ha reportado que el tratamiento hidrotérmico acelera la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides, por lo que ayuda al desarrollo de un color más uniforme (Ledger 1995).

Los resultados del presente estudio sugieren que el tratamiento hidrotérmico aplicado a los frutos de mango permitió un mejor desarrollo del proceso de maduración mostrando una coloración más uniforme evidenciado en la menor incidencia del síntoma de coloración no uniforme en frutos tratados (**Figura 4**).

#### 2 Firmeza

La firmeza es otro de los atributos principales en los cuales se basa el consumidor al adquirir un fruto. Este parámetro disminuyó progresivamente en frutos con TH y control durante el almacenamiento en frío y posterior periodo de maduración, sin diferencias significativas entre ambos tratamientos (**Figura 10**). La pérdida de firmeza de los frutos durante la maduración puede atribuirse principalmente a la despolimerización y solubilización de componentes de la pared celular, conduciendo a la pérdida progresiva de la cohesión célula-célula (Brummell 2006).



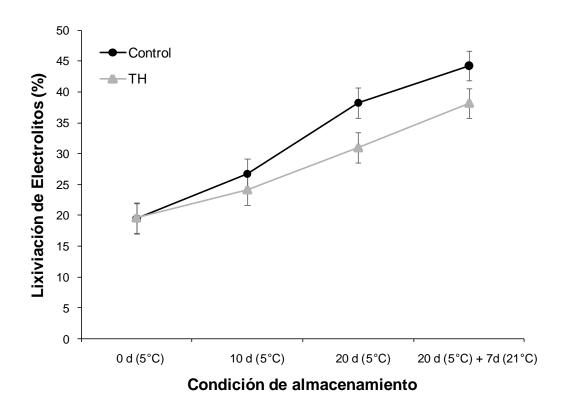
**Figura 10**. Cambios en firmeza de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y madurados por 7 días a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 2.4416 ( $\alpha$ =0.05).

Zhang y col (2012) trataron hidrotérmicamente (55°C por 10 min) frutos de mango cv. Tainong 1 previo a su almacenamiento a temperaturas de DF, observando un efecto significativo sobre el metabolismo de la pared celular que involucró el rompimiento de pectinas por la acción de las enzimas como poligalacturonasa (PG), pectin metilesterasa (PME) y  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -gal), pero sin detectar diferencias significativas entre los frutos tratados y no tratados durante el almacenamiento en frío.

# C CAMBIOS EN PARÁMETROS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS CON ESTRÉS POR BAJA TEMPERATURA Y TOLERANCIA INDUCIDA AL DAÑO POR FRÍO

#### 1 Lixiviación de electrolitos

La lixiviación de electrolitos se ha utilizado como un indicador del daño ocasionado a la membrana del fruto durante el almacenamiento en frío y el periodo de maduración. No se observaron diferencias significativas entre frutos con TH y control durante los primeros 10 días de almacenamiento en frío (**Figura 11**). Sin embargo, después de 20 días a 5°C se observó un aumento en la lixiviación en ambos tratamientos, siendo significativamente mayor en los frutos control. Resultados similares fueron reportados previamente por López-López y col (2018) en mango cv. Keitt sometido a un TH y un posterior almacenamiento a temperaturas de DF.



**Figura 11**. Lixiviación de electrolitos en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y control almacenados a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 2.4416 ( $\alpha$ =0.05).

Esto puede deberse a que el estrés por frío afecta la integridad de las membranas y aumenta la permeabilidad de las mismas en los frutos de mango permitiendo una mayor fuga de electrolitos.

Zhao y col (2009) midieron la lixiviación de electrolitos en tomate durante su almacenamiento a 2 °C, encontrando que la pérdida de electrolitos aumentó conforme se extendía el periodo de almacenamiento a temperatura baja. Malacrida y col (2006) reportaron la misma tendencia en la lixiviación de electrolitos en tomate cv. Micro-Tom almacenado a temperaturas de DF. Zhang y col (2017) reportaron un aumento en la lixiviación de electrolitos en frutos de mango cv. Guifei sometidos a temperaturas de DF con respecto a frutos control a temperatura ambiente.

Mirdehghan y col (2007) evidenciaron la reducción de los síntomas de daño por frío inducida por un tratamiento hidrotérmico en granada (*P. granatum* L. cv. Mollar de Elche), encontrando una alta correlación entre las lesiones del pericarpio y la lixiviación de electrolitos, lo que sugiere que el tratamiento hidrotérmico podría estar manteniendo la integridad de la membrana. Los autores también encontraron cambios en la composición lipídica de la membrana durante el almacenamiento habiendo una pérdida significativa de lípidos saturados e insaturados en los frutos que no fueron tratados, mientras que en los frutos con TH los cambios fueron menores.

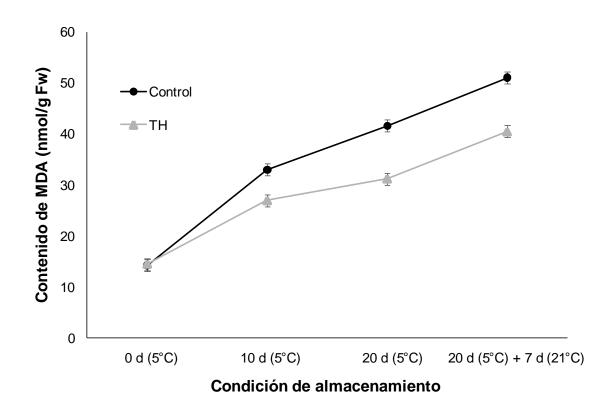
# 2 Contenido de malondialdehído (MDA)

El estrés por frío da lugar a una sobreproducción y desbalance de especies reactivas de oxígeno (EROs) responsables de la oxidación de los lípidos de membrana (Miller y col 2008), dando como resultado un aumento en la formación de

MDA, el cual sirve como un indicador del grado de daño a las membranas celulares. En la **Figura 12** se muestra el contenido de MDA en frutos con TH y control durante su almacenamiento en frío y posterior maduración. La diferencia entre la peroxidación de lípidos fue evidente después de 10 días a 5 °C en donde los frutos control presentaron valores significativamente mayores y cuya tendencia se mantuvo por el resto del almacenamiento en frío y maduración.

Estos resultados son consistentes con lo obtenido para el parámetro de lixiviación de electrolitos, en donde los frutos control presentaron valores más altos lo que evidencia que el tratamiento hidrotérmico reduce la peroxidación de lípidos de membrana manteniendo su integridad y generando un efecto benéfico para el fruto brindando una mayor tolerancia al frío.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Zhang y col (2017) en frutos de mango cv. Guifei, en donde observaron que los frutos control presentaron valores más altos en contenido de MDA que los frutos tratados con un acondicionamiento a temperaturas de 12 °C previo al almacenamiento a temperatura de daño, evidenciando un mayor daño en la membrana de los frutos no tratados. En un estudio reciente con frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente y almacenados a temperaturas de DF se reportó un menor contenido de MDA, lo cual se relacionó con un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes como SOD, APX y CAT, las cuáles podrían estar reduciendo las especies reactivas de oxígeno e impidiendo su interacción con los lípidos de membrana (López-López y col 2018).



**Figura 12**. Contenido de malondialdehído en frutos de mango con TH y control almacenados a 5°C y después de un periodo de maduración a 21°C. Las barras verticales indican LSD= 2.4416 ( $\alpha$ =0.05).

Los resultados del presente estudio confirman que la aplicación de un TH cuarentenario en frutos de mango cv. Keitt causa un efecto protector sobre el desarrollo del DF evidenciado por menores valores de lixiviación de electrolitos, contenido de MDA y menor incidencia de síntomas visuales en el fruto.

# D CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON ESTRÉS POR BAJA TEMPERATURA Y TOLERANCIA INDUCIDA AL DAÑO POR FRÍO

En un análisis proteómico comparativo realizado entre frutos de mango cv Keitt tratados hidrotérmicamente (46.1°C/ 90-110 min) y sin tratar (control) almacenados a temperatura baja se relacionó la tolerancia al DF con una mayor acumulación de proteínas de estrés térmico, defensa, sistema antioxidante, así como proteínas involucradas en el desarrollo y maduración del fruto (Chairez-Vega, 2018). Con la finalidad de comprender de mejor manera los mecanismos moleculares relacionados con la tolerancia al DF inducida por la aplicación de TH en mango, en el presente estudio se evaluó la expresión transcripcional de genes relacionados con respuesta al estrés (*HSP 17.6, CBF-1*), desarrollo y maduración (*PSD, PL y PAL*), patogénesis (*CHI y β-1,3 GLU*), sistema antioxidante (*SOD, POX y CAT*), y respiración (*UbOx*). La expresión fue evaluada después de 20 días de almacenamiento a 5°C y después de 20 días a 5°C más 7 días de maduración a 21°C.

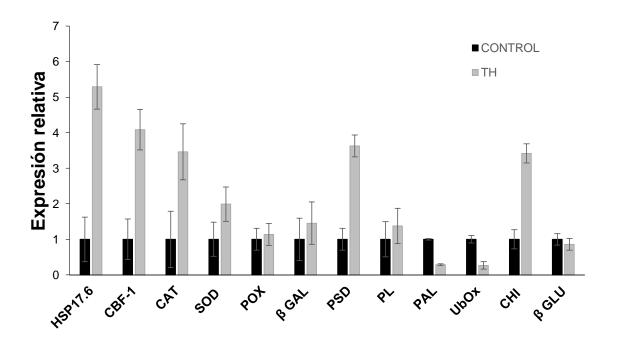
#### 1 Genes relacionados con respuesta al estrés

#### a Proteína de choque térmico 17.6 kDa (Hsp 17.6)

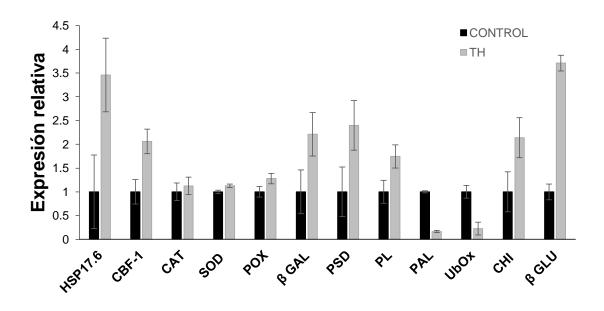
El gen *Hsp17.6*, codifica para una proteína de choque térmico citosólica de bajo peso molecular y como era de esperarse su expresión fue significativamente (P<0.05) mayor en los frutos sometidos al TH con respecto a los no tratados (**Figuras 13 y 14**). Estos resultados coinciden con la mayor acumulación de proteínas de choque térmico de bajo peso molecular (sHSP 16.7) reportada previamente en los frutos tratados hidrotérmicamente (46.1°C, 90 min) utilizados en el presente estudio (Chairez-Vega 2018).

Diversos estudios han reportado que temperaturas moderadamente altas inducen la expresión génica y síntesis de proteínas de choque térmico de bajo peso molecular en diversos frutos climatéricos (Sabehat y col 1998; Lara y col 2009). Zhu y col (2003) observaron una mayor tolerancia al DF en frutos de mango sometidos a tratamientos térmicos con agua caliente (55°C/3-5 min) y aire caliente (38°C/12h), lo cual propusieron podría estar relacionado con una mayor acumulación de proteínas de bajo peso molecular dentro de las cuales podrían encontrarse proteínas de choque térmico.

Ding y col (2001) encontraron una mayor expresión de genes que codifican para proteínas de choque térmico de bajo peso molecular (sHSP 17.7, sHSP 17.6) y alto peso molecular (sHSP 70-1, sHSP 70-3) en frutos de tomate tratados con metil jasmonato, metil cilato y tratados térmicamente (38°C/ 2 días) durante su almacenamiento en frío (5°C), observando una correlación entre la expresión del gen



**Figura 13.** Expresión relativa de genes relacionados con susceptibilidad y tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt con y sin tratamiento hidrotérmico almacenados por 20 días a 5 °C. La expresión de los genes se calculó utilizando al gen *ACT* como control y tomando como referencia el fruto sin TH, cuyo nivel de expresión tomó el valor de 1. Las barras indican los LSD de cada gen y donde no se traslapan indican diferencias significativas (p ≤ 0.05) entre los tratamientos. *HSP17.6* (LSD= 1.2503); *CBF-1* (LSD= 1.1413); *CAT* (LSD= 1.5819); *SOD* (LSD= 0.9626); *POX* (LSD= 0.6164); β *GAL* (LSD= 1.1952); *PSD* (LSD= 0.6150); *PL* (LSD= 0.9881); *PAL* (LSD= 0.0481); *UbOx* (LSD= 0.2098); *CHI* (LSD= 0.5408), β *GLU* (LSD= 0.3258).



**Figura 14.** Expresión relativa de genes relacionados con susceptibilidad y tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt con y sin tratamiento hidrotérmico almacenados por 20 días a 5 °C más 7 días a 21 °C. La expresión de los genes se calculó utilizando al gen *ACT* como control y tomando como referencia el fruto sin TH, cuyo nivel de expresión tomó el valor de 1. Las barras indican los LSD de cada gen y donde no se traslapan indican diferencias significativas (p ≤ 0.05) entre los tratamientos. *HSP17.6* (LSD= 1.5447); *CBF-1* (LSD= 0.5127); *CAT* (LSD= 0.3673); *SOD* (LSD= 0.0728); *POX* (LSD= 0.2226); β *GAL* (LSD= 0.9166); *PSD* (LSD= 1.0436); *PL* (LSD= 0.4862); *PAL* (LSD= 0.0417); *UbOx* (LSD= 0.2673); *CHI* (LSD= 0.8439); β *GLU* (LSD= 0.3300).

que codifica para sHSP 17.6 con la tolerancia inducida al DF mediante los tratamientos aplicados.

La expresión génica observada para *Hsp17.6* en el presente estudio, así como la mayor acumulación de proteínas reportada por Chairez-Vega (2018) sugiere que las proteínas de choque térmico podrían estar contribuyendo a la mitigación al DF y a la maduración normal del fruto.

#### b CBF-1

El gen *CBF-1* mostró una expresión significativamente mayor en frutos tratados hidrotérmicamente respecto a los frutos control después de 20 días de almacenamiento a 5°C (**Figura 13**), lo cual se mantuvo después del periodo de maduración (**Figura 14**).

CBF-1 es un factor transcripcional que está constituido por los elementos CRT/DRE, en donde CRT constituye el factor de unión del dominio repetido C, mientras que DRE es un elemento de respuesta a deshidratación. El factor CBF fue primeramente identificado en semillas como *Arabidopsis*, en donde los productos transcripcionales reconocen el dominio repetido C de genes reguladores del frío (COR, cold-regulated genes) (Kanaya y col 1999). La sobreexpresión de este gen de *Arabidopsis* en tomate resultó en una mayor tolerancia al frío y menor estrés oxidativo en el fruto (Hsieh y col 2002).

Zhao y col (2009) analizaron la expresión transcripcional del gen *LeCBF1* y su relación con parámetros fisiológicos asociados con DF (MDA, EL y contenido de prolina) en dos frutos de tomate contrastantes en la tolerancia al frío, *Solanum* 

*lycopersicum* cv. Lichium (Sensible) y *Solanum lycopersicum* cv. Santiam (tolerante), encontrando una correlación inversa entre los niveles de expresión de *LeCBF1* y el DF (-0.9176, P<0.05).

Como se indicó previamente, en el presente estudio la expresión de *CBF-1* fue considerablemente mayor en frutos con TH durante el almacenamiento en frío (**Figura 13**), lo que sugiere que este gen puede estar jugando un papel muy importante en la tolerancia al DF inducida por el tratamiento térmico.

#### c Catalasa (CAT)

La expresión del gen CAT que codifica para la enzima catalasa fue significativamente (P<0.05) mayor en los frutos tratados hidrotérmicamente respecto a los frutos control al término del almacenamiento en frío (20 d a 5°C) (**Figura 13**), lo cual podría relacionarse con una mayor capacidad de eliminar el exceso de  $H_2O_2$  producido durante el estrés por frío. El peróxido de hidrógeno se produce durante muchos procesos celulares y se sintetiza como un subproducto de la fotorrespiración,  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y también como consecuencia del estrés biótico y abiótico (Moller 2001). Se ha reportado que el DF está mediado, en parte, por las especies reactivas de oxígeno (EROs) como agentes que causan una lesión tisular secundaria (Raison y Lyons 1986). Kerdnaimongol y Woodson (1999) evaluaron la importancia de la enzima antioxidante catalasa en la eliminación de EROs producidas durante el DF en tomate transgénico, mediante la supresión del gen que codifica para esta enzima (*CAT1*) utilizando la tecnología de RNA antisentido. Los resultados mostraron una mayor sensibilidad al  $H_2O_2$  por parte de las plantas de

tomate en la que se suprimió el gen *CAT1* en comparación con las plantas control (sin reprimir el gen *CAT1*). La actividad de la enzima fue tan importante que las plantas genéticamente modificadas no sobrevivieron a la exposición a temperaturas bajas.

Los resultados del presente estudio corresponden con lo reportado por López-López y col (2018) en el mismo cultivar de mango (Keitt) donde se encontró una mayor actividad de catalasa en los frutos con TH después de 20 días a 5°C y una disminución de la actividad de dicha enzima cuando los frutos fueron transferidos a temperaturas de maduración (21°C). Un comportamiento opuesto fue observado por Yimyong y col (2011) en mango cv. Okrong, donde la actividad de la enzima catalasa mantuvo valores bajos durante el periodo de almacenamiento a temperaturas de daño por frío, tanto en los frutos con TH (55°C/10 min) como en los frutos control, mientras que al transferir los frutos a temperatura de maduración se observó un aumento en la actividad de esta enzima, aunque no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Las discrepancias observadas pudieran deberse a que el TH aplicado en el presente estudio y por Lopez-Lopez y col (2018) fue de 46.1°C por 90-110 min, pudiendo así propiciar un aumento en la expresión y actividad de enzimas antioxidantes ante la mayor duración del estrés térmico.

## d Superóxido dismutasa (SOD)

SOD cataliza la conversión de los radicales superóxido a peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular, por lo que es clave en la detoxificación de las especies reactivas de oxígeno (EROs) (Gómez y col 2009). La expresión del gen que

codifica para esta enzima fue significativamente mayor en frutos con TH con respecto a los frutos control después de los 20 días de almacenamiento a baja temperatura (Figura 13) y posterior periodo de maduración (Figuras 14). El incremento en la expresión de *SOD* pudo ser de gran importancia para la eliminación de las especies reactivas de oxígeno producidas por el estrés por frío ya que una mejor respuesta del sistema antioxidante reduce la cantidad de compuestos tóxicos, la peroxidación de lípidos de membrana y lixiviación de electrolitos, ayudando a mantener la homeóstasis celular y la integridad de la membrana celular del fruto, lo cual coincide con los resultados obtenidos para MDA y la menor incidencia al daño por frío en los frutos TH con respecto al control durante el almacenamiento a 5°C.

Yimyong y col (2011) también observaron un incremento en la expresión transcripcional del gen *SOD* durante el almacenamiento a 8 y 12°C en frutos de mango cv. Okrong tratados hidrotérmicamente. López-López y col (2018) reportaron un incremento en la actividad enzimática de SOD en mangos cv Keitt tratados hidrotérmicamente (46.1 °C/75-90 min) durante el almacenamiento en frío. En ambos estudios el aumento en la expresión y actividad de SOD se asoció con una mayor tolerancia y menor incidencia de síntomas de DF en los frutos tratados térmicamente respecto a los no tratados.

## e Peroxidasa (*POX*)

La enzima peroxidasa cataliza reacciones redox utilizando al peróxido como oxidante y un segundo sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido, oxidando a varias sustancias orgánicas e inorgánicas (Prasad y col 1995). No se observaron diferencias significativas en los niveles de expresión del gen que

codifica para esta enzima (*POX*) entre frutos con TH y frutos control al final del periodo de almacenamiento a 5 °C (**Figura 13**). Sin embargo, después de transferir los frutos a temperatura de maduración (21°C) por 7 días la expresión de *POX* fue significativamente mayor en frutos con TH con respecto a los frutos control (**Figura 14**), lo cual corresponde con la importancia de la peroxidasa como una enzima reguladora clave en el proceso de maduración (Matto y Modi 1975), coincidiendo a su vez con la coloración más uniforme observada en los frutos tratados hidrotérmicamente al final del almacenamiento.

Se cree que las peroxidasas en plantas están involucradas en muchos procesos fisiológicos y biológicos, que incluyen la unión de moléculas a la pared celular, oxidación de auxinas, oxidación de alcohol cinamílico antes de su polimerización durante la formación de lignina y suberina, y el estrés biótico y abiótico (Kawano 2003). El incremento en la resistencia de plantas aclimatadas a las temperaturas bajas se ha relacionado previamente con el aumento en la actividad de POX (Prasad y col 1994; Kang y Saltveit 2002; Li y col 2011). La mayor expresión de POX en frutos con TH pudo contribuir a mantener un balance adecuado entre las especies reactivas de oxígeno y los antioxidantes ayudando a mantener la estabilidad de la membrana celular y así un menor desarrollo de síntomas de DF.

# 2 Genes relacionados con procesos de desarrollo y maduración del fruto a β-galactosidasa (β GAL)

La enzima β-galactosidasa cataliza la hidrólisis de galactósidos a monosacáridos; el ácido D-galacturónico es el componente principal de las pectinas

presentes en la lámina media y pared celular primaria de células vegetales, por lo que la actividad enzimática de β-Gal junto con el de otras proteínas como pectin metil esterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) son cruciales para que se lleven a cabo las modificaciones de la pared celular relacionadas con cambios en textura en frutos (Brummell y Harpster 2001).

En la Figura 13 se puede observar que después de 20 días de almacenamiento a 5°C no hubo diferencia significativa (P<0.05) en la expresión de  $\beta$ -GAL entre los frutos tratados hidrotérmicamente y los frutos control, mientras que después de la etapa de maduración a 21°C (Figura 14) se observó un aumento en la expresión de este gen en los frutos con TH. Zhang y col (2012), reportaron un comportamiento similar al evaluar la actividad enzimática de β-Galactosidasa en frutos de mango cv. Tainong 1 tratados hidrotérmicamente (55°C, 10 min) previo al almacenamiento a 5 °C y posterior maduración a 20 °C, encontrando que los frutos tratados no mostraron diferencias significativas en la actividad de esta enzima después del almacenamiento frío, pero dicha actividad aumentó considerablemente cuando los frutos fueron expuestos a 20°C sin cambios significativos en la firmeza del fruto entre frutos tratados y control.

Dautt-Castro y col (2018) evaluaron el efecto del TH sobre la expresión de genes relacionados con el desarrollo y maduración en el mesocarpio de mango Ataulfo, encontrando que el TH indujo una mayor expresión de  $\beta$ -GAL en los frutos tratados a los pocos días posteriores a su aplicación, con una mayor actividad de la enzima  $\beta$  galactosidasa en frutos tratados hidrotérmicamente al final del periodo de

maduración. Estos niveles de expresión se relacionaron con una mayor pérdida de firmeza debida a la degradación de los componentes de la pared celular.

#### b Fitoeno desaturasa (*PSD*)

El fruto de mango inicialmente es de color verde y conforme avanza la maduración cambia a amarillo, naranja o rojo dependiendo de la variedad, lo cual se debe a la degradación de clorofila y posterior síntesis de carotenoides. En mango cv. Keitt los principales pigmentos responsables de la coloración amarilla son los carotenoides (Singh y col 2013). En la ruta de carotenogénesis el fitoeno es la primera molécula que se produce a partir de la condensación de dos moléculas de geranil-geranil pirofosfato por acción de la enzima fitoeno sintasa. El paso de fitoeno a licopeno implica la acción sucesiva de dos desaturasas: fitoeno desaturasa (PDS) y caroteno desaturasa (ZDS), que introducen dobles enlaces conjugados en el esqueleto carbonado del fitoeno (Ye y col 2000).

La expresión del gen *PDS* que codifica para la enzima fitoeno desaturasa fue significativamente mayor (p<0.05) en frutos tratados hidrotérmicamente con respecto los frutos control después de 20 días de almacenamiento a 5°C (**Figura 13**) y posterior periodo de maduración (21°C) por 7 días (**Figura 14**). Chairez-Vega (2018) observó una mayor acumulación de la enzima fitoeno desaturasa en frutos con TH con respecto a los control bajo las mismas condiciones evaluadas en el presente estudio.

Uno de los principales síntomas de DF es la coloración no uniforme, lo cual puede atribuirse a una menor acumulación de carotenoides como fue reportado por

Talcott y col (2005) en frutos de mango cv. Tommy Atkins almacenados por 8 d a 5°C previo a un periodo de maduración. Medlicott y col (1990) reportaron el mismo efecto en el mismo cultivar almacenado a 12°C por 16 días, observando una reducción del 70% en carotenoides comparado con frutos no dañados. Por otro lado, dentro de las respuestas generadas por el tratamiento hidrotérmico en mango se encuentra la acumulación de carotenoides responsables del típico color naranja del fruto (Talcott y col 2005). La expresión génica observada en el presente estudio, así como la mayor acumulación de fitoeno desaturasa reportada por Chairez-Vega (2018) en frutos de mango cv Keitt sugiere que la aplicación de un tratamiento hidrotérmico favorece la síntesis de carotenoides, lo cual induce al desarrollo de una coloración más uniforme después de un periodo de maduración en comparación con los frutos control (Figura 9).

## c Pectato liasa (PL)

La enzima pectato liasa (PL) se encarga de romper enlaces α-1,4-glicosídicos por β-eliminación, produciendo dobles enlaces entre los carbonos 4 y 5 de la molécula de ácido D-galacturónico (Willats 2001). La expresión del gen que codifica para esta enzima (*PL*) no mostró diferencias significativas entre los frutos tratados hidrotérmicamente y los frutos control después de 20 días de almacenamiento a 5°C (**Figura 13**), pero después de que los frutos fueron madurados por 7 días a 21 °C, la expresión de este gen fue significativamente mayor (P<0.05) en los frutos tratados con respecto al control (**Figura 14**). Esto sugiere que la disminución del metabolismo de la pared a la baja temperatura no permitió observar diferencias de expresión entre

los frutos con TH y control, pero una vez que fueron transferidos a temperaturas altas, el proceso de maduración pudo llevarse de mejor manera en frutos tratados, resultando en una mayor expresión del gen *PL*.

Un estudio realizado en frutos de mango cv. Dashehari mostró que la enzima PL es la principal responsable de la pérdida de firmeza, y se relacionó con un incremento en los niveles de transcrito de un homólogo del gen PL durante la maduración (Chourasia 2006). Otro de los estudios realizados en mango con respecto al ablandamiento y la enzima PL es el realizado por Yimyong y col (2011) quienes observaron que un TH (10 min, 50 °C) incrementó los niveles de transcritos para las enzimas pectato liasa,  $\beta$ -galactosidasa, y  $\beta$ -1,3-glucanasa relacionadas con el mantenimiento de la pared celular, concluyendo que el tratamiento hidrotérmico extendía la vida de anaquel de frutos de mango cv. Okrong, ya que dichos frutos presentaron una mejor apariencia externa y menor grado de deshidratación después de su almacenamiento en frío (8 y 12 °C por 15 días) y maduración (5 días a 30°C).

Las enzimas pectato liasas también están involucradas en la activación de los mecanismos de defensa de la planta mediante la liberación de oligogalacturónidos de la pared celular que funcionan como elicitores de defensa (De Lorenzo y col 1991). Un estudio sobre *PL* en plátano demostró que la expresión de este gen es inducida por el incremento de etileno al inicio de la maduración en estos frutos (Dominguez-Puigjaner 1997).

## d Fenilalanina amonio liasa (PAL)

La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima

está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos.

La expresión del gen PAL fue significativamente (P<0.05) mayor en los frutos sin tratamiento hidrotérmico (control) respecto a los tratados después de 20 días de almacenamiento a 5°C (Figura 13) y después del periodo posterior de maduración (21°C) (Figura 14). En estudios previos se ha reportado que la actividad de PAL en frutos de mango aumenta con la exposición a bajas temperaturas tanto en pulpa como cáscara y ha sido correlacionada con el DF y en particular con el oscurecimiento de lenticelas (Chidtragool y col 2011). De manera similar, Sivankalyani y col (2016) reportaron un incremento en la acumulación de compuestos fenólicos y lignina en la pared y vacuola de células cercanas a lenticelas en mangos que presentaban picaduras como resultado del estrés por frío. El proceso de lignificación es considerado una de las respuestas del estrés abiótico y de la senescencia natural (Kamdee y col 2014), y ha sido observado en ciertas plantas sensibles al frío como el mangostán (Choehmon y col 2003) y la pera (Lu y col 2015). En otro estudio realizado en plátano se encontró una correlación entre algunos de los síntomas de DF y la actividad de la enzima PAL (Nguyen y col 2003). Los niveles de transcritos encontrados en el presente estudio para la enzima PAL concuerdan con los resultados de los síntomas de índice de daño por frío en donde los frutos control tuvieron los valores más altos, lo cual sugiere un papel importante de esta enzima durante el proceso de DF.

#### 3 Genes relacionados con respiración y fotosíntesis

#### a Ubiquinol Oxidasa (*UbOx*)

La ubiquinol oxidasa (UbOx), también llamada oxidasa alternativa (AOX), forma parte de una cadena respiratoria alternativa que emplean las plantas para el transporte de electrones de los sustratos hasta el oxígeno bajo ciertas condiciones. El estrés por frío es una de las condiciones en las que se esperaría que el gen de UbOX aumentara su expresión para ayudar a mantener la temperatura en el fruto. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el gen UbOx se expresó diferencialmente después del almacenamiento de los frutos a bajas temperaturas y después de su maduración (21°C), mostrando una mayor expresión en los frutos que no fueron tratados hidrotérmicamente (control) con respecto a los frutos con TH (Figuras 13 y 14). Ubiquinol oxidasa es una enzima de membrana interfacial orientada hacia el lado de la matriz de la membrana mitocondrial interna uniendo la oxidación de ubiquinol a la reducción de cuatro electrones de O<sub>2</sub> a agua, lo cual reduce dramáticamente el rendimiento de energía (ATP) de respiración ya que no está bombeando protones, y los electrones que fluyen a UbOx evitan los complejos III y IV que son bombeadores de protones (Vanlerberghe 2013).

Estos resultados coinciden con lo encontrado por distintos autores en varias especies en donde demuestran que existe un incremento de la expresión de UbOx después de que los tejidos son transferidos a temperaturas bajas (Purvis y Shewfelt 1993; Taylor y col 2006; Umbach y col 2009; Wang y col 2011). Wang y col (2011) realizaron un estudio en *Nicotiana tabacum* y sugirieron que en condiciones de estrés

la falta de UbOx mejora una vía de señalización del estrés mitocondrial capaz de aumentar la capacidad de eliminación de EROs de la célula.

Los niveles altos de expresión en frutos sin tratamiento hidrotérmico indican que el estrés generado por la disminución de temperatura de almacenamiento propició una ruta alterna de respiración para ayudar a mantener su estabilidad, al mismo tiempo que ejerció un efecto negativo en la eliminación de las EROs favoreciendo la aparición de síntomas de DF reflejado en un mayor deterioro de la membrana celular de los frutos control con respecto a los TH.

#### 4 Genes relacionados con patogénesis

La susceptibilidad del mango a desarrollar enfermedades poscosecha aumenta durante el almacenamiento como resultado de cambios fisiológicos asociados a la senescencia que favorecen el ataque de microorganismos patógenos (Prusky 1996). Una de las principales enfermedades en mango es la antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Deng y col 1999). Dentro de las distintas estrategias de control de enfermedades poscosecha en mango se encuentran las atmósferas controladas, la refrigeración y el uso de fungicidas, así como el tratamiento hidrotérmico.

## a β 1,3- glucanasa (β *GLU*)

La β 1,3-glucanasa es un enzima hidrolítica que existe en numerosas isoformas con diferentes actividades enzimáticas, propiedades físicas y localización dentro de la células de las plantas. Se ha demostrado la participación de esta enzima

en la defensa contra patógenos en algunos cítricos (Fajardo y col 1998, Porat y col 2002).

La expresión del gen  $\beta$  *GLU* no mostró diferencias significativas (P<0.05) entre frutos control y con TH después de 20 días de almacenamiento a 5°C (**Figura 14**), pero después del periodo de maduración sus niveles de transcritos fueron significativamente más altos en frutos tratados que en los no tratados (**Figura 14**). Zhu y col (2008) estudiaron la aplicación de un tratamiento poscosecha en mango cv. Tainong con la finalidad de evaluar su eficiencia para evitar el desarrollo de la antracnosis, encontrando un aumento en la actividad de las enzimas  $\beta$  1,3-glucanasa y quitinasa, lo cual relacionaron directamente con una menor incidencia de la enfermedad. En otro estudio realizado con mandarinas se encontró un aumento significativo en la expresión del gen que codifica para la enzima  $\beta$  1,3- glucanasa durante el almacenamiento en frío, contribuyendo a reducir el DF (Sánchez-Ballesta y col 2006). Todos estos resultados involucran a la enzima  $\beta$  1,3- glucanasa como uno de los mecanismos de defensa del mango para contrarrestar los efectos de la exposición a bajas temperaturas.

#### b Quitinasa (CHI)

Otro de los genes involucrados en la resistencia a patógenos en las plantas es la quitinasa (CHI). La actividad de quitinasa va dirigida hacia la quitina como un componente importante de la pared celular de los hongos (Mauch 1988).

En las **Figuras 13** y **14** se puede observar que hubo una mayor (P<0.05) expresión del gen CHI para los frutos tratados hidrotérmicamente tanto al final del

almacenamiento en frío (5°C) como después del periodo de maduración (21°C). Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Zhu y col (2008) en frutos de mango cv. Tainong, donde reportaron un incremento en la actividad de la enzima quitinasa en conjunto con  $\beta$ -1,3 glucanasa ayudando a disminuir el ataque de patógenos. En otro estudio en frutos de tomate almacenados a temperaturas de DF se indujo la expresión de genes relacionados con patogénesis por medio de un elicitor, concluyendo que al aumentar el número de transcritos de quitinasa y  $\beta$ -1,3 glucanasa disminuyeron los síntomas del DF (Ding y col 2002).

#### **VIII CONCLUSIONES**

- La efectividad del tratamiento hidrotérmico (TH) para inducir tolerancia al DF en frutos de mango se evidenció en menor IDF, menor fuga de electrolitos y menor peroxidación de lípidos.
- El TH indujo una mayor expresión de los genes que codifican para una proteína pequeña de choque térmico (HSP 17.6) y para un factor de unión al elemento sensible a la deshidratación (CBF-1), los cuales podrían estar contribuyendo a la adquisición de la tolerancia al DF manteniendo el funcionamiento correcto de las proteínas y evitando su agregación o desnaturalización.
- La expresión de genes de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa) fue mayor en frutos con TH que en los frutos control, lo que sugiere que son muy importantes para contrarrestar el estrés oxidativo y proporcionar tolerancia a bajas temperaturas en los frutos de mango.
- Se observó una mayor expresión del gen para la enzima fitoeno desaturasa (PSD) después del almacenamiento en frío y la maduración en los frutos tratados hidrotérmicamente, lo cual podría favorecer una mayor síntesis de carotenoides y coloración más uniforme durante la maduración de frutos expuestos al estrés por frío.
- Los resultados sugieren que la tolerancia al DF inducida por el TH está asociada con una mayor protección de las proteínas ante el estrés por frío, una mayor actividad del sistema antioxidante y de protección contra patógenos, favoreciendo un mejor desarrollo y maduración del fruto con menor incidencia de síntomas de daño con respecto a frutos no tratados.

# IX BIBLIOGRAFÍA

- Abu-Kpawoh JC, Xi YF, Zhang YZ, Jin YF. 2002. Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in Friar' plum fruit. Journal of Food Science 67(7):2649–2653
- Baker SS, Wilhelm KS, Thomashow MF. 1994. The 5'-region of Arabidopsis thaliana cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression. Plant Molecular Biology 24:701–713.
- Ben-Amotz A, Fishler R. 1998. Analysis of carotenoids with emphasis on 9-cis-β-carotene in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. Food Chemistry 62:515-520.
- Brummell DA, Harpster MH. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. Plant Molecular Biology 47: 311–340.
- Brummell DA. 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit. Functional Plant Biology 33:103-119.
- Cano MP, De Ancos B. 1994. Carotenoid and carotenoid ester composition in mango fruit as influenced by processing method. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42:2737-2742.
- Cantre D, Herremans E, Verboven P, Ampofo-Asiama J, Hertog MLATM, Nicolaï BM. 2017. Tissue breakdown of mango (*Mangifera indica* L. cv. Carabao) due to chilling injury. Postharvest Biology and Technology 125:99–111.
- Cartagena JR, Vega D. 1992. El mango. Manual de asistencia técnica. Colombia: Fruticultura Colombiana 53-69.
- Chairez-Vega D. 2018. Identificación de proteínas asociadas con tolerancia inducida al daño por frío en frutos de mango cv Keitt tratados hidrotérmicamente. [Tesis de Maestría]. Culiacán, México: Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. 112 p.
- Chang S, Puryear J, Cairney J. 1993. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. Plant Molecular Biology Reporter 11(2):113–116.
- Chidtragool S, Ketsa S, Bowen J, Ferguson JB, Can Doorn WG. 2011. Chilling injury in mango fruit peel: Cultivar differences are related to the activity of phenylalanine ammonia lyase. Postharvest Biology and Technology 62: 59–63.

- Choehom R, Ketsa S, Doorn WG. 2003. Chilling injury in mangosteen fruit. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78:559–562.
- Chourasia AR. 2006. Core level XPS spectra of silicon dioxide using zirconium and magnesium radiations. Surface Science Spectra 13: 48–57.
- Dautt-Castro M, Ochoa-Leyva A, Contreras-Vergara CA, Muhlia-Almazán A, Rivera-Domínguez M, Casas-Flores S, Martínez-Tellez MA, Sañudo-Barajas A, Osuna-Enciso T, Baez-Sañudo MA, Quiroz-Figueroa FR, Kuhn DV, Islas-Osuna MA. 2018. Mesocarp RNA-Seq analysis of mango (*Mangifera indica* L.) identify quarantine postharvest treatment effects on gene expression. Scientia Horticulturae 227:146-153.
- De Lorenzo G, Cervone F, Hahn MG, Darvill A, Albersheim P. 1991. Bacterial endopectate lyase: evidence that plant cell wall pH prevents tissue maceration and increases the half-life of elicitor-active oligogalacturonides. Physiology and Molecular Plant Pathology 39:335-344.
- Deng WL, Yang SY, Xiong DY, Li XP, Liang ZQ. 1999. Biological identification of mango *Colletotrichum gloeosporioides* in Guangxi. Acta Guangxi University 24:145–147.
- Ding CK, Wang C, Gross K, Smith D. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. Plant Science 161:1153-1159.
- Ding CK, Wang C, Gross K, Smith D. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. Planta 214(6):895–901.
- Dominguez-Puigjaner E, Llop I, Vendrell M, Prat S. 1997. A cDNA clone highly expressed in ripe banana fruit shows homology to pectate lyases. Plant Physiology 114: 1071–1076.
- Fajardo JE, McCollum TG, McDonald RE, Mayer RT. 1998. Differential induction of proteins in orange flavedo by biologically based elicitors and challenged by Penicillium digitatum sacc. Biological Control 3:43–151.
- Fallik E, Tuvia-Akalai S, Copel A, Wiseblum A, Regev R. 2001a. A short water rinse with brushing reduces postharvest losses. Acta Horticulturae 553:41-417.

- Fallik E, Tuvia-Akalai S, Copel A, Wiseblum A, Regev R. 2001b. Ripening characterization and decay development of stored apples after a short prestorage hot water rinsing and brushing. Innovative Food Science and Emerging Technology 2:127-132.
- FAOSTAT. 2018. Base de datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Disponible en: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx (Consultado el 31 de octubre de 2018.)
- Fernández-Trujillo JP, Martínez JA. 2006. Ultrastructure of the onset of chilling injury in cucumber fruit. Journal of Applied Botany and Food Quality 80:100-110.
- Fischer RL, Bennet AB. 1991. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 42: 675-703.
- González-Aguilar GA, Fortiz J, Cruz R, Báez R, Wang CY. 2000. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48:515-519.
- González-Aguilar GA, Wang CY, Buta JG. 2001. Methyl jasmonate reduces chilling symptoms and enhances colour development of 'Kent' mangoes. Journal of the Science of Food Agriculture 81:1244-1249.
- Haider S, Pal R. 2013. Integrated analysis of transcriptomic and proteomic data. Current Genomics 14, 91-110.
- Hatton TT. 1990. Reduction of chilling injury with temperature manipulation. Journal of the American Society for Horticultural Science 269-280.
- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. Planta 207:604-611.
- Hodges DM, Lester GE, Munro KD, Toivonen P. 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality: oxidative stress: postharvest fruits and vegetables. HortScience 39:924–929.
- Hong-xia W, Hui-min J, Ciao-wei M, Song-biao W, Quan-sheng Y, Wen-tian X, Yi-gan g Z, Zhong-shan G, Ru-lin Z. 2014. Transcriptome and proteomic analysis of mango (*Mangifera indica* Linn) fruits. Journal of Proteomics 19-30.

- Hsieh TH, Lee JT, Yang PT, Chiu LH, Charng YY, Wang YC, Chan MT. 2002. Heterology expression of the Arabidopsis C-repeat/dehydration response element-binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato. Plant Physiology 129:1086–1094.
- Jackman RL, Yada RY, Marangoni A, Parkin KL, Stanley DW. 1988. Chilling injury. A review of quality aspects. Journal of Food Quality 11:253-278.
- Jha S, Chopra S, Kingsly A. 2007. Modeling of color values for nondestructive evaluation of maturity of mango. Journal of Food Engineering 78(1): 22-26.
- John J, Subbarayan C, Cama HR. 1970. Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. Journal of Food Science 35:262-265.
- Kamdee C, Ketsa S, Van Doorn WG. 2009. Effect of heat treatment on ripening and early peel spotting in cv. Sucrier banana. Postharvest Biology and Technology 52(3):288–293
- Kanaya E, Nakajima N, Morikawa K, Okada K, Shimura Y. 1999. Characterization of the transcriptional activator CBF1 from Arabidopsis thaliana: evidence for cold denaturation in regions outside of the DNA binding domain. The Journal of Biological Chemistry 274:16068-16076.
- Kang HM, Saltveit ME. 2002. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles. Physiologia Plantarum 113:548–556.
- Kang HM, Zaitlen NA, Wade CM, Kirby A, Heckerman D, Daly MJ, Eskin E. 2008. Efficient control of population structure in model organism association mapping. Genetics 178: 1709–1723.
- Kappus H. 1985. Lipid peroxidation: mechanism, analysis, enzymology and biological relevance. En: Oxidative stress, Sies H (editor). London: Academic Press p. 273-310.
- Kasamo K, Kagita F, Yamanishi H, Sakaki T. 1992. Low temperature induced changes in the termotropic properties and fatty acid composition of plasma membrane and tonoplast of cultured rice (Oriza sativa L.). Plant and Cell Physiology 33:609-616.

- Kato M. 2004. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. Plant Physiology 134(2):824–837.
- Kawano T. 2003. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. Plant Cell Reports 21:829-837.
- Kerdnaimongol K, Woodson WR. 1999. Inhibition of catalase by antisense RNA increases susceptibility to oxidative stress and chilling injury in transgenic tomato plants. Journal of the American Society for Horticultural Science 124:330–336.
- Ketsa S, Chidtragool S, Klein JD, Lurie S. 1998. Effect of heat treatment on changes in softening, pectin substance and activities of polygalacturonase, pectinesterase and β-galactosidase of ripening mango. Plant Physiology 153:457-461.
- Ketsa S, Chidtragool S, Lurie S. 2000. Prestorage heat treatment and postharvest quality of mango fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science 35:247–249.
- Knight RJ, Schnell RJ. 1994. Mango introduction in Florida and the "Haden" cultivar's significance to the modern industry. Economic Botany 48(2):139-145.
- Kostermans AJ. 1993. The Mangoes: Their botany, nomenclature, horticulture and utilization. 1a ed. London: Elsevier. 250 p
- Krishnamurthy S, Subramanyam H. 1970. Respiratory climacteric and chemical changes in the mango fruits, Mangifera indica. Journal of the American Society for Horticultural Science 95(3):333-337.
- Lara MV, Borsani J, Budde CO, Lauxmann MA, Lombardo VA, Murray R, Andreo CS, Drincovich MF. 2009. Biochemical and proteomic analysis of Dixiland peach fruit (*Prunus Persica*) upon heat treatment. Journal of Experimental Botany 60:4315-4333.
- Ledger S. 1995. Quality more than what meets the eye. En: Proceedings of the Australian Mango 2000 Symposium. Townsville. Queensland Department of Primary Industries Marketing Seminar and Production Workshop Handbook. p 37-40.
- Li Q, Yu B, Gao Y, Dai AH, Bai JG. 2011. Cinnamic acid pretreatment mitigates chilling stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity. Journal of Plant Physiology 168: 927–934.

- López-López ME, López-Valenzuela JA, Delgado-Vargas F, López-Angulo G, Carrillo-López A, Ayón-Reyna LE, Vega-García MO. 2018. A Treatment Combining Hot Water with Calcium Lactate Improves the Chilling Injury Tolerance of Mango Fruit. HortScience 53(2):217–223.
- Lu G, Li Z, Zhang X, Wang R, Yang S. 2015. Expression analysis of lignin-associated genes in hard end pear (Pyrus pyrifolia Whangkeumbae) and its response to calcium chloride treatment conditions. Journal of Plant Growth Regulation 34:251–262.
- Luria N, Sela N, Yaari M, Feygenberg O, Kobiler I, Lers A. 2014. De-novo assembly of mango fruit peel transcriptome reveals mechanisms of mango response to hot water treatment. BMC Genomics 15:957.
- Lurie S, Laamin M, Lapsker M, Fallik E. 1997. Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruit. Effects on lipids, pericarp lesions and fungal growth. Physiology Plantarum 100:297-302.
- Lurie S. 1998. Postharvest heat treatments of horticulture crops. Horticultural Reviews 22: 91-121.
- Lurie S, Pedreschi R. 2014. Fundamental aspects of postharvest heat treatments. Horticulture Research 1(1):14030 .
- Lyons JM. 1973. Chilling Injury in Plants. Annual Review of Plant Physiology 24:445-466.
- Malacrida C, Valle EM, Boggio SB. 2006. Postharvest chilling induces oxidative stress response in the dwarf tomato cultivar Micro-Tom. Physiologia Plantarum 127:10-18.
- Matheyambath AC, Subramanian J, Paliyath G. 2016. Mangoes. En: Encyclopedia of Food and Health, University of Guelph, Guelph, Canada. p 641-645
- Matto AK, Modi VV. 1975. Palmitic acid activation of peroxidase and its possible significance in mango ripening. Biochimica et Biophysica Acta 397:318-330.
- Mauch F, Hadwiger LA, Boller T. 1988. Antifungal hydrolases in pea tissue: I. purification and characterization of two chitinases and two -1,3-glucanases differentially regulated during development and in response to fungal infection. Plant Physiology 87(2):325–333.

- McDonald. 1994. Postharvest technology of tropical horticultural commodities: Introduction to the colloquium. HortScience 29:974-996.
- McDonald RE, McCollum TG, Baldwin EA. 1999. Temperature of water heat treatments influences tomato fruit quality following low-temperature storage. Postharvest Biology and Technology 16:147-155.
- Medlicott AP, Reynolds SB, Thompson AK. 1986. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). Journal of the Science of Food and Agriculture 37:469-74.
- Medlicott AP, Sigrist JMM, Sy O. 1990. Ripening of mangoes following low temperature storage. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115:430-434.
- Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. 1998. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46:128-130.
- Miller G, Shulaev V, Mittler R. 2008. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. Physiologia Plantarum 133:481–489.
- Mirdehghan SH, Rahemi M, Martínez-Romero D, Guillén F. Valverde JM, Zapata PJ, Serrano M, Valero D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. Postharvest Biology and Technology 44: 19-25.
- Miura K, Shiba H, Ohta M, Kang SW, Sato A, Yuasa T, Iwaya-Inoue M, Kamada H, Ezura H. 2012. *SIICE1* encoding a MYC-type transcription factor controls cold tolerance in tomato, *Solanum lycopersicum*. Plant Biotechnology 29:253-260.
- Moller IM. 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. Annual Reviews of Plant Physiology 52:561–91.
- Monroy AF, Dhindsa RS. 1995. Low temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of Alfalfa by calcium at 25°C. Plant Cell 7:321-331.
- Monroy AF, Sarhan F, Dhindsa RS. 1993. Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression: Evidence for a role of calcium. Plant Physiology 102:1227-1235.

- Montalvo E, Garcia HS, Tovar B, Mata M. 2007. Application of exogenous ethylene on postharvest ripening of refrigerated 'Ataulfo' Mangoes. Food Science and Technology 40(1): 466-472.
- Nguyen TBT, Ketsa S, Van Doorn WG. 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lysase in banana peel during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology.30:187–193.
- Nindo CI, Tang J. 2007. Refractance window dehydration technology: A novel contact drying method. Drying Technology 25: 37-48.
- Ornelas J, Yahia E, Gardea A. 2008. Changes in external and internal color during postharvest ripening of "Manila" and "Ataulfo" mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography-APcI+-time-of-flight mass spectrometry. Postharvest Biology and Technology 50 (3):145-152.
- Popenoe W. 1974. Manual of tropical and subtropical fruits, McMillan, New york. 474 p.
- Porat R, McCollum TG, Vinokur R, Droby S. 2002. Effects of various elicitors on the transcription of a β-1,3-glucanase gene in citrus fruits. The Journal of Phytopathology 150:70–75.
- Prasad TK, Anderson MD, Stewart CR. 1995. Localization and characterization of peroxidases in the mitochondria of chilling acclimated maize seedlings. Plant Physiology 108: 1597-1605.
- Prusky D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest diseases. Annual Review of Phytopathology 34:413–434.
- Purvis AC, Shewfelt RJ. 1993. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues?. Plant Physiology 88:712–8.
- Raison JK, Lyons JM. 1986. Chilling injury: a plea for uniform terminology. Plant, Cell & Environment 9(9):685-686.
- Ryals J, Uknes S, Ward E. 1994. Systemic acquired resistance. Plant Physiology 104:1109–1112.
- Sabehat A, Lurie S, Weiss D. 1998. Expression of small heat-shock proteins at low temperatures: a possible role in protecting against chilling injuries. Plant Physiology 117:651-658.

- Salazar-Salas NY, Valenzuela-Ponce L, Vega-García MO, Pineda-Hidalgo KV, Vega-Álvarez M, Chávez-Ontiveros J, Delgado-Vargas F, López-Valenzuela, JA. 2017. Protein changes associated with chilling tolerance in tomato fruit with hot water pre-treatment. Postharvest Biology and Technology 134:22–30.
- Sanchez-Ballesta MT, Gosalbes MJ, Rodrigo MJ, Granell A, Zacarias L, Lafuente MT. 2006. Characterization of a β-1,3-glucanase from citrus fruit as related to chilling-induced injury and ethylene production. Postharvest Biology and Technology 40:133-140.
- Saranwong S, Sornsrivichai J, Kawano S. 2004. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. Postharvest Biology and Technology 31(2): 137-145.
- Scandalios JG. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiology 101:7-12.
- Schaffer B, Whiley A, Crane J. 1994. Mango. En: Schaffer B, Andersen P, editores. Handbook of environmental physiology of fruit crops, volume II: Sub tropical and tropical crops. Florida. p. 165-197.
- Schieber A, Berardini N, Carle R. 2003. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels by high performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 5006-5011.
- Schirra M, Agabbio M, D'Hallewin G, Pala M, Ruggiu R. 1997. Response of Tarocco oranges to picking date, postharvest hot water dips, and chilling storage temperature. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 3216–3220.
- Schmilovitch Z, Mizrach A, Hoffman A, Egozi H, Fuchs Y. 2000. Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. Postharvest Biology and Technology 19(3): 245-252.
- Schnee, L. 1960. Plantas Comunes de Venezuela. Alcance No. 3. Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Centro de Venezuela, Maracay. p 312.
- Schweizer P, Vallelian-Bindschedler L, Mosinger E. 1995. Heat-induced resistance in barley to the powdery mildew fungus *Erysiphe graminis* f.sp. hordei. Physiology and Molecular Plant Pathology 47:51-66

- Sharom M, Willemot C, Thompson JE. 1994. Chilling injury induces lipid phase changes in membranes of tomato fruit. Plant Physiology 105:305-308.
- Shewfelt RL.1986. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. Food Technology 40:70-80.
- Shellie KC, Mangan RL. 2002. Hot water immersion as a quarantine treatment for large mangoes: artificial versus cage infestation. Journal of the American Society for Horticultural Science 127:430-434.
- SIAP. 2018. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Disponible en: http://siap.sagarpa.gob.mx (Consultado el 31 de octubre de 2018).
- Singh Z, Singh RK, Sane VA, Nath P. 2013. Mango postharvest biology and biotechnology. Critical Reviews in Plant Science 32:217–236.
- Sivankalyani V, Sela N, Feygenberg -O, Zemach H, Maurer D, Alkan N. 2016. Transcriptome dynamics in mango fruit peel reveals mechanisms of chilling stress. Frontiers in Plant Science 7:1-17
- Slaughter, D. C. (2009). Nondestructive maturity assessment methods for mango: A Review of Literature and Identification of Future Research Needs. http://www.mango.org/media/55728/nondestructive\_maturity\_assesments\_method s for mangoes PDF.
- Soleimani M. 2013. Mitigation of postharvest chilling injury in tomato fruit by prohexadione calcium. Journal of Food Science and Technology 50:1029-1033.
- Srivastava HC. 1967. Grading, storage and marketing. En: The mango, a handbook. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi. p. 99-149.
- Stermer BA, Hammerschmidt R. 1984. Heat shock induces resistance to Cladosporium cucumerinum and enhances peroxidase activity in cucumbers. Physiological Plant Pathology 25: 239–249.
- Subramanyam H, Krishna MS, Parpia HAB. 1975. Physiology and biochemistry of mango. Advances in Food Research 21: 223-305.
- Sung DY, Kaplan F, Lee KJ, Guy CL. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes. Trends in Plan Science 8:179-187

- Talcott ST, Moore JP, Lounds AJ, Percival SS. 2005. Ripening associated phytochemical changes in Mangoes (*Mangifera indica*) following thermal quarantine and low-temperature storage. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 70(5):337-341.
- Tang J, Mitcham E, Wang S, Lurie S. 2007. Heat treatments for postharvest pest control. Cromwell Press, Trowbridge, UK. 349 p.
- Tatsumi Y, Maeda K, Murata T. 1987. Morphological changes in cucumber fruit surfaces associated with chilling injury. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 56:187-192.
- Taylor NE, Glocka P, Liang M, Cowley AWJr. 2006. NADPH oxidase in the renal medulla causes oxidative stress and contributes to salt sensitive hypertension in Dahl S rats. Journal of Hypertension 47: 692-698.
- Tharanathan RN, Yashoda HM, Prabha TN. 2006. Mango (*Mangifera indica* L.), "the king of fruits" A review. Food Reviews International 22: 95–123.
- Timperio A, Ball K, Roberts R, Campbell K, Andrianopoulos N, Crawford D. 2008. Children's fruit and vegetable intake: Associations with the neighbourhood food environment. Preventive Medicine 46(4):331–335.
- Thomashow MF. 1999. Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 571:599.
- Toraskar MV, Modi VV. 1984. Peroxidase and chilling injury in banana fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 32(6):1352–1354.
- Umbach AL, Lacey EP, Richter SJ. 2009. Temperature-sensitive alternative oxidase protein content and its relationship to floral reflectance in natural Plantago lanceolata populations. New Phytology 181: 662-671.
- USDA. 2018. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Database for Standard Reference, Release 26. Nutrient Data Laboratory HomePage. Consultado el 20 de Octubre de 2018. Disponible en: http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl.

- Vanlerberghe GC. 2013. Alternative oxidase: A mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants. International Journal of Molecular Science 14:6805-6847.
- Vazquez-Salinas C, Lakshminarayana S. 1985. Compositional changes in mango fruit during ripening at different storage temperatures. Journal of Food Science 50(6):1646–1648.
- Wang B, Wang J, Liang H,Yi J, Zhang J, Lin L. 2008. Reduced chilling injury in mango fruit by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the antioxidant response. Postharvest Biology and Technology 48:172-181.
- Wang J, Rajakulendran N, Amirsadeghi S, Vanlerberghe GC. 2011. Impact of mitochondrial alternative oxidase expression on the response of Nicotiana tabacum to cold temperature. Physiologia Plantarum 142: 339-351.
- Willats WGT, McCartney L, Mackie W, Knox JP. 2001. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. Plant Molecular Biology 47:9–27.
- Woolf AB, Watkins CB, Bowen JH, Lay-Yee M, Maindonald JH, Ferguson IB. 1995. Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocados with dry heat treatments. Journal of the American Society for Horticultural Science 120:1050-1056.
- Yahia EM. 1998. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. Horticultural Reviews 22: 123-183.
- Yahia EM, Ornelas PJ, Ariza FR. 2006. Extraction, separation and partial identification of "Ataulfo" mango fruit carotenoids. Acta Horticulturae 712: 333-338.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 1994. A novel *cis*-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. Plant Cell 6:251–264.
- Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I. 2000. Engineering the provitamin A (β-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid free) rice endosperm. Science 287:303-305.
- Yimyong S, Datsenka TU, Handa AK, Seraypheap K. 2011. Hot water treatment delays ripening-associated metabolic shift in 'Okrong' mango fruit during storage. Journal of the American Society for Horticultural Science 136:441–451.

- Zhang C, Tian S. 2009. Crucial contribution of membrane lipids unsaturation to acquisition of chilling- tolerance in peach fruit stored at 0°C. Food Chemistry 115(2): 405-411.
- Zhang Z, Gao Z, Li M, Hu M, Gao H, Yang D, Yang B. 2012. Hot water treatment maintains normal ripening and cell wall metabolism in mango (*Mangifera indica* L.) fruit. HortScience 47(10):1466-1471.
- Zhang Z, Zhu Q, Hu M, Gao Z, An F, Li M, Jiang Y. 2017. Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in stored mango fruit. Food Chemistry 219:76-84.
- Zhao D, Shen L, Fan B, Yu M, Zheng Y, Lv S, Sheng J. 2009. Ethylene and cold participate in the regulation of LeCBF1 gene expression in postharvest tomato fruits. FEBS Letters 583(20): 3329–3334.
- Zhao Y. Chen J. Tao X, Zheng X, Ma L.2014. The possible role of BAX and BI-1 genes in chilling-induced cell death in cucumber fruit. Acta Physiologia e Plantarum 36: 1345-1351.
- Zhu S, Ji Z, Lu W, Zhang Z. 2003. The link between heat-induced polypeptides and chilling tolerance in mangoes (*Mangifera indica* L.), with evidence from the same fruit partially heated. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78(4):523–527.
- Zhu X, Cao J, Wang Q, Jian W. 2008. Postharvest infiltration of BTH reduces infection of mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) by *Colletotrichum gleosporioides* and enhances resistance inducing compounds. Journal of Phytopathology 156:68-74.

#### **ABREVIATURAS**

% Por ciento, porcentaje

ADN Ácido desoxirribonucleico

APX Ascorbato peroxidasa

ARN Ácido ribonucleico

ATP Adenosín trifosfato (adenosine triphosphate)

 $\beta$  -1,3-GLU  $\beta$  -1,3-Glucanasa

 $\beta$ -GAL  $\beta$  – Galactosidasa

CAT Catalasa

CHS Chalcona sintasa

CO<sub>2</sub> Dióxido de carbono

cv Cultivar

DF Daño por frío

DTT Ditiotreitol

EROs Especies reactivas del oxígeno

EST Segmentos de secuencias expresadas (expressed sequence tag)

FAO Organización de las naciones unidas para la agricultura y la

alimentación (food and agriculture organization of the united

nations)

g Gramo (g)

g Fuerza gravitacional

GR Glutatión reductasa

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Peróxido de hidrógeno

HCI Ácido clorhídrico

HsfA1 Factor de transcripción de choque térmico A1

HSP Proteína de choque térmico (inglés Heat Shock Protein)

IDF Índice de daño por frío

LE Lixiviación de electrolitos

LSD Diferencia mínima significativa (least significant difference)

M Molar, molaridad

MBD9 Methyl-CpG-binding domain-containing protein 9

MDA Malondialdehído

mRNA Ácido ribonucleíco mensajero

ND Nivel de daño

Nitrógeno Nitrógeno

N Newton (s)

ng Nanogramo (s)

NO Óxido nítrico

No. Número

O<sub>2</sub> Oxígeno

OMS Organización Mundial de la Salud

PDS Fitoeno desaturasa

PL Pectato liasa

PM Peso molecular

PME Pectinmetil esterasa

POX Peroxidasa

ppm Partes por millón

Redox Óxido-reducción

SDS Dodecil sulfato de sodio (sodium dodecyl sulphate)

sHSP Proteína de choque térmico de bajo peso molecular (small heat

shock protein)

SOD Superóxido dismutasa

TBA Ácido Tiobarbitúrico

TDS Dehidrina tipo II Sk2

TH Tratamiento hidrotérmico

UbOX Ubiquinol oxidasa

USDA Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (United

States Department of Agriculture)

UV Ultravioleta

V Volt (s)