

Aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario combinado con sales de calcio para inducir tolerancia al daño por frío en mango (Mangifera indica L.) y su efecto sobre la actividad de enzimas degradativas de pared celular

## **TESIS**

Que presenta:

IBQ. Andres Rubio Trias

Para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores de tesis

Dr. Misael Odín Vega García

Dra. Martha Edith López López

#### Presentación

La presente investigación titulada "Aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario combinado con sales de calcio para inducir tolerancia al daño por frío en mango (*Mangifera indica* L.) y su efecto sobre la actividad de enzimas degradativas de pared celular" se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha del Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección de los Dres. Misael Odín Vega García y Martha Edith López López. Contó con la asesoría del Dr. Francisco Delgado Vargas y de la Dra. Lidia Elena Ayón Reyna. El C IBQ. Andres Rubio Trias recibió Beca Nacional por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT: **627962**) durante la realización de los estudios de maestría.



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

## CARTA CESION DE DERECHOS

Fa la Ciudad de Culiacán. Sinaloa el día 6 del mes de febrero del año 2020, el (la) que auscribe IBO. Andres Rubio Trias alumno (a) del Programa de la Maestria en Ciencia y Tecnología de alimentos Posgrado en Alimentos con número de cuenta 0910116-0, de la Unidad Académica Facultad de Ciencias Oulmico-Biológicas, manificata que es autor (a) intelectual del presente trabaio de Tesis baio la dirección del Dr. Misael Odín Vega García v Martha Edith López López, cede los derechos del trabaio titulado "Estudio de la aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario combinado con sales de calcio para inducir tolerancia al daño por frío en mango (Mangifera indica L.) y su efecto sobre la actividad de enzimas degradativas de pared celular", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

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.

IBO. Andres Rubio Trias Nombre completo y firma

#### **AGRADECIEMIENTOS**

A mi director de tesis **Dr. Misael Odín Vega García**, mil gracias por todas sus enseñanzas desde la licenciatura y hoy de nueva cuenta en la maestría, por haber depositado su confianza, paciencia y disponibilidad en mí para formar parte de su equipo de trabajo. Gracias infinitas por ser una gran persona y brindarme su amistad. A mi directora **Dra. Martha Edith López López** por haberme apoyado en todo el transcurso de este proyecto ayudándome con consejos, compartiéndome sus conocimientos y sobre todo su amistad.

A mis asesores, **Dr. Francisco Delgado Vargas y Dra. Lidia Elena Ayón Reyna**, les agradezco infinitamente todo el apoyo, asesorías y enseñanzas durante la realización del experimento y la tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada que me ayudó a realizar mis estudios y concluir con el trabajo de tesis.

Al programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Sinaloa por darme la oportunidad de formar parte de su matrícula.

A mis compañeros de laboratorio M.C. Denisse Díaz Corona, M.C. Blanca Alicia López Zazueta, M.C. Jordi Gerardo López Velázquez, LBG. Gabriela Siu Villaseñor, LBG. Kassandra Beltrán, IBQ. Karla Mariza Castaños, L.N. Francisco de Jesús Barraza López y LBG. Ernesto Félix Beltrán por todo su apoyo durante la realización de este proyecto, pero sobre todo gracias por esos momentos de

pláticas y convivencia que hacían más fuerte la amistad tanto dentro del laboratorio como fuera de este.

A mis compañeros de la maestría Olivia Clarissa, María Felicitas, Milton Francisco, Luis Carlos, Rogelio Mitchel y Kathya gracias por todos esos momentos compartidos y convivencia que reforzaban el compañerismo que comenzó y terminó siendo una gran amistad en esta etapa de mi vida.

Y por último, a **mis padres y hermana** que han sido el motor para llegar a ser lo que hoy soy y siempre han dado todo por mí para verme realizado en cada sueño que me propongo. Les agradezco infinitamente por ser la familia luchadora para que los sueños de su hijo siempre se realicen y por estar al pendiente de mí a cada paso que doy. El camino no ha sido fácil en este trayecto para mí, pero gracias a ustedes su gran cariño y amor que me han dado han sido impulso para poder llegar al final. **LOS AMO**.

## **ÍNDICE GENERAL**

	Págs
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE CUADROS	xi
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	6
III. REVISIÓN DE LITERATURA	8
A. MANGO	8
1. Origen	8
2. Clasificación taxonómica y aspectos botánicos	9
3. Composición química y nutrimental	11
4. Producción de mango	14
a. Producción mundial	14
b. Producción nacional	14
c. Producción estatal	17
5. Principales países importadores y exportadores	17
B. MANEJO POSCOSECHA	17
1. Sistemas cuarentenarios	22
2. Almacenamiento	25
C. DAÑO POR FRÍO (DF)	25
<ol> <li>Respuestas al daño por frío</li> </ol>	28
a. Alteración en la membrana celular	28
b. Estrés oxidativo	29
c. Alteración en la pared celular	30
Pectinmetilesterasa (PME)	32
2) Poligalacturonasa (PG)	33
3) β-galactosidasa (β-GAL)	34
2. Tratamientos para inducir tolerancia al daño por frío	36
a. Aplicación de tratamiento hidrotérmico y sales de calcio	36
b. Uso de la combinación tratamiento hidrotérmico-calcio	41

IV. JUSTIFICACIÓN	43
V. HIPÓTESIS	44
VI. OBJETIVOS	45
A. OBJETIVO GENERAL	45
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	47
A. MATERIALES	47
1. Materia prima	47
B. METODOLOGÍA	48
<ol> <li>Porcentaje de pérdida de peso</li> </ol>	48
2. Índice de daño por frío (IDF)	48
3. Índices fisiológicos	49
a Lixiviación de electrolitos	49
b Contenido de malondialdehido (MDA)	49
4. Parámetros de calidad	50
a Color externo	50
b Firmeza	50
5. Determinación de la actividad de enzimas de la pared	51
celular en respuesta al estrés abiótico	
a Preparación del extracto enzimático	51
b Evaluación de la actividad de PME	51
c Evaluación de la actividad de PG	52
d Evaluación de actividad de β-Gal	53
6. Análisis de calcio en el tejido	53
7. Análisis microestructural	54
8. Diseño experimental	55
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
A. PÉRDIDA DE PESO	56
B. ÍNDICE DE DAÑO POR FRÍO	58
C. ÍNDICES FISIOLÓGICOS	62
D. ANÁLISIS DE CALIDAD	69

E. ANÁLISIS ENZIMÁTICOS	78
Pectinmetilesterasa (PME)	78
2. Poligalacturonasa (PG)	82
3. β -Galactosidasa (β-GAL)	86
F. CONTENIDO DE CALCIO	89
G. MICROSCOPÍA ÓPTICA	93
IX. CONCLUSIONES	99
X. BIBLIOGRAFÍA	101
ABREVIATURAS	129

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Fig 1	<b>Descripción</b> Estructura del mango	Pág 11
2	Índice de maduración en diferentes cultivares de mango	21
3	Manejo poscosecha del mango	23
4	Síntomas de daño por frío	28
5	Formación de pectatos de calcio	39
6	Porcentaje de pérdida de peso (%PP) en frutos de mango cv. Keitt	57
	tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio	
	(TH-CaCl <sub>2</sub> ), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-	
	LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de	
	maduración de 7 días a 21 °C	
7	Índice de daño por frío (IDF) en cáscara de mango cv. Keitt tratado	59
	hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-	
	CaCl <sub>2</sub> ), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa),	
	almacenados a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	
8	Porcentaje de electrolitos lixiviados (%EL) en cáscara de mango cv.	63
	Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de	
	calcio (TH-CaCl <sub>2</sub> ), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-	
	LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de	
	maduración de 7 días a 21 °C	
9	Contenido de MDA en pulpa de mango cv. Keitt tratado	66
	hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-	
	CaCl <sub>2</sub> ), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa),	

- almacenado a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C

  10 Luminosidad en cáscara de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente 70

  (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenado a 5 °C

  más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C
- 11 Cambios en el ángulo de matiz (°Hue) en cáscara de mango cv. Keitt 72 tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenado a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C
- 12 Pérdida de firmeza en pulpa de mango cv. Keitt tratado 76 hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenados a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C

80

- Actividad de la enzima Pectinmetilesterasa (PME) en frutos mango cv.

  Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenados a 5 °C, más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C
- Actividad de la enzima Poligalacturonasa (PG) en frutos mango cv. 84

  Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenados a 5 °C, más un periodo de maduración de 7 días

- Actividad de la enzima β-Galactosidasa (β-GAL) en frutos mango cv. 87 Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), almacenados a 5 °C, más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C
- 16 Contenido de calcio en cáscara de mango cv. Keitt tratado 91 hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C
- 17 Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de los 94 frutos de mango control (A-B), tratados con TH (B-C), tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> (D-E), tratados con TH-CitCa (F-G) y tratados con TH-LacCa (H-I) al día 0 a 5 °C
- 18 Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de los 95 frutos de mango control (A-B), tratados con TH (C-D), tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> (E-F), tratados con TH-CitCa (G-H) y tratados con TH-LacCa (I-J) al día 20 de almacenamiento a 5 °C
- 19 Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de mangos 97 no tratados (A-B), tratados con TH (B-C), tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> (D-E), tratados con TH-CitCa (F-G) y tratados con TH-LacCa (H-I) al día 20+7 del almacenamiento, mostrando las paredes celulares rotas

## **ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro	Descripción	Pág
1	Clasificación taxonómica del mango	10
2	Composición química de mango fresco	13
3	Producción mundial de mango durante 2017	15
4	Producción nacional (temporal + riego) de mango en 2018	16
5	Variedades de mango comúnmente comercializadas en México	18
6	Producción estatal (temporal + riego) de mango en 2018	19
7	Países exportadores de mango	20

#### I. RESUMEN

El mango es un fruto de gran importancia económica en todo el mundo, debido a su excelente calidad sensorial. Se considera un fruto tropical climatérico ya que presenta un incremento en su velocidad de respiración y producción de etileno después de cosecha. Generalmente su almacenamiento en frío es utilizado para extender su vida de anaquel debido a que reduce la actividad metabólica; sin embargo, el mango es susceptible a un desorden fisiológico denominado daño por frío (DF) cuando es expuesto a temperaturas por debajo de 10 °C. Diversas tecnologías han sido aplicadas antes del almacenamiento en frío con el fin de reducir los efectos de las temperaturas bajas, entre ellas se encuentra el uso de tratamientos térmicos moderados, siendo el tratamiento hidrotérmico (TH) el mayormente utilizado, pero la exposición prolongada del fruto a temperaturas altas puede afectar negativamente la firmeza. Por otra parte, el uso de sales de calcio ayuda a reducir la pérdida de firmeza en los frutos debido a la formación de pectatos de calcio, los cuales se ven favorecidos cuando son combinados con temperaturas altas, debido a que el uso de sales de calcio combinado con el TH ha demostrado participar en la estabilización de la pared celular. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto que genera la aplicación combinada de estos tratamientos sobre la inducción de tolerancia al daño por frío en frutos de mango. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto de la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) cuarentenario (46.1 °C, 75-

90 min) en combinación con una sal de calcio (cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (CitCa) o lactato de calcio (LacCa)), a una concentración de 0.5% (p/v), sobre la tolerancia al DF, la calidad poscosecha y la actividad de las enzimas degradativas de pared celular (PME, PG y β-Gal) en frutos de mango cv. Keitt durante su almacenamiento a 5 °C y durante su maduración. Los frutos fueron divididos en 5 lotes y sometidos a los diferentes tratamientos: control (sin tratamiento), TH, TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa, previo a ser almacenados durante 20 días a 5 °C (con retiros cada 10 días) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Se evaluó el porcentaje de pérdida de peso (%PP), índice de daño por frío (IDF), electrolitos lixiviados (EL), contenido de malondialdehido (MDA), color externo, firmeza, actividad de las enzimas de pared celular (PME, PG y β-Gal), contenido de calcio y microscopía óptica. La menor pérdida de peso se observó en los frutos del TH, mientras que la combinación TH-LacCa desarrolló el menor IDF, además de obtener los mejores resultados en los parámetros de calidad (firmeza y color) y el contenido de calcio. En relación a la actividad de las enzimas degradativas de pared celular, los tratamientos TH-CitCa y TH-LacCa lograron reducir la actividad de las enzimas PME, PG y β-Gal, especialmente al día 20+7 de almacenamiento. El análisis de microscopía óptica demostró que al combinar un tratamiento hidrotérmico con alguna de las sales de calcio utilizadas se mantuvo la integridad de la pared celular por más tiempo con respecto a los frutos no tratados. El uso de la combinación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario

con lactato de calcio (TH-LacCa) puede ser una buena alternativa para generar mayor tolerancia a las temperaturas bajas, retrazar la actividad de las enzimas degradativas de pared celular e incrementar el contenido de calcio en mango cv. Keitt durante su almacenamiento a 5 °C.

#### **ABSTRACT**

Mango is a fruit of great economic importance worldwide due to its excellent sensory quality. It is considered a tropical climacteric fruit since it has an increase in its breathing speed and ethylene production after harvest. Normally, cold storage is used to extend the shelf life of fruit because it reduces metabolic activity; however, mango is susceptible to a physiological disorder called chilling injury (CI) when it is exposed to temperatures below 10 ° C. Several technologies have been applied before storage in order to reduce the effects of low temperatures, including the use of moderate heat treatments, being the hydrothermal treatment (HT) the most used, but prolonged exposure of the fruit to high temperatures may cause loss of firmness. On the other hand, the use of calcium salts helps to reduce the loss of firmness in the fruit due to the formation of calcium pectates, which are favored when combined with high temperatures, because the use of calcium salts combined with HT has been shown to participate in cell wall stabilization. However, there is little information on the effect that both treatments generate on the induction of tolerance to cold damage in mango while also maintaining the firmness of the fruit. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of the application of a quarantine (46.1 ° C, 75 to 90 min) hydrothermal treatment (HT) in combination with a calcium salt (calcium chloride (CaCl2), calcium citrate (CitCa) and calcium lactate (LacCa)); at a concentration of 0.5% w/v, on CI tolerance, postharvest quality and the activity of cell wall degradative enzymes (PME, PG

and β-Gal) in mango fruit cv. Keitt during storage at 5 ° C, plus a period of 7 days at 21 ° C. Fruit were divided into five lots: Control, HT, HT-CaCl<sub>2</sub>, HT-CitCa and HT-LacCa, and stored for 20 days at 5 °C (with withdrawals every 10 days) plus a ripening period at 21 °C. The percentage of weight loss, chilling injury index, electrolyte leakage, malondialdehyde content, external color, firmness, activity of cell wall enzymes (PME, PG and β-Gal), calcium content and optical microscopy were evaluated. The lowest weight loss was observed in the fruit of HT, while HT-LacCa combination developed the lowest CII, in addition to obtaining the best results in the quality parameters (firmness and color) and calcium content. In relation to the activity of the cell wall degrading enzymes, the HT-CitCa and HT-LacCa treatments reduced the activity of PME, PG and β-Gal, especially at 20+7 days of storage. Optical microscopy analysis showed that combining a hydrothermal treatment with different calcium salts helps to maintain the integrity of the cell wall for a longer time with respect to untreated fruit. The use of the combination of a quarantine hydrothermal treatment with calcium lactate (HT-LacCa) can be a good alternative to cause greater tolerance to low temperatures, retain the activity of cell wall degrading enzymes and increase the content of calcium, which helped to maintain the quality in mango cv. Keitt during storage at 5 ° C.

## II. INTRODUCCIÓN

El mango (Mangifera indica L.) es un fruto tropical, clasificado como climatérico, proveniente del Sureste de Asia (Acosta-Álvarez 2018). Este fruto es considerado uno de los más populares e importantes a nivel mundial, debido a sus excelentes características organolépticas y nutricionales (Berardini y col 2005). India es el principal país productor con el 40% de la producción mundial, mientras que México ocupa el quinto lugar contribuyendo con el 3.8% (FAOSTAT 2019). Nuestro país es el principal exportador de mango siendo los principales destinos EUA, Canadá y Japón (Fernández y col 2017). El almacenamiento a temperaturas bajas de productos con fines de exportación es una de las técnicas mayormente utilizadas para ayudar a retrasar la maduración, disminuyendo la respiración y minimizando el déficit de presión de vapor entre el producto y el medio ambiente (FAO 2018). Sin embargo, la exposición prolongada del mango a temperaturas inferiores a la crítica (13 °C) provoca daño por frío (DF) (Jing y col 2009; FAO 2018). Se han realizado diversos estudios (Ghazemnezhad y col 2008; Zhang y col 2012) sobre el uso de diferentes tecnologías que permitan disminuir la presencia de los síntomas de DF, observándose que la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) (temperaturas moderadas (46.1 °C) / tiempos cortos) ayuda a generar tolerancia a las temperaturas bajas. Después de su cosecha, al mango destinado a exportación se le aplica un tratamiento cuarentenario para mantenerlo libre de la mosca de la fruta y consiste en el uso de un TH (46.1 °C, 75 a 90 min) (OIRSA 2018). Sin embargo, la exposición prolongada de los frutos de mango a temperaturas moderadas como las del sistema cuarentenario puede llegar a generar pérdida en la firmeza (que afecta la comercialización del fruto), la cual se encuentra directamente relacionada con la acción de enzimas degradativas de pared celular tales como pectinmetilesterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y β-galactosidasa (β-GAL) (Florissen y col 1996). El ablandamiento de los frutos se puede disminuir mediante la adición de sales de calcio, que generan enlaces cruzados entre pares de moléculas de homogalacturano no esterificado para formar pectatos de calcio, lo que da estabilidad a la pared celular y aumenta la resistencia al ablandamiento de la fruta (Aguayo y col 2008). La combinación de los tratamientos hidrotérmico y sales de calcio (TH-Ca) ha sido usada para el control de enfermedades y ha mostrado que contribuye a mantener la calidad poscosecha de los frutos, especialmente la firmeza, pero no se ha visto el efecto que causa a nivel estructural para frutos de mango (Aguayo y col 2015; Ayón-Reyna y col 2017; López-López y col 2017). Beirão-Costa y col (2008) reportaron que la aplicación de un TH en presencia de cloruro de calcio redujo o inhibió la actividad de la enzima PME, permitiendo mantener la firmeza de los frutos. Al respecto, Díaz-Corona (2017) observó que la combinación del tratamiento hidrotérmico y lactato de calcio contrarrestó los daños generados por las temperaturas bajas y por el calor a frutos de mango. Sin embargo, el efecto en la estructura celular del uso de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario y diferentes sales de calcio para frutos de mango almacenados a temperaturas bajas no ha sido reportado. Por lo que, el objetivo del presente trabajo consistió en analizar el efecto de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario en combinación con tres diferentes sales de calcio (CaCl<sub>2</sub>, CitCa y LacCa) sobre la tolerancia al daño por frío, calidad, cambios estructurales y la actividad de las enzimas degradativas de pared celular en frutos de mango cv. Keitt, durante el almacenamiento a temperatura de daño por frío.

## III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### A. MANGO

El mango es un fruto tropical clasificado como climatérico ya que presenta un período de aumento significativo en la actividad respiratoria, asociada al proceso de transición de fase entre la maduración y la senescencia (Acosta-Álvarez 2018). Es considerado uno de los frutos más populares e importantes a nivel mundial debido a sus excelentes características organolépticas y nutricionales, mismas que han propiciado que en muchos lugares, especialmente en Asia, se le conozca como "el rey de las frutas". Con el paso de los años la mejora extensiva de las plantas de mango ha generado cientos de variedades diferentes, cuyos frutos muestran una diversidad pronunciada en cuanto a tamaño, forma, color, sabor, así como composición nutrimental (Berardini y col 2005).

#### 1. Origen

El origen del mango es señalado en las regiones Indo-Birmana y Sureste de Asia, encontrándose aún en forma silvestre en toda la región tropical de Asia. La literatura china del siglo VII lo describe como un cultivo frutal bien conocido en las partes más cálidas de China e Indochina (Caballero-García 2017).

A fines del siglo XIV y principio del siglo XV los viajeros españoles llevaron la fruta desde la India hasta Manila, introduciéndose en los siglos XV y XVI a las colonias tropicales del continente americano por medio del tráfico entre las Filipinas y la costa oeste de México. En el siglo XVI, el mundo occidental transfirió el cultivo de mango hacia Portugal y el lejano Oriente, luego fue transportado al sur de África y de ahí a

Brasil, y unos 40 años después a la Isla de Barbados. Por otra parte, Jamaica importó sus primeros mangos de Barbados y otras islas de las Indias Occidentales a principio del siglo XVII. Los mangos fueron llevados de México a Hawai en 1809 y a California alrededor de 1880, mientras que la primera plantación permanente en Florida data de 1861 (INFOAGRO 2018).

#### 2. Clasificación taxonómica y aspectos botánicos

El mango pertenece a la familia Anacardiaceae y a la especie *Mangifera indica* (Cuadro 1). El género *Mangifera* comprende más o menos 50 especies nativas del sureste de Asia o las islas circundantes. Sólo 3 ó 4 especies del grupo producen frutas comestibles; sin embargo, muchas de las otras especies pueden ser de un valor potencial para fines de mejoramiento. *M. indica* se encuentra ampliamente distribuido en países asiáticos, latinoamericanos y en general, en regiones con clima cálido (Herbario 2009; Porras y col 2010; Fernández y col 2017).

El fruto de mango es una drupa carnosa de exocarpio liso, mesocarpio pulposo y endocarpio leñoso grueso que protege a la semilla dentro del fruto **(Figura 1)**. Su peso oscila entre los 100 a 1500 g y su forma, tamaño y color (*e.g.*, verde, verde con amarillo, rojo o rosado) varían según el cultivar y el estado de madurez (Guerrero y col 2012; Caballero-García 2017; González-Castellanos 2017).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del mango

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Rosidea

Orden: Sapindales

Suborden: Anacardiineae

Familia: Anacardiaceae

Género: Mangifera

Especie: indica

Fuente: Porras y col (2010).

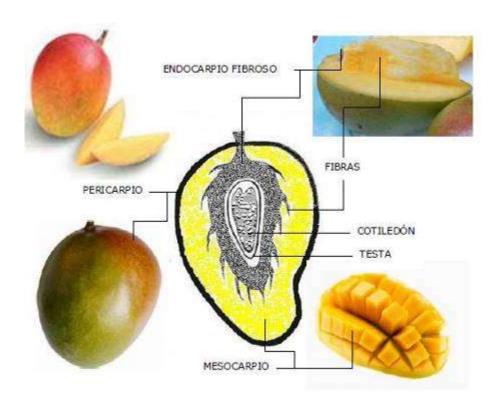


Figura 1. Estructura del mango

Fuente: Anónimo (2019).

#### 3. Composición química y nutrimental

El mango es un fruto tropical popular y económicamente importante en todo el mundo debido a su excelente calidad de consumo (color brillante y sabor dulce) y su composición nutrimental (vitaminas, minerales, fibra y otros fitoquímicos) (Kim y col 2007). Los frutos de mango presentan una gran variabilidad en composición nutrimental, lo que se debe a factores edafológicos, climáticos, estado de madurez, variedad e incluso en la posición de los frutos en un mismo árbol. La proporción de los componentes químicos tanto en pulpa como en cascará determina la calidad que tendrá el fruto con respecto a sus características organolépticas. En el Cuadro 2 se muestra que la pulpa y cáscara tienen un elevado porcentaje de humedad (74-87%) e hidratos de carbono como sacarosa y fructosa (15-23%). Además, la cáscara de mango presenta valores de calcio, manganeso y boro altos, pero limitantes en potasio, hierro y azufre, mientras que la pulpa tiene valores de bajos a intermedios para estos nutrimentos (Hernández y col 2008; Mallado y col 2012; Wall y col 2015). La pulpa es una fuente de heteropolisacáridos de ácido urónico y azúcares neutros (pectinas). Estos polisacáridos varían en su composición durante el proceso de maduración, así como su solubilidad y el grado de polimerización (Wall y col 2015). El mango también es una fuente importante de fibra dietaria, presentándose la mayor parte de fibra soluble en la pulpa (pectinas, almidones) y fibra insoluble en la cáscara (ligninas y hemicelulosa). En lo que respecta a compuestos fenólicos, contiene ácido gálico, flavonoles, quercetina, kaempferol, ácido parahidroxibenzóico, ácido pcumarico y ácido ferúlico; consecuentemente, el mango puede considerarse como una buena fuente de antioxidantes (Kim y col 2007).

Cuadro 2. Composición química de mango fresco

Nutrientes	Cantidad promedio por cada 100g de
	fruto fresco
Agua	83.5 g
Proteínas	0.8 g
Grasa	0.4 g
Carbohidratos	15 g
Fibra	1.6 g
Azúcares	13.7g
Energía	60 Kcal
Vitaminas	
Vitamina A	36.4 mg
Vitamina B6	0.12 mg
Vitamina E	0.9 mg
Tiamina	0.03 mg
Niacina	0.67 mg
Minerales	
Calcio (Ca+2)	11 mg
Hierro (Fe <sup>+3</sup> )	0.16 mg
Magnesio (Mg <sup>+2</sup> )	10 mg
Fósforo (P <sup>-3</sup> )	14 mg
Potasio (K <sup>+1</sup> )	168 mg

Fuente: Wall y col (2015).

### 4. Producción de mango

#### a. Producción mundial

A nivel mundial, el mango ocupa el tercer lugar en términos de producción e importancia económica, comparado con otros frutos tropicales como lo son el plátano y la piña. El mango se cultiva en alrededor de 100 países, es una de las frutas más consumidas y está ampliamente distribuido en regiones cálidas de países asiáticos y latinoamericanos. La producción mundial de mango es de aproximadamente 50.6 millones de toneladas (FAO, 2018). En el 2017, los principales países productores fueron India con 19,506,000 ton (40% de la producción total), China con 4,791,271 ton (10%), Tailandia con 3,824,279 ton (8%), Indonesia con 2,566,046 ton (5%) y México con 1,958,491 ton (4%) (Cuadro 3); la comercialización de mango representó una derrama económica aproximada de 30 mil millones de dólares (FAOSTAT 2019).

#### b. Producción nacional

La producción total de mango en México para el 2018 fue de aproximadamente 1.8 millones de ton, siendo Guerrero (386,891 ton), Nayarit (322,390 ton) y Chiapas (266,464 ton) los tres principales estados productores en el país. Sinaloa ocupó el 5<sup>to</sup> lugar (181,079 ton) mostraron una menor producción, sin embargo, aportó valores importantes para posicionar a México como uno de los principales productores y exportadores de mango en el mundo (**Cuadro 4**) (SAGARPA-SIAP 2019).

Con respecto al año 2017, México presentó una disminución en la producción total durante el 2018, lo que generó una disminución en la derrama económica (SAGARPA 2019). En México, las variedades de mango más relevantes son Tommy

Cuadro 3. Producción mundial de mango en 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
Total	37,396,688

Fuente: FAOSTAT (2019).

Cuadro 4. Producción nacional (temporal + riego) de mango en 2018

Estado	Producción (ton)
Guerrero	386,891
Chiapas	322,390
Nayarit	266,464
Oaxaca	198,449
Sinaloa	181,079
Michoacán	160,864
Otros	283,863
Total	1,800,000

Fuente: SAGARPA-SIAP (2019).

Atkins (49%), Haden (23%), Kent (24%) y Keitt (3%) (Cuadro 5) (Rodríguez y col 2016; Fernández y col 2017).

#### c. Producción estatal

En 2018, la superficie cosechada de mango en Sinaloa fue de 29,574 ha y se obtuvieron 181,079 ton, quedando en quinto lugar como productor a nivel nacional (SAGARPA-SIAP 2019). Los principales municipios productores en el año 2018 fueron El Rosario (53,573 ton), Ahome (51,824 ton), Escuinapa (41,148 ton), Concordia (13,935 ton) y Mazatlán (8,186 ton) (Cuadro 6), con un rendimiento general de 7.3 ton/ha. En la actualidad, las principales variedades que se producen en Sinaloa son Kent, Keitt, Manila, Haden, Tommy Atkins y Ataulfo (SAGARPA-SIAP 2019).

#### 5. Principales países importadores y exportadores de mango

Los países con mayor exportación de mango son México (21%), India (16%), Tailandia (15%), Perú (8%) y Brasil (7%) (Cuadro 7) (Fernández y col 2017; FAO 2019). Los principales importadores de mango son Estados Unidos de América (> 36%), Canadá (12%) y Japón (5%) (Fernández y col 2017).

#### **B. MANEJO POSCOSECHA**

El mango generalmente se cosecha en el estado de madurez verde maduro (etapa 3), es decir, después de que el fruto alcanza la madurez fisiológica pero antes de que comience la respiración climatérica (madurez comercial); esto permite que el fruto madure de forma adecuada y tenga mayor vida de anaquel (Figura 2) (Subedi y

Cuadro 5. Variedades de mango comúnmente comercializadas en México

Tipo de mango	Temporada	Sabor	Forma	Color	Textura
TOMMYATKINS	Octubre a diciembre	Suculento	Mediana a grande y ovalada	Verde a amarillo con toques de color rojo	Firme
FALEY	Todo el año	Ligeramente dulce	Mediana a grande con forma ovalada	Cáscara dorada a verdosa	Firme, bastante fibrosa
KENT	Junio a agosto	Rico y afrutado	Grande y ovalada	Verde con rubor rojo	Muy suave
KEITT	Enero a marzo, mayo a agosto	Vibrante	Grande y ovalada	Cáscara verdosa con rubor rojo oscuro	Jugoso y delicado

Fuente: Rodríguez y col (2016).

Cuadro 6. Producción estatal (temporal + riego) de mango en 2018

Municipio	Producción		
	(ton)		
El Rosario	53,573		
Ahome	51,824		
Escuinapa	41,148		
Concordia	13,935		
Mazatlán	8,186		
El Fuerte	6,238		
Culiacán	2,254		
Navolato	2,202		
San Ignacio	818		
Guasave	456		
Sinaloa	156		
Cosalá	16		
Total	181,079		

Fuente: SAGARPA-SIAP (2019).

Cuadro 7. Países exportadores de mango

País	Porcentaje
México	21%
India	16%
Tailandia	15%
Perú	8%
Brasil	8%
Pises Bajos	7%
Pakistán	6%
Ecuador	4%
Yemen	2%

Fuente: Fernández y col (2017).

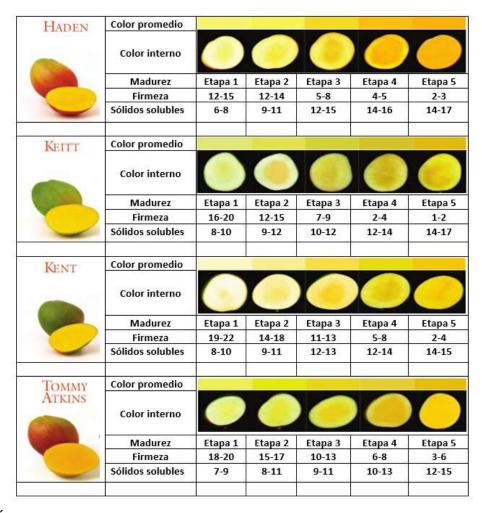


Figura 2. Índice de maduración en diferentes tipos de mango.

Fuente: Anónimo (2019).

col 2006). Las variaciones de temperatura, luz y humedad relativa durante el crecimiento del fruto de mango afectan su calidad, que al momento de ser cosechado se tendrán lotes heterogéneos en términos de tamaño, color, forma, calidad gustativa y composición nutrimental. El manejo poscosecha es fundamental para conservar dichos parámetros de calidad (Figura 3). El transporte y comercialización de los frutos de mango requiere de almacenamiento a temperaturas de refrigeración para reducir la actividad metabólica del fruto y alargar la vida de anaquel (Baloch y Bibi 2012). Algunos factores que determinan el tiempo de vida de los frutos incluyen la madurez de cosecha, temperatura y tiempo de transportación, temperatura y tiempo de almacenamiento en bodega y venta al detalle, como también sí va a requerir o no la aplicación de un tratamiento cuarentenario al momento de ser destinado a exportación (Bender y col 2014).

#### 1. Sistemas cuarentenarios

Un sistema cuarentenario es un método oficial implementado por la USDA-APHIS que se emplea para eliminar, esterilizar o desinfestar una plaga presente en un producto vegetal específico (FAO 2018).

En los sistemas cuarentenarios se pueden utilizar tratamientos químicos y físicos para el control de insectos, enfermedades y algunos desórdenes fisiológicos. Los tratamientos químicos incluyen el empleo de bromuro de metilo o fosfamina; la fosfamina puede prepararse a partir de fosfuro de aluminio y fosfuro de magnesio. El empleo de tratamientos químicos puede provocar daños a la salud del consumidor; por lo tanto, los productores y consumidores de mango prefieren que se dé el uso de



Figura 3. Operaciones de manejo poscosecha de mango.

Fuente: Anónimo (2019).

tratamientos cuarentenarios físicos (Mora-Medina 2004; Arriaga y col 2017; OIRSA 2018).

Entre los tratamientos físicos probados con alto poder de reducir la presencia de la mosca de la fruta se encuentran la irradiación, el empacado en atmósfera modificada y controladas, así como los tratamientos térmicos (aire caliente y aqua caliente), los cuales se consideran como tecnologías no tóxicas y seguras para el consumo humano (Fallik 2004). El tratamiento cuarentenario por irradiación consiste en la aplicación de una dosis de 300 grays, cantidad suficiente para modificar el ADN de las plagas y volverlas estériles (Trejo-Márquez y col 2014). El uso de aire caliente se basa en la aplicación de vapor saturado a una temperatura que va de 42 a 50 °C por un tiempo de 5 y 10 min o aire seco a 46 °C por un tiempo de 60 a 180 min, lo que ayuda a incrementar la temperatura hasta el centro del fruto (Goncalves y col 2015). Con respecto a la aplicación de agua caliente consiste en sumergir los frutos en agua a 46.1 °C por 65 a 110 min dependiendo del fruto y su peso, de igual manera que el tratamiento con aire caliente, el uso de estas condiciones ayuda a incrementar la temperatura hasta el centro del fruto logrando matar a la plaga (SENASA 2018; USDA-APHIS 2018).

El uso del tratamiento térmico con agua caliente es el más destacado para el control de antracnosis y la mosca de la fruta en mango debido a sus ventajas: relativamente sencillo para aplicarse, costo bajo de operación, tiempo de tratamiento corto, y monitoreo confiable del fruto y de la temperatura del agua (Akbudak y col 2007; Pereira-Kechinski y col 2012).

#### 2. Almacenamiento

El almacenamiento en refrigeración es una de las principales herramientas para reducir el deterioro poscosecha de los frutos; las temperaturas bajas disminuyen la actividad de las enzimas y el desarrollo de microorganismos responsables del deterioro de los frutos, reducen la tasa de respiración, retrasan la maduración y minimizan el déficit de las presiones de vapor entre el fruto y el medio ambiente. La suma de todos estos factores favorece la conservación de la frescura del fruto, así como la preservación de la calidad y el valor nutritivo. El tiempo y la temperatura a la cual los frutos pueden ser almacenados dependen de sus características intrínsecas (FAO 2018).

Para los mangos, se recomienda usar temperaturas de almacenamiento que oscilan entre los 12 y 16 °C; sin embargo, cuando se manejan en una atmósfera controlada las temperaturas de almacenamiento pueden llegar a ser de hasta 8 °C si la fruta se encuentra madura y 12 °C para fruta verde-madura (Bender y col 2014). En general, la temperatura idónea para almacenar el mango verde-maduro es de 13 °C, temperaturas inferiores pueden inducir daño por frío (Brecht y col 2012).

# C. DAÑO POR FRÍO (DF)

El DF es un trastorno causado por la exposición prolongada del fruto a temperatura baja, pero por encima del punto de congelación (Jing y col 2009; FAO 2019). El DF es un desorden fisiológico que limita el uso de temperaturas bajas afectando gravemente la capacidad de almacenar el fruto por más tiempo, o bien limita las distancias de transportación, ya que las temperaturas suficientemente bajas

que ayudan a retrasar la maduración, la decadencia y la senescencia también pueden ser perjudiciales (Brecht y col 2012). Desde el punto de vista fisiológico, el DF es el resultado de un desequilibrio acumulativo en el metabolismo celular pero que es reversible en la primera fase. Las alteraciones en la primera fase son poco severas y los frutos no presentan síntomas de DF, lo que se denomina umbral de inducción o fase de latencia, y los frutos pueden retornar a su estado normal por medio de una breve elevación de la temperatura, siempre y cuando sea superior a la temperatura crítica (Ártes y col 2002).

Entre los factores que influyen en la respuesta al DF del fruto están la composición de ácidos grasos de los lípidos de membrana celular, los niveles de azúcares y otros osmolitos, la etapa de maduración y las temperaturas de almacenamiento (Tejacal y col 2002). Algunos de los síntomas provocados por el DF incluyen una mayor permeabilidad a la membrana celular (lixiviación de electrolitos), oscurecimiento y picaduras de la cáscara, decoloración de pulpa y en casos severos se presentan áreas necróticas y la aparición de sabores y olores desagradables; así mismo, el DF aumenta la susceptibilidad al deterioro microbiano (Figura 4) (Saltveit 2005; Zhang y col 2016).

La presencia de los síntomas es más severa cuando las temperaturas de almacenamiento son mucho menores que la crítica y el tiempo de almacenamiento es grande. Además, los síntomas de DF no son siempre visibles en el fruto durante el almacenamiento a temperaturas bajas, sino que se desarrollan más tarde cuando la fruta se expone a temperaturas superiores (de maduración) (Chaptan y col 1971; Aghdam y col 2013). Investigaciones previas realizadas en diferentes variedades de

mango (Kent, Keitt, Ataulfo y Tommy Atkins) han demostrado que las temperaturas de almacenamiento de 1 a 5 °C inducen el desarrollo de síntomas de DF, siendo más evidentes durante el periodo de maduración, presentando una inhibición en el desarrollo de color en cáscara y pulpa (Chaplin y col 1991). El uso de estas temperaturas también ha provocado la aparición de síntomas de daño por frío en frutos de durazno (Laurie y col 2005), tomate cherry (Yang y col 2009), manzana (Wang y col 2010) y pepino (Zhang y col 2015). Un estudio reciente en cinco variedades de mango (Ataulfo, Haden, Kent, Keitt y Tommy Atkins) con calidad de exportación confirman dicho comportamiento, registrándose oscurecimiento de lenticelas, picadura superficial y presencia de áreas necróticas, especialmente cuando se transfirieron a un periodo de maduración; además, la susceptibilidad al DF fue dependiente de la variedad, siendo las variedades Ataulfo y Keitt las variedades de menor y mayor susceptibilidad, respectivamente (López-López 2017).

## 1. Respuestas al daño por frío

A temperaturas por debajo de la crítica, los frutos de mango presentan cambios estructurales que se deben a los desórdenes fisiológicos que afectan la integridad y el funcionamiento de la membrana celular, a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y a la pérdida de la integridad celular.

#### a. Alteración de la membrana celular

El DF altera los procesos fisiológicos y bioquímicos de los frutos: se presenta transición de fase y cambio en la composición de lípidos de membrana; afecta tejidos internos y la integridad de la membrana celular; la membrana se separa; hay



Figura 4. Síntomas de daño por frío en frutos de mango.

Fuente: Anónimo (2019).

liberación de lípidos que actúan como moléculas de señalización para el desarrollo de otros síntomas; y aumenta la fuga de electrolitos (Sharom y col 1994; Albornoz y col 2018).

La respuesta del metabolismo lipídico de la membrana a temperatura baja se correlaciona con la actividad de las enzimas fosfolipasa D (PLD) y lipoxigenasa (LOX). La PLD y la LOX de plantas son importantes en el catabolismo de fosfolípidos y pueden iniciar una cascada de efectos asociados a la senescencia y el deterioro de la membrana inducida por el estrés. La PLD hidroliza la fosfatidil colina de la membrana celular a ácido fosfatídico y colina. Por otro lado, la LOX cataliza la peroxidación de los lípidos de la membrana plasmática, provocando la instauración de los lípidos, y por lo tanto cambia la fluidez de la membrana, lo que resulta en la pérdida de la integridad y aumento de la permeabilidad de la membrana celular; de esta manera, la LOX está potencialmente involucrada en la senescencia de la planta, alteraciones de la membrana y degradación de lípidos en plantas bajo estrés (Sheng y col 2016).

#### b. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se considera una respuesta temprana de los tejidos sensibles al estrés por frío y comienza con el incremento de ERO provenientes de diferentes organelos celulares. Las ERO incluyen al anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, óxido nítrico y peroxinitrito. Si la producción de ERO aumenta drásticamente, como ocurre bajo estrés ambiental, el radical hidroxilo generará

peroxidación de lípidos, inactivación de enzimas y deterioro de proteínas (Imahori y col 2008; Valenzuela y col 2017).

Las células vegetales están protegidas contra los efectos de las ERO por un complejo sistema antioxidante. El sistema de defensa contra las ERO consiste de una serie de enzimas (superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa) y sustancias antioxidantes (ácido ascórbico, tocoferol, compuestos fenólicos y glutatión). La reducción de los efectos dañinos del enfriamiento en células vegetales puede estar relacionada con su capacidad para reducir y eliminar los radicales libres a través de un aumento en la actividad enzimática (Sala 1998; Huang y col 2005).

## c. Alteración en la pared celular

La estructura de la pared celular consiste de una mezcla compleja y variable de polisacáridos (pectinas, celulosa y hemicelulosa) y otros polímeros secretados por la célula y ensamblados en una organización entramada y equilibrada por medio de un conjunto de enlaces covalentes y no covalentes; asimismo, contiene proteínas estructurales, enzimas degradativas como pectinmetilesterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -Gal), compuestos fenólicos (fenoles, ligninas, flavonoides), entre otros materiales que modifican las características físicas y químicas de la pared celular. La función primaria de la pared celular es regular el volumen celular y determinar la forma estructural (Berg 2000).

Las pectinas son uno de los componentes más destacados de la pared celular y está formada por una familia de polisacáridos rica en ácido galacturónico que

incluyen homogalacturonano, ramnogalacturonano I, ramnogalacturonano II (RG-II) y xilogalacturonano (XGA), teniendo como principales funciones controlar el crecimiento, la morfología y defensa celular (Mohnen 2008).

La exposición de frutos a temperaturas bajas induce alteraciones sustanciales en el metabolismo de los polisacáridos de la pared celular. El DF activa rutas de señalización que provocan una respuesta del metabolismo del fruto que derivan en reacciones enzimáticas de desesterificación y despolimerización que conducen al ablandamiento del fruto (Dueñas Gómez 2012; Aghdam y col 2013). El almacenamiento de frutos a temperaturas bajas ocasiona ruptura celular y activación de enzimas degradadoras de pared celular que han sido asociadas con el ablandamiento durante el periodo de maduración (Aghdam y col 2013). En la maduración de frutos de durazno se han registrado diferencias en despolimerización de polisacáridos entre los frutos almacenados en frío y los frutos control. La solubilidad de estas pectinas de peso molecular alto se mantiene baja en condiciones normales y se muestra el aumento en almacenamiento en frío dando como resultado características de la fruta jugosa (Brummell y col 2004). En pepino, también se ha relacionado el ablandamiento con el incremento en la solubilidad de las pectinas a causa del daño provocado por el almacenamiento durante 10 días a 3 °C (Mercer y col 1992).

El ablandamiento en las frutas se da por la acción de enzimas con actividad de hidrolasas, tales como PME, PG y  $\beta$ -Gal, que generan cambios en la pared celular, principalmente en la pectina (Karakurt 2003). La actividad de estas enzimas aumenta de manera natural al empezar la maduración y puede inducirse de manera temprana

al someter el fruto a tratamientos con temperaturas relativamente altas como los son los tratamientos hidrotérmicos (Verlent y col 2004).

## 1) Pectinmetilesterasa (PME)

La PME cataliza la degradación de las sustancias pécticas de la célula, componente de la pared celular que actúa como agente cementante o ligando entre las células y puede también controlar los movimientos de materiales solubles; esta enzima se ha identificado en numerosas plantas y es especialmente activa en frutos (Aponte y col 2003). La pérdida de la estabilidad de la pared por la acción de la PME involucra la liberación de los grupos metoxilo del ácido poligalacturónico de las pectinas, los residuos generados de ácido poligalacturónico son los sustratos que de la PG. Por lo tanto, la hidrólisis de la pectina depende de la acción de la PME que está presente en todos los estados de desarrollo del fruto; sin embargo, el aumento en su actividad sólo ocurre durante la maduración (Resende y col 2004). La acción de esta enzima contribuye con el cambio de textura en los frutos, siendo el deterioro del tejido el resultado final (Carrillo-López y col 2002). La desestabilización de la pared celular se incrementa cuando los frutos se someten a tratamientos térmicos (Silveira y col 2011); éstos tratamientos activan la PME en frutos, e.g., manzana (Hemmaty y col 2007), mango (Zhang y col 2012) y caqui (Khademi y col 2014).

Estudios previos han reportado que la combinación de los tratamientos hidrotérmico y con sales de calcio genera una mayor actividad de PME en los frutos que la aplicación de los tratamientos individuales: el calor incrementa la expresión transcripcional de la PME y la sal de calcio modula su actividad (Beirão-Costa y col

2008; (Langer y col 2019). Al respecto, Silveira y col (2011) aplicaron a frutos de melón un tratamiento hidrotérmico combinado con cloruro de calcio al 0.5% por 15 min y registraron un incremento en la actividad de la PME conforme pasaron los días de almacenamiento a 5 °C. También, Diaz-Corona (2017) observó que una combinación de los tratamientos hidrotérmico y con lactato de calcio (46.1 °C, 75 ó 90 min, 0.5%) en frutos de mango cv. Keitt almacenados a temperatura de DF inducía una mayor actividad de PME que en los frutos control. La presencia del calcio en conjunto con el uso de temperaturas altas favorece el aumento en la actividad de la enzima PME en frutos de tomate (Anthon y col 2015).

## 2) Poligalacturonasa (PG)

La enzima PG (endo o exo) realiza cortes en los enlaces α-1-4 glicosídicos del extremo no reductor de pectina de bajo metoxilo del ácido poligalacturónico (Castorena y col 2012). La PG actúa específicamente sobre el homogalacturonano o en las partes no ramificadas de la molécula de pectina; el ataque es aleatorio y provoca la rápida disminución del peso molecular de la pectina, dando como resultado liberación mínima de extremos reductores (Silva-Martins y col 2013). La PG se activa durante la maduración, despolimeriza los glucanos de la pectina de las paredes celulares, provoca ablandamiento de los tejidos y cambios en la textura del fruto. La PG afecta la integridad de la lámina media que controla las conexiones intercelulares (Amnuaysin y col 2012). Cuando el ablandamiento es muy avanzado, la solubilización de poliurónidos se aumenta (Brummell y col 2004). Al respecto, Carvajal y col (2015) observaron un incremento en PG durante el almacenamiento a temperaturas bajas, atribuyendo este efecto a una correlación entre el DF y el

ablandamiento. Se ha reportado que cuando se aplica un tratamiento hidrotérmico a los frutos la actividad de PG es mayor para los frutos tratados (Wang y col 2015). Además, Brummell y col (2004) reportaron un incremento constante en la actividad de endo- y exo-PG durante la maduración de frutos de durazno; fenómeno también documentado para frutos de papaya (Costa y col 2010) y plátano (Amnuaysin y col 2012).

Rathore y col (2007) reportaron el aumento en la actividad de la PG en frutos de mango sometidos a un tratamiento hidrotérmico. Este comportamiento también se ha reportado en frutos de pitahaya (Chuni y col 2010) y tomate (Chávez-Sánchez y col 2013). Por otra parte, la combinación de los tratamientos hidrotérmico y con sales de calcio disminuye la actividad enzimática durante el almacenamiento; sugieren que los iones calcio se unen a las cargas negativas generadas por la acción de la PME, favorecen la formación de enlaces entrecruzados, la pared celular es menos susceptible al ataque de las demás enzimas hidrolíticas, se evita el deterioro de la lámina media y disminuye el ablandamiento (Muengkaew y col 2018).

## 3) β-galactosidasa (β-GAL)

La  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -Gal) actúa en conjunto con la PME y PG en el proceso de ablandamiento de los frutos durante la maduración. La  $\beta$ -Gal hidroliza oligómeros o residuos terminales de galactosilo de homopolisacáridos o heteropolisacáridos generados por la PG (Konda y col 2011). La estrecha correlación entre los cambios en la actividad de  $\beta$ -GAL, el ablandamiento del tejido, la mayor solubilidad y degradación de las pectinas sugiere que la  $\beta$ -GAL desempeña un papel importante

en la modificación de la pectina de la pared celular, dando como resultado ablandamiento de la fruta durante la maduración (Mohd y col 1995). El tratamiento hidrotérmico de frutos aumenta la actividad de la β-GAL (Ali y col 2004). Al respecto, Ketsa y col (1999) mostraron un aumento en el ablandamiento de mangos tratados térmicamente (3 días a 38 °C) y lo relacionaron con el incremento en la actividad de la β-GAL durante el almacenamiento a 9 °C. De la misma manera, Rahman y col (2011) observaron un proceso de ablandamiento más rápido en frutos de mango cv. Fazli durante el almacenamiento a -5 °C. Este aumento en el ablandamiento se relaciona con que el estrés por temperaturas bajas provoca un incremento en los transcriptores de algunos genes de hidrolasas de pared celular, donde se incluye también los de β-GAL durante la exposición a temperaturas de DF (Yimyong y col 2011). El uso combinado de un tratamiento hidrotérmico y sales de calcio ha demostrado una disminución de la actividad de β-GAL, debido a que el calcio fortalece la estructura de las paredes celulares y provocando una disminución en la actividad de las enzimas (Alandes y col 2006). Esta disminución se ha visto en frutos de fresa (Shafiee y col 2010), cereza (Wang y col 2015) y mango (Muengkaew y col 2018). Por su parte, Díaz-Corona (2017) encontró que la combinación de un tratamiento hidrotérmico con lactato de calcio (TH-LacCa) en frutos de mango almacenados a 5 °C favoreció la disminución de la actividad de la enzima β-GAL, aun cuando fueron transferidos a un periodo de maduración. Concluyendo de que la aplicación de tratamientos previos al almacenamiento como lo es TH-LacCa favorece que el fruto mantenga la firmeza e incluso sea resistente a temperaturas bajas de almacenamiento.

## 2. Tratamientos para inducir tolerancia al daño por frío

## a. Aplicación del tratamiento hidrotérmico y sales de calcio

La aplicación de tratamientos hidrotérmicos en frutos genera tolerancia al DF; se ha sugerido que el tratamiento hidrotérmico induce la síntesis y acumulación de proteínas de choque térmico, la activación del sistema antioxidante (enzimático y no enzimático) y evita la acumulación de ERO (Jing y col 2009). Los dos principales tratamientos comerciales que utilizan agua caliente se realizan por enjuague y por inmersión en agua caliente. En la inmersión en agua caliente (tratamiento hidrotérmico, TH) se utilizan temperatura en el rango 43-53 °C durante períodos de unos cuantos minutos hasta horas o días. Por otro lado, el enjuague en agua caliente se aplica comercialmente a temperaturas que oscilan entre 48-63 °C durante 10-25 s (Akbudank y col 2007). El uso de TH ha sido recomendado por diferentes investigadores (Ghazemnezhad y col 2008; Zhang y col 2012), ya que mantiene mejor la calidad de las frutas y verduras que el tratamiento por enjuague. Además, los TH protegen las frutas y verduras contra la incidencia de podredumbres, tienen una aplicación conveniente, son de costo bajo y mejoran la apariencia general de las frutas y verduras (Kumah y col 2011).

Referente a los frutos de mango, la aplicación del TH cuarentenario es mandataria para fines de exportación y consiste en sumergir los frutos en agua a 46.1 °C por un tiempo determinado por el tamaño: ≤ 375 g por 65 min; 376-500 g por 75 min; 501-700 g por 90 min; 701-900 g por 110 min. La duración de la inmersión también depende del cultivar (USDA-APHIS 2014). Diversos autores han encontrado

que la aplicación del TH no daña la calidad de los frutos. En mango, la firmeza, pH y sólidos solubles no se vieron afectados por la aplicación del TH al ser evaluados después del almacenamiento por 10 días a 5 °C (Anwar y col 2007; Dea y col 2010). De acuerdo a Kumah y col (2011) y Neta y col (2014), el TH de frutos de mango no tuvo efecto significativo en la calidad después de su almacenamiento a 8 °C. De igual manera, la aplicación de TH disminuyó el oscurecimiento de frutos de mandarina y permitió que su calidad se mantuviera durante el almacenamiento a temperatura ambiente. También, Chávez-Sánchez y col (2013) reportaron que TH (55 °C; 3-9 min) de frutos de papaya no afecta el proceso de ablandamiento, debido a que las enzimas encargadas del ablandamiento no son alteradas y tampoco se ve afectada la calidad de los frutos. Sin embargo, Florissen y col (1996) reportaron que el uso de un tratamiento térmico previo al almacenamiento provocó alteraciones en la firmeza de aquacates antes de ser almacenados a 0 °C por 7 días.

La aplicación de un tratamiento térmico se debe hacer de una manera correcta tanto en la temperatura como en el tiempo de exposición, si su aplicación no es lo adecuada puede provocar separación celular y en consecuencia una disminución en los polisacáridos pécticos de peso molecular alto, dando como resultado una disminución en la estabilidad de la pared celular, la cual conlleva al hundimiento de la pulpa en la parte peduncular (hendiduras superficiales) y un aumento en la respiración del fruto (Ng y col 1997; Zhang y col 2012). Jacobi y col (1992) analizaron la aplicación de TH (47 °C) en mango Kensington por tiempos de 5 a 30 min, registrando que el nivel de ablandamiento aumentaba con el tiempo de exposición. Según Zhang y col (2012), la aplicación de TH a frutos de mango a 55 °C por 10 min

fue suficiente para que se presente el ablandamiento durante el almacenamiento a temperaturas bajas (5 °C). Por su parte, López-López y col (2018) reportaron que el uso de TH cuarentenario (46.1 °C; 75-90 min) en mango cv. Keitt generó un aumento significativo en el ablandamiento durante el almacenamiento. De esta manera, el TH genera efectos positivos al contrarrestar los efectos del DF y efectos negativos al acelerar el ablandamiento; por lo tanto, algunos autores han optado por combinar el TH con la aplicación de sales de calcio que ayuden a mantener la firmeza durante el almacenamiento de los frutos a temperaturas bajas (Casas 2011; Silveira y col (2011).

La firmeza y la resistencia de frutos al ablandamiento puede aumentarse mediante el tratamiento con sales de calcio: el calcio es un componente estructural de la pared celular que se une a la pectina, formando un puente de unión intermolecular de la pectina-proteína de los tejidos vegetales (Silveira y col 2011). El mantenimiento en la estructura de la pared celular depende del enlace del calcio con los componentes pécticos de la lámina media debido a que los pectatos de calcio formados le confieren una estructura más rígida (Casas 2011). El enlace del calcio con las pectinas se produce a través de la unión del grupo carboxilo de diversos polisacáridos, por medio de uniones electrostáticas o coordinadas formando una red que incrementa su fuerza (Figura 5) (Figueroa y col 2012). Por lo anterior se recomienda la aplicación de calcio antes y después de la cosecha para retrasar la senescencia y disminuir la pérdida de firmeza de los frutos sin efectos nocivos para el consumidor (Ngamchuachit y col 2014). Si existe una disminución de la concentración de calcio en el fruto existe un aumento en la susceptibilidad del mismo

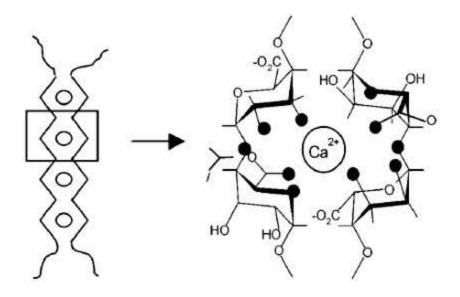


Figura 5. Formación de pectatos de calcio.

Fuente: Anónimo (2019).

a la deterioración de la pared celular y menor firmeza en poscosecha (Lobos y col 2011).

La aplicación de calcio también se ha asociado con una reducción del DF o daño mecánico durante el almacenamiento, conservando la firmeza del producto, generando así resistencia a pudriciones e impidiendo la reproducción de patógenos asociados a la manipulación del fruto (Zamora Alfaro 2012). Otro de los efectos en los que se ve involucrado el calcio es que puede actuar como cofactor para las enzimas del sistema antioxidante, provocando una mayor tolerancia al DF (Aghadam 2013). Para mantener la firmeza en los frutos puede aplicarse calcio en sus diferentes sales: cloruro, lactato, citrato, ascorbato, propionato y silicato (Zamora Alfaro 2012).

Sin embargo, las sales de cloruro de calcio, citrato de calcio y lactato de calcio han dado los mejores efectos sobre la calidad y el retraso de los síntomas de DF. El uso de una solución de cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) al 3% disminuyó significativamente los síntomas de DF y retrasó el ablandamiento en mango durante el almacenamiento a 20 °C (Yuen 1999). De acuerdo con Anjum y col (2004), la utilización de cloruro de calcio al 5% en mango retrasó la maduración durante 4 días, dando como resultado una mejora en los parámetros de calidad (firmeza y color) en el fruto. Por otro lado, Manganaris y col (2007) observaron que el tratamiento de durazno 0.5% de cloruro de calcio permitió tener frutas con mejores características cualitativas, incrementando la firmeza del tejido y generando menor susceptibilidad a trastornos fisiológicos después de un almacenamiento a temperaturas bajas. Este efecto se ha visto también en frutos de kiwi (Beirão-Costa y col 2008), fresa (Hernández y col 2008)

y melón (Casas 2011). También se ha reportado que el uso de cloruro de calcio en frutos de papaya ayuda a reducir la presencia de la enfermedad antracnosis y mantiene atributos de calidad como la firmeza, debido a que las uniones del calcio con la pectina disminuyen las vías de acceso para las enzimas hidrolíticas que causan la enfermedad (Mahmud y col 2008; Madani y col 2014).

#### b. Uso de la combinación tratamiento hidrotérmico-calcio

En la combinación de los tratamientos hidrotérmico y con sales de calcio de frutos, el TH a 40-60 °C favorece la activación de las enzimas degradativas de pared celular, liberando residuos de ácido péctico a los que puede unirse el calcio y dar como resultado una mayor estabilidad en la pared celular que permite que la firmeza del fruto, los atributos de calidad, el contenido nutricional y la resistencia al ataque de patógenos se mantengan por más tiempo (González-Aguilar y col 2005; Aguayo y col 2008; Silveira y col 2011; Abd-Elhady 2014).

Diversos autores han demostrado que el uso de TH combinado con una sal de calcio después de la cosecha de los frutos aumenta los niveles de calcio unido a la pared celular, lo que provoca un efecto benéfico tanto para el daño por frío como para el daño por calor, dando una mayor firmeza y mayor tiempo de vida de anaquel, comparado con lo que se obtiene al aplicarlos individualmente (Avallone y col 2012). Este efecto se ha visto en frutos de manzana (Hemanty y col 2007), melón (Aguayo y col 2008) y pitahaya (Chuni y col 2010). López-López y col (2013) aplicaron un tratamiento con agua caliente combinado con cloruro de calcio en manzana entera y obtuvieron mejores efectos sobre la retención de la calidad y la disminución de la

actividad enzimática que cuando se aplicaron los tratamientos de manera individual. Shahkoomahally y Ramezanian (2013) observaron una retención de la calidad y una mayor actividad antioxidante total en frutos de kiwi al aplicar agua caliente y cloruro de calcio, relacionando estos efectos con una mayor retención de ácido ascórbico. Por su parte, López-López y col (2018) reportaron que la aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario combinado con lactato de calcio en frutos de mango cv. Keitt es altamente conveniente para reducir las pérdidas poscosecha, mantener la firmeza, aumentar la tolerancia al DF y mantener altos niveles de antioxidantes. Sin embargo, existe muy poca información sobre su impacto en la tolerancia al DF en mango, firmeza y vida útil del producto, siendo además una parte benéfica tanto para el fruto, el productor y el consumidor (Seid y col 2016; Díaz-Corona 2017; López-López y col 2018), ayudando a que permanezca la calidad del fruto, y por ende a permanecer por más tiempo a disposición para su consumo, por lo cual es necesario conocer más a profundidad la manera en cómo actúan estas tecnologías para dar solución a dichos problemas (Aguayo y col 2008; Dessalegn y col 2013).

## IV. JUSTIFICACIÓN

El mango es un fruto tropical de gran importancia económica en términos de producción y comercialización a nivel internacional. En 2017, México ocupó el primer lugar en exportación y el quinto en producción mundial. Los protocolos de exportación de mango a países como Estados Unidos y Canadá requieren que el fruto sea sometido a un TH cuarentenario para eliminar la larva de la mosca de la fruta. Para su comercialización los frutos son almacenados en refrigeración ya que permite alargar su vida de anaquel debido a la reducción en su actividad metabólica. Sin embargo, temperaturas por debajo de las críticas (< 13 °C) por tiempos prolongados favorecen la presencia de síntomas de DF. Al respecto, se ha demostrado que el TH induce tolerancia al DF, sin embargo; cuando este se aplica por largos periodos como lo es el cuarentenario puede provocar la activación de enzimas hidrolíticas y generar el ablandamiento del tejido. Por otra parte, el tratamiento de mango con sales de calcio es una alternativa documentada para mantener la firmeza, sobre todo cuando se combina con un TH. Sin embargo, el efecto combinado del TH cuarentenario con distintas sales de calcio (cloruro de calcio, citrato de calcio y lactato de calcio) aplicado en mango previo a su almacenamiento en condiciones de DF no ha sido estudiado como una alternativa para disminuir el desorden de DF sin sacrificar la firmeza del fruto. Por lo tanto, resulta interesante conocer hasta que nivel estas combinaciones disminuyen los síntomas de DF manteniendo la firmeza; así como el efecto que generan sobre la actividad de las enzimas de pared celular y la integridad de las células durante el almacenamiento de mango a temperaturas de DF.

## V. HIPÓTESIS

La aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario combinado con sales de calcio en mango previo al almacenamiento a temperaturas de daño por frío, induce tolerancia al estrés, manteniendo la estructura celular mediante la reducción en la actividad de las enzimas de la pared celular.

#### VI. OBJETIVOS

#### A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la combinación de un tratamiento hidrotérmico con una sal de calcio (cloruro de calcio, citrato de calcio o lactato de calcio) sobre la inducción de tolerancia al daño por frío, los cambios estructurales y la actividad de las enzimas degradativas de la pared celular, en frutos de mango cv. Keitt almacenados a temperaturas bajas.

## **B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1. Evaluar el efecto de la aplicación de un TH combinado con diferentes sales de calcio (cloruro de calcio, citrato de calcio o lactato de calcio) sobre la inducción de tolerancia al daño por frío en mango cv. Keitt durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración.
- 2. Determinar los índices fisiológicos (electrolitos lixiviados y contenido de malondialdehido (MDA)) desarrollados por el daño por frío en mango cv. Keitt tratado con la combinación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenario y tres diferentes sales de calcio.
- 3. Evaluar los parámetros de calidad (color, porcentaje de pérdida de peso y firmeza) en frutos de mango sometidos a tratamiento hidrotérmico cuarentenario y su combinación (cloruro de calcio, citrato de calcio o lactato de calcio), almacenados a temperatura de daño por frío.
- 4. Evaluar la actividad de las enzimas pectinmetilesterasa (PME) poligalacturonasa (PG) y β-galactosidasa (β-GAL) en frutos de mango cv. Keitt

sometidos a un tratamiento hidrotérmico cuarentenario y la combinación TH-Calcio durante el almacenamiento a temperaturas bajas y el periodo de maduración.

- 5. Determinar el contenido de calcio en el tejido en mango cv. Keitt sometido a un tratamiento hidrotérmico y la combinación TH-Calcio durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración.
- 6. Evaluar por microscopía óptica el efecto de la aplicación de un tratamiento hidrotérmico en combinación con tres diferentes sales de calcio sobre la estructura celular de frutos de mango cv. Keitt sometidos a daño por frío.

# **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### A. MATERIALES

#### 1. Materia prima

Los frutos de mango fueron cosechados en un huerto local de la sindicatura de Aguaruto, perteneciente al municipio de Culiacán, Sinaloa, en madurez fisiológica y seleccionados de acuerdo a su uniformidad de tamaño, color y libertad de golpes. Los mangos fueron trasladados al Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha (LFTP) de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas (FCQB) de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), donde fueron desinfectados con hipoclorito de sodio (300 ppm por 3 min). Posteriormente, los frutos se dividieron en 5 lotes (6 frutos por lote) para la aplicación de los siguientes tratamientos: control, tratamiento hidrotérmico (TH), combinación de TH con lactato de calcio (TH-LacCa), combinación de TH con citrato de calcio (TH-CitCa) y combinación de TH con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>). El TH fue aplicado por inmersión en agua a 46.1 °C por 75-90 min. La concentración sal de calcio fue de 0.5%, valor seleccionado considerando reportes de la literatura. Los frutos tratados fueron almacenados durante 0, 10 y 20 días a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.

## **B. METODOLOGÍA**

## 1. Porcentaje de pérdida de peso

En la evaluación de pérdida de peso se utilizó la metodología reportada por Hazbavi y col (2015), utilizando una balanza analítica (SARTORIUS TE-4101, Alemania). Se hicieron las mediciones a 6 frutos utilizando la siguiente formula:

%Pérdida de peso = (<u>Peso inicial – Peso final</u>) x 100% Peso inicial

## 2. Índice de daño por frío (IDF)

La evaluación de IDF se llevó a cabo de manera visual, describiendo los síntomas de acuerdo a lo reportado por López-López y col (2018). A 6 frutos de cada tratamiento se les evaluaron los siguientes síntomas de DF: oscurecimiento de lenticelas (O), picaduras superficiales (P), áreas necróticas (A) y maduración irregular (M). El IDF se determinó con la ayuda de una escala hedónica de 5 puntos y considerando el porcentaje del área total del fruto afectada: 0= no daño, 1= 1-25%, 2= 26-50%, 3= 51-75%, 4= >76%. El IDF se calculó mediante la siguiente ecuación: IDF= ((NDO + NDP + NDA+ NDM) / 4). Donde ND significa nivel de daño para cada síntoma.

# 3. Índices fisiológicos

## a Porcentaje de electrolitos lixiviados (%EL)

Los electrolitos lixiviados se determinaron por el método descrito por López-López y col (2018) con algunas modificaciones. Para cada tratamiento, 60 cilindros de 7 mm (20 cilindros por cada réplica) se obtuvieron de la región ecuatorial de la cáscara usando un sacacorchos. Las muestras se lavaron (3 veces) con agua desionizada para eliminar por completo cualquier electrolito liberado. Los cilindros se colocaron en 25 mL de manitol (0.4 M) y se incubaron por 1 h a 24 °C bajo agitación constante; la conductividad de la solución se determinó utilizando un conductímetro manual (HI 98311, Hanna Instruments, Mauritius, EUA). Después de la primera lectura, las muestras se colocaron en una autoclave a 121 °C por 30 min para liberar todos los electrolitos. Posteriormente, las muestras se enfriaron a 25 °C aproximadamente por 5 min y de nuevo se midió la conductividad para determinar los electrolitos totales. El %EL se determinó con la siguiente fórmula:

%EL = (electrolitos iniciales / electrolitos totales) \* 100.

## b Contenido de malondialdehido (MDA)

La prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) determina al malondialdehido como producto final de la peroxidación lipídica. La técnica se realizó de acuerdo a lo reportado por Sun y col (2011). Un gramo de tejido congelado (pulpa) se homogenizó con 30 mL de etanol: agua (80:20 v/v) por 1 min. La muestra se centrifugó a 3,000 g por 10 min a 4 °C, recuperándose el sobrenadante. En la mezcla de reacción se mezclaron 1 mL de sobrenadante, 1 mL de la solución A (TCA 20% + BHT 0.01 % en

etanol al 80%), o solución B (TCA 20% + BHT 0.01% + TBA 0.65% en etanol al 80%), donde TCA es ácido tricloroacético y BHT hidroxitolueno butilado. La mezcla se homogenizó ligeramente y calentó a 95 °C por 25 min. La reacción se detuvo colocando las muestras en agua con hielo por 10 min. Una segunda centrifugación (3,000 *g* por 10 min a 4 °C) se llevó a cabo para clarificar las muestras por completo. La absorbancia se midió a 3 diferentes longitudes de onda: 400, 532 y 600 nm. La cantidad de complejo MDA-TBA (pigmento rojo) fue calculado de la siguiente manera: 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/157,0000)106.

#### 4. Parámetros de calidad

#### a Color externo

Para la evaluación de color externo se utilizó un colorímetro Minolta CR 200 (Minolta, Osaka, Japón), para lo cual se marcaron tres puntos en la superficie del fruto (6 frutos) para que el color fuera medido siempre en el mismo punto durante el periodo de almacenamiento. Se registraron los parámetros de luminosidad (L\*) y ángulo de matiz (Hue).

#### **b** Firmeza

La firmeza se determinó de acuerdo a lo reportado por López-López y col (2018) con algunas modificaciones. Se cortaron los cachetes de 6 mangos, se eliminó la cáscara en forma longitudinal de la porción central del cachete y se obtuvieron mediciones en tres partes (centro y extremos), obteniéndose 6 mediciones por fruto.

Se utilizó un penetrómetro (Chatillon DFE100, AMETEK Inc, Largo, FL) equipado con una punta plana de 11 mm de diámetro a una velocidad de penetración constante (50 mm/min-5mm de penetración).

# 5. Determinación de la actividad de enzimas de la pared celular en respuesta al estrés abiótico.

## a Preparación del extracto enzimático

Las enzimas de la pared celular se extrajeron de acuerdo a la metodología reportada por Carrillo-López y col (2002) con algunas modificaciones. La pulpa de mango (15 g) se mezcló con 25 mL de NaCl 1 M y se homogenizó (4 °C por 1 min) en un homogenizador T18 basic (IKA Works, Inc. Wilminton, NC, EUA). El homogenizado se centrifugó a 17,000 g por 45 min a 4 °C y se filtró con papel Whatman No. 4. El sobrenadante se saturó al 80% con sulfato de amonio ((NH4)2SO4), agitó por 1 h a 4 °C para precipitar la proteína y centrifugó a 17,000 g por 20 min. El precipitado conteniendo la proteína fue recuperado y resuspendido en 15 mL de agua destilada a 4 °C; esta suspensión fue utilizada para medir la actividad de las enzimas pectín metil esterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -Gal).

## b Evaluación de la actividad de PME

La actividad de PME se determinó de acuerdo a Hagerman y Austin (1986) con base en el cambio de color de un indicador de pH durante la reacción catalizada por la PME. Debido a que los enlaces éster de las pectinas son hidrolizados, se

producen grupos ácidos y el pH disminuye, causando que el colorante indicador cambie su color. Este cambio se monitoreó continuamente con un espectrofotómetro.

La mezcla de reacción consistió de 2 mL de pectina cítrica (0.5%), 0.5 mL de azul de bromotimol (0.01%) en amortiguador de fosfato de potasio (0.003 M, pH 7.5), 4 mL de agua destilada y 100 µL del extracto enzimático. La reacción se llevó a cabo a 30 °C y fue monitoreada cada minuto durante 5 min a 620 nm. Se utilizó una curva estándar de ácido galacturónico (0.5%). Las unidades de PME se expresaron como µmoles de protones (H+) liberados / 100 g de fruto fresco por minuto (g ff-min).

#### c Evaluación de la actividad de PG

La actividad específica de PG se determinó de acuerdo con la metodología reportada por Chávez-Sánchez y col (2013) con algunas modificaciones, en la que se evaluó la formación de grupos reductores de ácido poligalacturónico.

La mezcla de reacción consistió de 2 mL del extracto enzimático y 2 mL de ácido poligalacturónico (0.5%) en amortiguador de acetato de sodio (0.2 M, pH 4.6). La mezcla se incubó por 1 h a 37 °C. La medición de la actividad se realizó mezclando 400 μL del extracto incubado, 4 mL de amortiguador de tetraborato de sodio 0.1 M (pH 9.0) y 400 μL de 2-cianoacetamida al 1%. El blanco se preparó de la misma manera, pero sin agregar el extracto enzimático y la curva estándar se construyó con ácido galacturónico (0.5%). La actividad de la PG se reportó como μmoles de ácido galacturónico / 100 g ff.

## d Evaluación de la actividad de β-Gal

La actividad de β-Gal se determinó de acuerdo con lo reportado por Hossain y col (2014) con algunas modificaciones, determinando la actividad enzimática a partir de la estimación de la liberación de *p*-nitrofenol.

Cincuenta microlitros del sustrato *p*-nitrofenil-β-D-galactopiranósido se mezclaron en tubos de ensayo con 100 μL de amortiguador de fosfato (pH 6.0). A la mezcla se le añadieron 50 μL de extracto enzimático y se mezcló a 37 °C por 1 h. Para detener la reacción se agregaron 1.3 mL de amortiguador de glicina-NaOH (pH 10.5). La cantidad liberada de *p*-nitrofenol se midió espectrofotométricamente a una absorbancia de 420 nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 nmol de *p*-nitrofenol en 1 min a 37 °C.

## 6. Análisis de calcio en tejido

Los análisis de calcio se realizaron empleando la metodología propuesta por Madani y col (2016). Muestras de pulpa de la región ecuatorial del mango fueron secadas en un horno con circulación de aire a 60 °C por 5 h. La muestra seca (0.25 g) fue molida finamente y digerida con 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 450 °C por 7 min, usando una placa de calentamiento en una campana de extracción; posteriormente, a la mezcla se le añadieron 10 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se calentó a 450 °C por 6 min. La muestra digerida se aforó a 100 mL con agua desionizada y el contenido de calcio de las diluciones se evaluó usando un espectrofotómetro de absorción atómica modelo 3110 (Perkin Elmer Inc., EUA). Los resultados se expresaron como mg de Ca/ 100 g ff.

#### 7. Análisis microestructural

La preparación de las muestras para su observación en el microscopio óptico se realizó utilizando la metodología reportada por Osuna-Enciso y col (2000) con algunas modificaciones. Porciones de tejido de 1 cm x 1 cm se tomaron de la cáscara de los frutos a los 0, 10, 20 y 20+7 días de almacenamiento, se colocaron en solución fijadora FAA (etanol absoluto 50%, ácido acético glacial 5%, formaldehído 10%, agua destilada 35%) por 24-48 h. Posteriormente, las muestras se deshidrataron usando diferentes concentraciones de etanol (50, 70, 96, 96, 100 y 100%), después fueron transferidas a etanol absoluto-xileno (1:1), haciendo tres cambios en xileno, en cada cambio se mantuvo por 5 h. Enseguida, la muestras se infiltraron en parafina grado histológico (PF 60-63 °C) por 24 h haciendo dos cambios cada 12 h. Luego, las muestras en parafina fueron cortadas, cortes histológicos de 10 µm de grosor. Los cortes se colocaron en un baño de flotación con agua caliente (43 °C) más grenetina, se les eliminó la parafina mediante 3 cambios de xileno (3 min cada uno), se hidrataron con una serie gradual de etanol 100, 96, 70 y 50% (3 min cada uno) y se les aplicó la tinción diferencial safranina-verde rápido. La tinción con safranina al 1% en etanol al 50% se realizó por un tiempo mínimo de 24 h, posteriormente los cortes se deshidrataron en una serie gradual de etanol al 50, 70 y 96% (3 min en cada uno), enseguida se tiñó con verde rápido al 0.1% por 3 min y se lavó con etanol al 96%, para terminar la deshidratación con un cambio de etanol absoluto y tres cambios de xileno (3 min en cada uno), finalmente se fijó con acrílico. Los cortes teñidos se montaron en un portaobjetos, fueron protegidas con un cubreobjetos y observadas en un microscopio óptico (Motic-microscope BA210, Hong Kong).

8. Análisis de los datos

En los experimentos se utilizó un diseño completamente aleatorio con 2 factores

con 4 y 5 niveles, respectivamente. Quedando de la siguiente manera:

Días de almacenamiento:

0, 10, 20 y 20+7 días

Tratamientos:

Control, TH, TH-LacCa, TH-CitCa, TH-CaCl<sub>2</sub>

En los experimentos para determinar el efecto de los tratamientos en el contenido

de calcio se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con 2 factores

con 3 y 5 niveles, respectivamente. Quedando de la siguiente manera:

Días de almacenamiento:

0, 20 y 20+7 días

Tratamientos:

Control, TH, TH-LacCa, TH-CitCa, TH-CaCl<sub>2</sub>

El análisis estadístico se realizó mediante una ANOVA con dos factores y la

diferencia de medias se estableció utilizando la mínima diferencia significativa (LSD)

mediante la prueba de Fisher (P<0.05). El análisis de varianza se realizó con el

paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1.

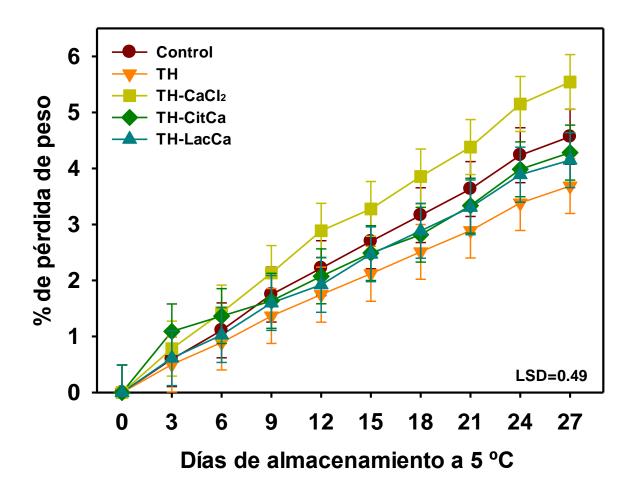
55

# VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# A. PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO (%PP)

La pérdida de peso es un índice importante para medir la calidad y está relacionado con la pérdida de agua y el marchitamiento de las frutas y verduras (Vázquez-Celestino y col 2016; Zhang y col 2019).

En la Figura 6 se muestran los resultados de pérdida de peso (%PP) con respecto a los días de almacenamiento a 5 °C; los frutos perdieron peso en este periodo, los valores de %PP fueron inferiores al 6%, lo que aún resulta aceptable para la comercialización (López-López 2017). El tratamiento TH presentó el menor %PP durante todo el almacenamiento, mostrando diferencia significativa (P<0.05) con el tratamiento TH-CaCl2. Por otra parte, el tratamiento TH-CaCl2 presentó los valores más altos de %PP durante todo el almacenamiento y la con el resto de los tratamientos fue significativa (P<0.05) a partir del día 10. Esta pérdida significativa en el peso de los frutos del tratamiento TH-CaCl<sub>2</sub> podría deberse a un aumento en la actividad metabólica, pérdida de humedad y un mayor daño en las lenticelas, debido a que los iones cloruro pudieron generar rompimiento celular dando como resultado la deformación de las lenticelas (Aliaga y col 2018). Los frutos con los tratamientos TH, TH-CitCa y TH-LacCa no mostraron diferencia estadística (P>0.05) entre ellos. Hong y col (2007) reportaron que el aplicar un tratamiento térmico moderado en frutos de mandarina disminuyó la pérdida de peso de los frutos, lo que atribuyeron a que el calor mantiene la turgencia de las células, disminuyendo además la reducción de los síntomas de DF.



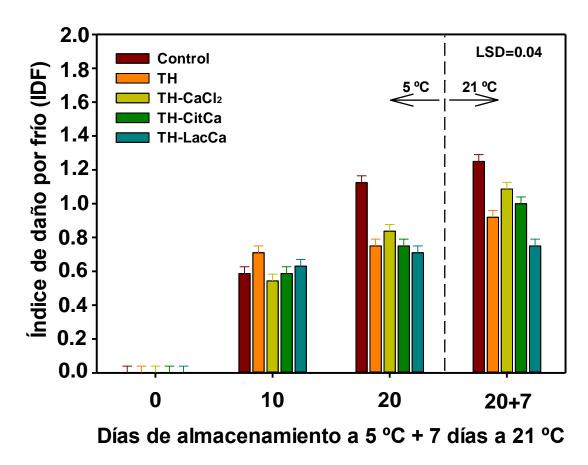
**Figura 6.** Porcentaje de pérdida de peso (%PP) en frutos de mango cv. Keitt con tratamiento hidrotérmico (TH) y TH combinado con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

El TH reduce la pérdida de peso debido a que provoca una distribución más homogénea de ceras cuticulares que cubren las microfracturas del flavedo, interrumpiendo así esta vía de la transpiración (García y col 2016). Nasef (2018) aplicó un tratamiento térmico corto (55 °C / 5 min) en pepino y lo almacenó a 4 °C logrando disminuir la pérdida de peso en un 11% respecto a los frutos no tratados, atribuyendo este comportamiento a que se generó inducción de proteínas de choque térmico, estabilización de la membrana, producción de compuestos antifúngicos, modificación de la actividad enzimática en pared celular y cicatrización acelerada de las heridas.

En relación con el uso de la combinación TH-Ca, resultados similares a los obtenidos en este trabajo se han observado para frutos de níspero (Akhtar y col 2010), pimiento (Barzegar y col (2018), pérsimo (Naser 2018) y mango (López-López y col 2018). Los autores atribuyeron este comportamiento a que la aplicación de calcio es una herramienta de intercomunicación de la funcionalidad de las redes de pectina, dado que aumenta la resistencia de la pared celular y mantiene la integridad de las membranas con menores pérdidas de fosfolípidos y proteínas, así como también reduce la fuga de iones y evita la pérdida de peso.

# B. ÍNDICE DE DAÑO POR FRÍO (IDF)

En la **Figura 7** se muestran los resultados de IDF en mango cv. Keitt tratado con TH y su combinación con tres diferentes sales de calcio durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. El IDF de los frutos de todos los tratamientos se incrementó durante el almacenamiento a 5 °C y al final la diferencia fue significativa para los frutos control. Para el día 20+7, los frutos de todos



**Figura 7**. Índice de daño por frío en cáscara de mango cv. Keitt con tratamiento hidrotérmico (TH) y TH combinado con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa). Los frutos tratados fueron almacenados a  $^{5}$  °C por 20 días más un periodo de maduración de 7 días a  $^{21}$  °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

los tratamientos presentaron menor IDF que los del control (IDF = 1.3), el mejor tratamiento fue el TH-LacCa (IDF = 0.8). Los frutos control presentaron oscurecimiento de lenticelas, picaduras superficiales y áreas necróticas; mientras que los frutos TH-LacCa mostraron el menor IDF (0.8 respectivamente), siendo el oscurecimiento de lenticelas y áreas necróticas los síntomas más predominantes. El efecto de la combinación puede relacionarse con la síntesis inducida y la acumulación de proteínas de choque térmico (HSP's), además de que hay una activación en el sistema antioxidante (no enzimático). El uso de sales calcio genera efectos en los que se ve involucrado el calcio es que puede actuar como cofactor para las enzimas del sistema antioxidante, provocando una mayor tolerancia al DF (Jin y col 2009; Aghdam y col 2013). Las HSP's se acumulan en respuestas a diversas condiciones de estrés: calor, frío, oxidativas, entre otras. Además, las proteínas HSP's participan en la regulación de las proteínas antioxidantes, lo que aumenta la protección contra el estrés oxidativo (Sevillano y col 2009; Aghdam y col 2013). Los resultados de este estudio concuerdan con lo reportado por Mahmood y col (2008) para mandarina con TH (47.5 °C ó 50 °C durante 2 min, así como 47.5 °C durante 5 min) y almacenadas a 5 °C, registrando una reducción de los síntomas de DF conforme aumentaban los días de almacenamiento. Al respecto, Hewajulige y col (2003) analizaron el efecto del tratamiento con calcio de frutos de piña sometidos a DF, almacenados durante 17 días a 10 °C seguido de 2 días a 28 °C, y observaron que el DF es minimizado conforme las concentraciones de calcio se incrementaban en la cáscara. Bassal y col (2011) mencionaron que la reducción a la susceptibilidad a las temperaturas de daño por frío se debía a una mayor actividad de enzimas antioxidantes en la cáscara y la pulpa de la fruta, así como a un incremento en el contenido de fenoles libres en la pulpa.

Por otra parte, Khademi y col (2014) aplicaron TH (50 °C) por 30 min, lo que fue efectivo para la disminución de síntomas de DF en frutos de caqui almacenados a 1 °C más un periodo de 7 días a 20 °C, atribuyéndolo a una producción baja de etileno y la reducción de acetaldehído. Así mismo, los resultados coinciden con lo reportado por Cruz Mendívil y col (2015) en frutos de tomate tratados hidrotérmicamente y almacenados a 5 °C, donde los frutos control mostraron un incremento en la presencia de DF durante el almacenamiento comparado con los frutos no tratados. Lo que atribuyeron a que el TH activa la expresión de genes relacionados con el estrés por calor, la desintoxicación y el metabolismo de los azúcares, que pueden actuar de forma sinérgica para proteger las membranas de las células de las tensiones oxidativas y osmóticas durante el frío.

Con respecto a los resultados obtenidos con la combinación TH-sal de calcio, Bagheri y col (2015) registraron una disminución de los síntomas de DF en frutos de persimo tratados con una combinación de tratamiento hidrotérmico con cloruro de calcio; la disminución fue asociada a una mayor retención de compuestos fenólicos en la vacuola debido a una mayor estabilidad de la pared celular del tejido, evitando la presencia de fenólicos en el espacio intercelular y su oxidación. La presencia de los iones de calcio en cáscara favorece su interacción con los polímeros de pared celular, retrasando su desintegración y reduciendo el DF. El mejor efecto del TH-LacCa en la reducción del DF en mango Keitt (Figura 7) puede deberse a que la sal de lactato de calcio tiene mayor capacidad de difusión hacia el interior (Naser 2018),

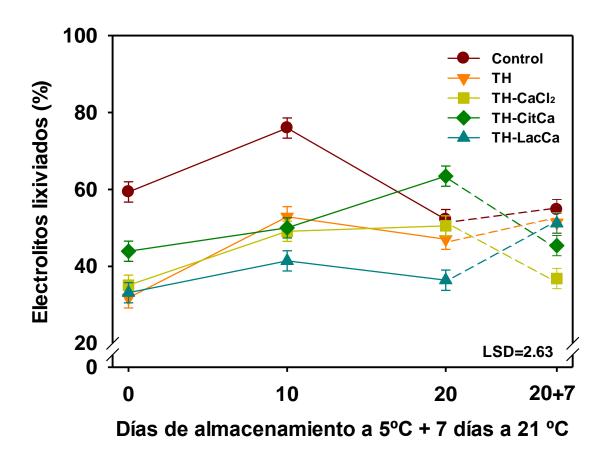
lo que ayuda a mantener la integridad de la pared celular y de la membrana, de esta manera los síntomas de DF son menores. También contribuye el que ambos tratamientos inducen una mayor activación del sistema antioxidante enzimático (e.g., SOD, CAT, APX, GR) y no enzimático, debido al aumento en concentración de compuestos fenólicos (López-López y col 2018).

### C. ÍNDICES FISIOLÓGICOS

### 1. Porcentaje de electrolitos lixiviados (%EL)

Los electrolitos lixiviados (EL) son un indicador de la pérdida de permeabilidad y de daño de las membranas celulares. Los EL se incrementan con diferentes factores asociados con la pérdida de la funcionalidad de la membrana celular: estado de madurez del fruto, el tiempo, temperatura, condiciones de almacenamiento y exposición a condiciones de estrés severo (Nyanjage y col 1999; Dea y col 2010).

En la **Figura 8** se observa el porcentaje de electrolitos lixiviados en la cáscara de mango cv. Keitt durante su almacenamiento a 5 °C, seguido de un tiempo de maduración de 7 días a 21 °C para frutos tratados con un TH y su combinación con tres diferentes sales de calcio. Durante el almacenamiento a 5 °C, para el primer día (0) los frutos control presentaron el mayor %EL (60%) donde se mostró diferencia significativa con los tratamientos aplicados, comportamiento que se mantuvo hasta el día 10, donde presentó un valor cercano a 75%. Al transcurrir 20 días de almacenamiento a 5 °C los tratamientos TH y TH-LacCa presentaron los menores valores de EL. El uso de sales de calcio ayuda en la regulación de muchos aspectos del metabolismo, siendo la unión entre paredes celulares, la permeabilidad celular y la integridad de la membrana los más destacados (Marangoni y col 1996; Hewajulige



**Figura 8**. Electrolitos lixiviados (%) en cáscara de mango cv. Keitt con tratamiento hidrotérmico (TH) y TH combinado con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de 3 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

y col 2003; Bagheri y col 2015). Al final del almacenamiento (20+7) la combinación TH-LacCa presentó un incremento significativo, mostrando valores similares al control sin diferencia (P>0.05) entre ellos, pero si con respecto a los tratamientos TH-CitCa y TH-CaCl<sub>2</sub>, obteniendo este último el porcentaje menor. Este aumento en la lixiviación al final del almacenamiento podría deberse al uso de temperaturas superiores que intensifican los síntomas de DF, lo que conlleva una mayor lixiviación de electrolitos en los frutos después del almacenamiento a temperaturas bajas, así como también a la maduración y a la senescencia del fruto (López–López y col 2018).

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Zhang y col (2016) quienes utilizaron un TH (45 °C, 10 min) en frutos de níspero y observaron una menor pérdida de electrolitos durante los primeros días de almacenamiento a temperatura de DF, presentando diferencia significativa respecto a los frutos no tratados, esto puede atribuirse a que el TH favorece que la membrana se mantenga en estado líquido-cristalino, impidiendo la salida de solutos al exterior de la célula, comportamiento que también se ha observado en frutos de tomate (Wang y col 2012; Salazar-Nieblas y col 2017) y pepino (Nasef 2018).

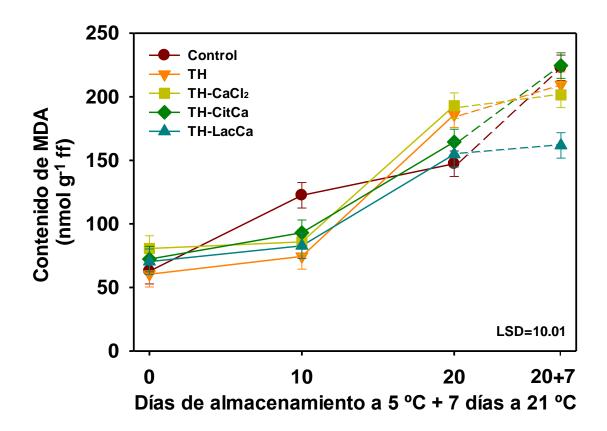
Respecto a la combinación TH-Calcio, nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Bagheri y col (2015), quienes utilizaron una solución de agua caliente (50 °C, 10 min) con cloruro de calcio (0.5%) en frutos de caqui observando una reducción del %EL de hasta un 17% con respecto al control durante los primeros 45 días de almacenamiento a 5 °C. Los autores sugirieron que la combinación del tratamiento hidrotérmico con calcio era más eficiente para mantener la integridad de

la pared celular y por ende mantenía la integridad de la membrana celular al reducir la pérdida de iones, fosfolípidos y proteínas en la red celular. Ngamchuachit y col (2014) utilizaron frutos de diferentes variedades de mango (Tommy Atkins, Kent) que fueron sumergidos en agua caliente (46.1 °C, 70 min) con dos diferentes sales de calcio al 0.4% (lactato de calcio, cloruro de calcio), encontrando que la variedad Kent tratados con TH-LacCa mostró la mayor reducción en la pérdida de electrolitos, a mayor concentración de calcio aplicada, menor era la fuga de electrolitos. El calcio exógeno se difunde hacía el interior por medio de los apoplastos contribuyendo a la estabilidad a la membrana y a mantener la estructura celular. Por otro lado, López-López y col (2018) reportaron que frutos de mango variedad Keitt con TH (46.1 °C, 75-90 min) y 0.5% LacCa presentaban menor lixiviación de electrolitos, lo cual atribuyeron a la participación del lactato de calcio en la unión entre las paredes celulares, a la estabilización y retención de la integridad de la membrana.

### 2. Contenido de malondialdehido (MDA)

Las alteraciones en la conformación y estructura de la membrana son los primeros efectos del DF, afectando la permeabilidad de la membrana. El malondialdehido (MDA) se forma por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados y es un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular (Sevillano y col 2008).

En la **Figura 9** se muestra el contenido de MDA que presentan los frutos de mango dependiendo del tratamiento aplicado. De manera general, se puede observar que el contenido incrementó conforme transcurrieron los días de almacenamiento. A los 10 días a 5 °C, los frutos control presentaron los valores más altos (p<0.05) que el resto



**Figura 9**. Contenido de MDA en pulpa de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de 3 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

de los tratamientos. El aumento del MDA por el uso de un almacenamiento a 5 °C se ha reportado en frutos de tomate y pimiento, atribuido a que el estrés ocasionado por el uso de temperaturas bajas genera una mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno, que dan como resultado una mayor peroxidación de lípidos, lo que incrementa la producción de MDA (Wang y col 2009; Imahori y col 2016). De manera general, los frutos con TH-LacCa mostraron los valores más bajos de MDA durante todo el almacenamiento, registrando diferencia significativa en el día 20+7. El uso de tratamientos previo al almacenamiento genera la acumulación de antioxidantes, impide la acumulación de ERO y provoca una mayor tolerancia al daño por frío al reducir la peroxidación de los lípidos en la membrana (Bassal y col 2011). Resultados similares fueron reportados en frutos de durazno con TH al presentar una menor producción de MDA durante los primeros días de almacenamiento a 4 °C, con respecto al control, lo cual fue atribuido a que el TH reduce el estrés oxidativo y mantiene la fluidez de la membrana (Huan y col 2017); resultados similares fueron obtenidos con frutos de mango (Wang y col 2011), níspero (Zhang y col 2016), tomate (Imahori y col 2017; Salazar-Salas y col 2017) y pera (Wang y col 2018). En otro estudio, frutos de mango tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> mostraron menores síntomas de DF (Ngamchuachit y col 2014; Khaliq y col 2016). De la misma manera, frutos de pimiento tratados hidrotérmicamente con sales de calcio mostraron valores menores de MDA, concluyendo que su uso era importante para prevenir la peroxidación lipídica de la membrana; sugieren que el tratamiento incrementa la capacidad antioxidante del fruto, lo que neutraliza los radicales libres y previene el daño celular (Amini y col 2016; Zhang y col 2019); la capacidad antioxidante se incrementa con la concentración del calcio exógeno, donde el daño a la membrana y el contenido de MDA disminuyen (Bagheri y col 2015). Bagnesari y col (2018) reportaron que frutos de pimiento morrón con TH-CaCl2 mostraron un menor aumento en el contenido de MDA durante el almacenamiento a 5 °C. De tal manera que existe poca información donde se haya hecho el uso de la combinación TH-Ca en frutos de mango y se hayan obtenido bajos contenidos de MDA en los frutos que recibieron esta combinación. Diaz-Corona (2017) mostró que frutos de mango cv. Keitt con TH (46.1 °C, 75-90 min) y LacCa (5%) presentaron un aumento constante en el contenido de MDA desde el día 10 a temperatura baja hasta el final del almacenamiento en maduración (20+7 a 21 °C), valores menores a los registrados para los frutos control, concluyendo que la combinación TH-LacCa ayuda a que se produzcan menos ERO y a mantener la integridad de la membrana celular. De igual manera, López-López y col (2018) aplicaron la combinación TH-LacCa en frutos de mango encontrando que los frutos tratados mantuvieron los valores menores de MDA durante todo el almacenamiento (20 días a 5 °C, más 7 días a 21 °C) en comparación con los frutos no tratados, atribuyendo este comportamiento a que existe un aumento en la capacidad antioxidante, tanto del sistema enzimático como del no enzimático, generado por la combinación TH-LacCa, dando como resultado una menor cantidad de componentes oxidantes que puedan atacar los lípidos de la membrana. Considerando lo reportado para fruto de melón tratado con LacCa (Naser y col 2018), los mejores resultados obtenidos para el TH-LacCa se sugiere está asociado a la mayor difusividad de la sal de lactato hacia el interior de la célula.

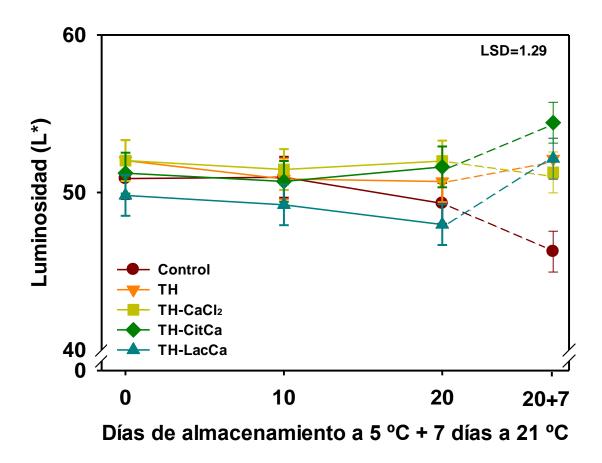
## D. ANÁLISIS DE CALIDAD

### 1. Color externo

### a. Luminosidad

En la Figura 10 se muestran los cambios en la luminosidad de los frutos almacenados a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. De manera general, los diferentes tratamientos no presentaron cambios significativos en los valores de luminosidad respecto al día 0 durante el almacenamiento a 5 °C. Al término del almacenamiento a temperaturas bajas (día 20) los frutos con la combinación TH-LacCa presentaron el valor menor de luminosidad (48), mostrando diferencia significativa (P<0.05) con respecto a los tratamientos TH, TH-CaCl<sub>2</sub> y TH-CitCa. Este comportamiento puede estar asociado a que el uso de la combinación genera un retraso en los procesos fisiológicos, logrando tener una mayor retención de la integridad de la membrana, lo que favorece la reducción de la interacción de enzimas encargadas del oscurecimiento en la cáscara (Fokuda y col 2014). Durante el almacenamiento a 21 °C se presentó una disminución de la luminosidad para los frutos control, mostrando diferencia significativa con los frutos tratados (TH, TH-CitCa y TH-LacCa) que obtuvieron un ligero incremento en la luminosidad, sin mostrar diferencia entre ellos mismos, la combinación TH-CaCl<sub>2</sub> se mantuvo constante. Una disminución en L\* está asociada a un mayor oscurecimiento de la cáscara lo cual pudo deberse a una mayor presencia de síntomas de DF (Wang y col 2009).

La luminosidad de pepino con TH presentó un ligero cambio asociado al retraso en la degradación de la clorofila, por la reducción de la actividad de clorofila oxidasa y la actividad de la peroxidasa (Nasef y col 2018).



**Figura 10**. Luminosidad en cáscara de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de 6 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

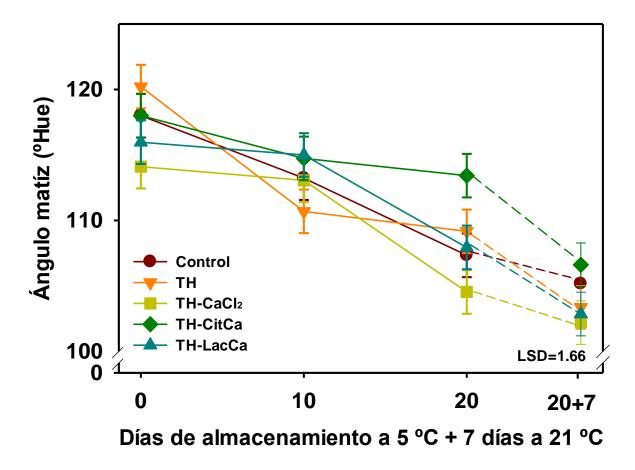
Un comportamiento similar fue fue observado en frutos de tomate con TH, atribuyendo este comportamiento a que la temperatura alta inhibe la síntesis de etileno y por ende se pueden inhibir muchos procesos de maduración, entre ellos el ablandamiento de la fruta, los cambios de color y el desarrollo de aroma (Lu y col 2010).

Contrario a lo visto en este estudio, Chongchatuporn y col (2013) observaron que los frutos control de mango Choke Anan presentaron un incremento de L\* al final del almacenamiento a temperatura ambiente, lo que relacionaron con la degradación de clorofila y el incremento de carotenoides que aportan valores más altos de L\*. En relación con el uso de la combinación TH-sal de calcio, resultados similares a los obtenidos en este trabajo se han observado durante el almacenamiento de temperaturas bajas de melón (Silveira y col 2011), papaya (Yang y col 2016), brócoli (Ben-Fadhel y col 2017) y mango (López-López y col 2018).

# b. Ángulo matiz (°Hue)

El ángulo matiz o tonalidad se genera a partir de los valores de a\* y b\*, donde el parámetro a\* toma valores positivos para colores rojizos y valores negativos para colores verdosos, mientras que el parámetro b\* toma valores positivos para colores amarillentos y valores negativos para colores azulados; el ángulo de matíz se calcula como el arco tangente de b\*/a\* (Ulloa y col 2009).

En la **Figura 11** se puede observar que se presentaron valores de ángulo matiz por arriba de los 100, esto indica que la relación b\*/a\* es negativa debido a que b\* es positiva y a\* es negativa, es decir tenemos colores verde-amarillentos.



**Figura 11**. Cambios en el ángulo matíz (°Hue) en cáscara de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de 6 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

Al inicio del almacenamiento el ángulo toma valores entre 110° y 120° y al final están entre 100° y 110°, el valor absoluto de la relación b\*/a\* es menor al inicio que al final de la maduración, es decir el parámetro b\* se va incrementando en mayor proporción que el valor de a\*; esto claramente representa los cambios que se presentan durante maduración del mango, en su estado de madurez fisiológica predominantemente verde y al final predomina el color amarillo. De acuerdo a la evolución del color, los resultados nos indican que el fruto de mango sigue madurando durante el almacenamiento en frío a la misma velocidad para todos los tratamientos; sin embargo, los mangos con TH-CitCa fueron donde el proceso fue más lento y al final del almacenamiento a 21 °C presentaron el mayor ángulo de matiz. Además, de acuerdo a las tendencias registradas, los mangos con TH-CaCl<sub>2</sub> fueron los que presentaron cambios más drásticos. almacenaron.

La combinación TH-CitCa obtuvo el menor cambio de color durante el almacenamiento a 5 °C, teniendo los valores más altos de °Hue al día 20 (113), con respecto al resto de los tratamientos. Por otra parte, la combinación TH-CaCl2 presentó el mayor cambio de color alcanzando un valor promedio de 104 al día 20, seguido del tratamiento control (107). Al exponer los frutos por 7 días a temperatura ambiente (21 °C), después de 20 días a 5 °C, todos los tratamientos mostraron una reducción en el °Hue, siendo los frutos con la combinación TH-CitCa los que presentaron los valores más altos (108), mostrando diferencia significativa (P<0.05) respecto al TH, TH-CaCl2 y TH-LacCa. La disminución del ángulo matiz respecto al tiempo de almacenamiento se debe a la degradación y a la pérdida de clorofila, provocando que se concentren estos nuevos pigmentos. La mayor retención del

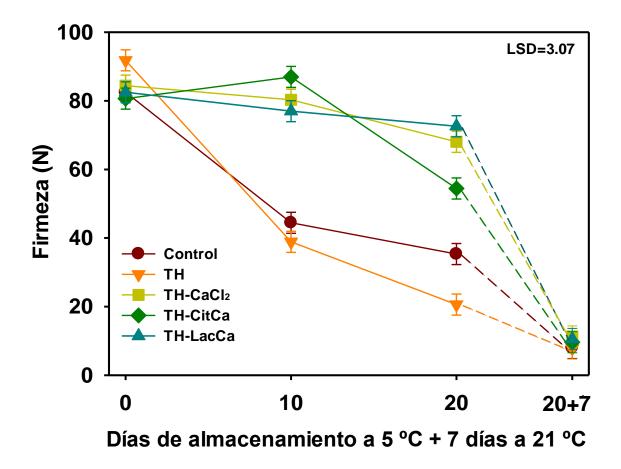
ángulo matiz respecto a la combinación TH-CitCa pudo deberse a que existe un retraso en el metabolismo del fruto, reduciendo la actividad de las enzimas degradadoras de clorofila (López-López 2017).

El incremento en los colores amarillo, naranja y rojo ocurre debido a la degradación de clorofila, en donde los carotenoides son revelados o sintetizados y el uso de un tratamiento TH-Ca ayuda a retener de manera temporal el color verde de la cáscara (Venancio y col 2013; Kaewsuksaeng y col 2015). Aguayo y col (2010) combinaron un tratamiento hidrotérmico con sal de ascorbato de calcio en frutos de manzana encontrando una ligera disminución del °Hue similar a lo visto en este estudio. El uso de cloruro de calcio con un TH en frutos de kiwi generó la mayor retención del ángulo matiz durante su almacenamiento por 90 días a 0 °C comparado con los frutos control, los autores concluyen que probablemente la aplicación de la combinación interrumpe la síntesis normal de proteínas y clorofilasa en las frutas tratadas (Shahkoomahally y col 2015). De la misma manera, frutos de papaya con TH (48 °C; 20 min) y con la sal de cloruro de calcio (1% p / v) presentaron menor disminución del ángulo matiz que los frutos control (Ayón-Reyna y col 2017); mientras que para nectarina, la aplicación de calcio no afecto los cambios del ángulo matiz durante su almacenamiento a 4 °C (Wen y col 2018).

### 2. Firmeza

Después de la cosecha los frutos climatéricos sufren numerosos cambios, incluyendo la perdida de firmeza y consecuentemente el ablandamiento (Barrera y col 2010).

Al inicio del experimento, la firmeza de los frutos se encontró en un rango de 80 a 95 N aproximadamente (Figura 12). En todos los tratamientos se observa una disminución de la firmeza durante el almacenamiento, los cambios más acelerados se presentan para los mangos TH y control, presentando un peor desempeño los TH. Por otro lado, los mangos con TH-sal de calcio presentaron una mayor retención de la firmeza durante el almacenamiento en frío, aunque al final del periodo de maduración, el nivel de ablandamiento fue similar entre todos los tratamientos. Los tratamientos control y TH presentaron una reducción de manera constante y significativa durante los 20 días de almacenamiento a 5 °C, reducción que continuó cuando los frutos fueron transferidos por 7 días a 21 °C. Los cambios en firmeza están relacionados con el deterioro durante la vida poscosecha de los frutos. Esta pérdida se produce a través de 3 mecanismos: pérdida de la turgencia celular, degradación de almidones y ruptura de las paredes celulares que es la más importante en la mayoría de las frutas (Serrano y col 2011). La degradación de la pared celular se asocia con un incremento en la solubilidad de las pectinas a causa de la alteración estructural ocasionada por las temperaturas bajas, estos cambios en la pectina se deben cual, a la activación de una serie de señales, lo que da respuesta al metabolismo del fruto (Mercer y col 1992; Aghdam y col 2013). Para los primeros 20 días de almacenamiento a 5 °C los tratamientos TH-Ca y TH-LacCa mostraron una mayor retención de la firmeza, sin presentar diferencia entre ellos, pero sí con respecto al tratamiento TH-CitCa. Al final del almacenamiento (día 20+7) todos los tratamientos presentaron una disminución significativa de la firmeza (79%) con respecto al almacenamiento previo, siendo los frutos control y TH los que presentaron las mayores pérdidas.



**Figura 12.** Firmeza en pulpa de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) o lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

El TH aun cuando durante todo el almacenamiento presentó la menor firmeza, al final del periodo de maduración mostró valores similares al resto de los tratamientos (7.81 N). Se ha sugerido que el uso de un tratamiento TH con una sal de calcio en poscosecha puede aumentar la rigidez de la pared celular y por ende disminuir la pérdida de firmeza, de tal manera que el TH favorece la activación de las enzimas de la pared celular; dando como resultado residuos de ácidos pécticos libres con los cuales el calcio se une dando como resultado pectatos de calcio, que a su vez mejoran la unión molecular entre los componentes de la pared celular y aumentan la firmeza. De esta manera la actividad de las enzimas que causan la pérdida de la firmeza por la presencia del calcio se ve reducida (Liu y col 2017; Ranjbar y col 2018).

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con lo observado por Salazar-Salas y col (2017), frutos de tomate con TH presentaron mayor pérdida de firmeza respecto al control durante su almacenamiento por 20 días a 5 °C, más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los autores atribuyen este comportamiento a los cambios en la estructura de la pectina lo que provoca un ablandamiento en los frutos. Esto se caracteriza por una disminución en el nivel de pectina insoluble, con un aumento en los sustratos de pectina soluble.

Por otra parte, Silveira y col (2011) reportaron un efecto sinérgico de la combinación de un TH con sales de calcio, encontrando mayor retención de la firmeza en frutos de melón tratados con la combinación TH-Ca en comparación con los no tratados. Así mismo, concuerda con lo observado por López-López y col (2018) en mango tratado con TH (46.1 °C) combinado con lactato de calcio (LacCa),

donde los frutos con el tratamiento mostraron mayor retención de firmeza al estar almacenados por 30 días a 5 °C, atribuyendo este comportamiento a que la sal tiene una mayor capacidad para formar los pectatos de calcio. De la misma forma, frutos de fresa tratados con LacCa y almacenados a 1 °C por 7 días presentaron mayor retención de la firmeza. Para los autores, esta retención a temperaturas bajas se debe a cambios físicos en la pared celular: el frío produce un aumento en la viscosidad de la pectina, lo que tiene un impacto positivo en la firmeza de la fruta (Harris y col 2017). Naser y col (2018) aplicaron la combinación de TH (45 °C x 20 min) y sal de calcio (0.5% y 1% LacCa) en frutos de caqui almacenados a 1 °C por 20 días más un periodo de 3 días a 20 °C, donde la combinación TH-LacCa al 1% obtuvo mayor retención de firmeza que con el TH sólo o en combinación con LacCa al 0.5%. Por otra parte, el uso de un TH (55 °C; 3 min) con diferentes concentraciones de calcio (0.5, 1 y 1.5%) en pimiento morrón, mostró que la mayor concentración retuvo por más tiempo la firmeza en pimiento almacenado a 7 °C por 30 días y 1 día a 20 °C con respecto a las concentraciones más bajas, observándose una mayor resistencia de la pared celular a la degradación de sustancias pecticas, así como una menor actividad enzimática (Barzergar y col 2018).

## E. ANÁLISIS ENZIMÁTICO

El componente principal en la estructura de la pared celular son los poliurónidos pécticos (Payasi y col 2009). La despolimerización y solubilización de poliurónidos pécticos es complicada y se produce como resultado de la coordinación e interacción entre las enzimas modificadoras de la pared celular, incluidas pectinmetilesterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y β-galactosidasa (β-gal) (Seymour y col 2013).

### 1. Actividad de pectinmetilesterasa (PME)

La PME actúa sobre los grupos metilo de la pectina dando como resultado residuos de ácido galacturónico desesterificados (Carvajal y col 2015).

En la Figura 13 se presentan los resultados obtenidos para la actividad de la enzima PME en frutos de mango cv. Keitt almacenados a 5 °C más un periodo de maduración a 21 °C. En esta gráfica se observó un aumento constante en la actividad de PME para todos los tratamientos durante todo el almacenamiento a 5 °C debido al estrés por frío, presentándose valores similares entre los tratamientos al final del almacenamiento, excepto para la combinación TH-CitCa ya que presentó la mayor actividad (0.68) y diferencia significativa con el resto (excepto con TH-LacCa). Al transferir los frutos al periodo de maduración a 21 °C, los diferentes tratamientos mantuvieron constante la actividad de PME, excepto para la combinación TH-CaCl<sub>2</sub> que mostró un aumento en la actividad (0.72) con respecto al almacenamiento previo (0.65), observándose que los frutos control, TH y TH-LacCa obtuvieron la menor actividad. El aumento de la actividad enzimática por la presencia de calcio pudo ser a que se activó la PME por el TH y el calcio se unió a la enzima como cofactor, dando una mayor formación de los pectatos. El calcio, al igual que otros iones metálicos, puede unirse a las enzimas para provocar cambios en una conformación más activa (Anthon y col 2015). Zhang y col (2012) reportaron que la actividad de PME se incrementó con el almacenamiento en frío, siendo más alta en las frutas tratadas con TH respecto a las no tratadas después del almacenamiento refrigerado.

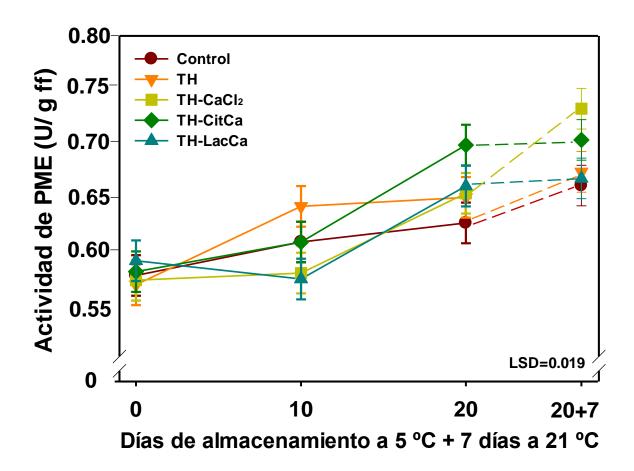


Figura 13. Actividad de la enzima pectinmetilesterasa (PME) en frutos mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Cada punto representa la media de 3 repeticiones y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

Al respecto, Coletta y col (2018) reportaron una disminución en la actividad enzimática de PME durante el almacenamiento a 4 °C para frutos de uva. El usar temperaturas bajas genera una menor actividad enzimática. Khademi y col (2014) reportaron que el uso de un tratamiento hidrotérmico (45 °C, 20 min) para frutos de caqui logró disminuir la actividad de la enzima PME durante el almacenamiento a 1 °C comparado con los frutos no tratados, resultados contrarios a lo visto en esta investigación, atribuyendo este comportamiento a que el tratamiento fue suficiente para generar una desnaturalización de las enzimas y por ende una menor actividad. Referente al uso del calcio, su aplicación en fresa genera una mayor actividad de la enzima tanto para el primer día de su aplicación, como también después de 8 días a temperaturas bajas, su uso genera una mayor expresión de los genes relacionas con la PME dando como resultado una mayor actividad (Langer y col 2019).

Silveira y col (2011) reportaron que el aplicar un tratamiento hidrotérmico con cloruro de calcio al 0.5% por 15 min en frutos de melón genera un incremento en la actividad enzimática de PME durante los días de almacenamiento a 5 °C. Los autores dedujeron que una actividad alta, el calcio y temperaturas altas están altamente correlacionados. Sin embargo, los resultados obtenidos por Beirão y col (2008) difieren de los encontrados en nuestro estudio; ellos informaron que el efecto de la disminución en la actividad de la enzima en kiwi sometido a un tratamiento TH-CaCl<sub>2</sub> (45 °C, 25 min, 3%) se debe a que la presencia de calcio en el tratamiento hidrotérmico reduce la actividad de PME, debido a la formación de los pectatos de calcio. De la misma manera al combinar TH-Ca en frutos de durazno la actividad de la PME se ve minimizada durante su almacenamiento a 20 °C (Manganaris y col

2007). Un estudio previo realizado por Díaz-Corona (2017), estableció que el uso de una combinación de un tratamiento hidrotérmico con la sal de lactato de calcio (46.1 °C, 75 ó 90 min, 0.5%) en frutos de mango cv. Keitt almacenados a temperatura de DF provocó que presentaran valores de actividad de PME más altos con diferencia significativa respecto a los frutos control, atribuyendo este incremento a que el tratamiento TH activa la enzima PME formando ácidos pecticos libres donde los iones de calcio se unen y dan estabilidad a la pared celular. Ranjbar y col (2018) reportaron resultados similares a los nuestros cuando aplicaron agua caliente con ascorbato de calcio (1%) en frutos de manzana, observando un aumento en la actividad de PME conforme transcurría el tiempo de almacenamiento, mostrando diferencia significativa con los frutos control al final del almacenamiento, atribuyendo este comportamiento a que el uso de temperaturas altas permite la activación de la enzima, mientras que el calcio regula su actividad.

### 2. Actividad de poligalacturonasa (PG)

En la actividad de la enzima poligalacturonasa se presentó variabilidad durante el almacenamiento a 5 °C, como se muestra en la **Figura 14.** Al iniciar el experimento se obtuvieron valores de actividad enzimática en un rango de 2.3 a 2.8 U /g ff, siendo los frutos control y los de TH-CitCa los que presentaron la menor actividad. Durante los primeros 10 días de almacenamiento a 5 °C hubo un incremento en la actividad para los frutos tratados con TH-CaCl<sub>2</sub>, mostrando diferencia significativa con el control, mientras que TH presentó la menor actividad (2.4 U de PG/ g ff). Al transcurrir 20 días a temperatura baja los frutos del TH presentaron un incremento significativo en la actividad de PG, mostrando el valor más alto durante todo el

almacenamiento (3.4 U), mientras que la combinación TH-CaCl2 obtuvo la menor actividad mostrando diferencia significativa solo con TH y el control. Referente a esto, ya se ha demostrado que el uso de temperaturas de DF provoca un incremento en la actividad de PG durante el almacenamiento para aquellos frutos que no reciben tratamiento (Martínez-Téllez y col 2002; Brummell y col 2004; Carvajal y col 2015). Cuando los frutos se sometieron al periodo de maduración por 7 días, todos los tratamientos presentaron una disminución en la actividad enzimática siendo las combinaciones TH-CaCl<sub>2</sub> y TH-CitCa las que presentaron la menor actividad, dando que se muestre diferencia significativa (P<0.05) con el control, TH y TH-LacCa. La disminución en la actividad durante el almacenamiento a temperaturas de DF de frutos de mango que recibieron las diferentes combinaciones (TH-sal de calcio) indica que la degradación de la pectina presente en la pared celular se retrasó, lo cual se debe a que el daño que se generó en las células de los frutos por el almacenamiento a temperaturas bajas ocasionó una mayor desintegración celular, por lo que ya no hubo sustrato para la enzima y su actividad disminuyó, dado que la pared celular se encontraba inaccesible para las enzimas degradadoras (Chuni y col 2010). El uso de temperaturas altas antes del almacenamiento a temperaturas de DF también provoca que la membrana disminuya la permeabilidad selectiva, dando lugar a que los cationes como el calcio se mantengan uniéndose en la pared celular, lo que genera un aumento en la retención de la firmeza (Silveira y col 2011). Resultados similares a los del TH fueron reportados previamente por Zhang y col (2012), quienes encontraron que la actividad de PG fue mayor en mango que recibió un tratamiento hidrotérmico (55 °C por 1 min) que, en los frutos no tratados, durante el almacenamiento.

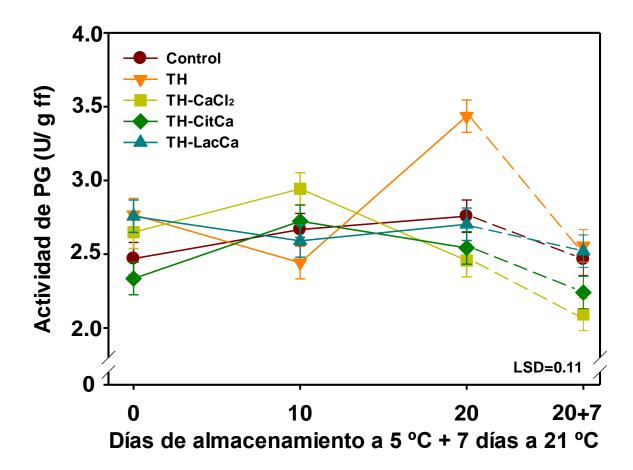


Figura 14. Actividad de la enzima poligalacturonasa (PG) en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Cada punto representa la media de 6 repeticiones. Las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

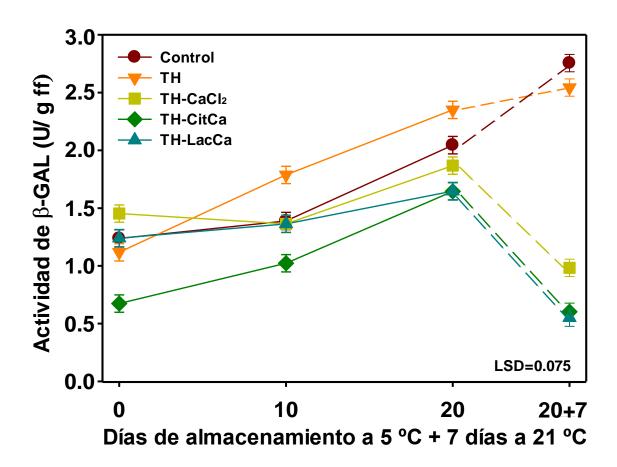
Así mismo coincide con lo reportado por Liu y col (2018) al aplicar un tratamiento hidrotérmico (45 °C por 20 min) en frutos de pera; la actividad de la enzima PG incrementó conforme transcurrió el almacenamiento comparado con el control. Por su parte, Wang y col (2015) usaron un tratamiento hidrotérmico de 60 °C en frutos de mango Ivory obteniendo una menor actividad durante los 10 días de almacenamiento en los frutos tratados con respecto a los frutos control. Sin embargo, los resultados difieren con lo observado por Wei y col (2017). Ellos utilizaron aire caliente en frutos de tomate cherry y encontraron que disminuía la actividad de PG durante 15 días a 20 °C. Atribuyeron este comportamiento a que las temperaturas altas generan una inhibición en la expresión génica y en la actividad enzimática de PG que contribuye al retraso del proceso de ablandamiento de frutas. Este hallazgo apoyó la teoría de que PG es una las principales enzimas que afectan la firmeza en las frutas.

En relación con el uso de la combinación de TH-Calcio, nuestros resultados coinciden con lo reportado por Chuni y col (2010) quienes observaron que el uso de un TH (48 °C por 12 min) y su combinación con cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>, 4%) minimizaba la actividad de PG en frutos de pitahaya. Los resultados obtenidos en esta investigación también coinciden con los obtenidos por Mansourbahmani y col (2017) al observar una menor actividad de PG para frutos de tomate tratados con una combinación TH-CaCl<sub>2</sub> (48 °C por 20 min; 2%) durante el almacenamiento a 7 °C por 28 días, lo que atribuyeron a que los iones calcio hacen que la membrana celular sea estable al unir grupos carboxilato, fosfatos, fosfolípidos y proteínas de la superficie de la membrana. Por lo tanto, la retención de la firmeza en los frutos tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> se debe a la producción de enlaces entre el grupo carboxilo

libre de la pared celular y la cadena de pectina que estabiliza las membranas celulares. Muengkaew y col (2018) encontraron que la tasa de actividad de la PG en mango después de la inmersión en agua caliente (47 °C) con ascorbato de calcio (0.4%) se redujo durante el almacenamiento a 15 °C. Los autores indicaron que este comportamiento es porque el calcio ayuda a retardar la maduración, reducir la tasa de respiración y la senescencia de la fruta. Además, puede ayudar a unir las moléculas de los grupos carboxilo libres de pectina, que son un componente de las paredes celulares que fortalece a las células y evita el deterioro de la lámina media.

### 3. Actividad de la β-galactosidasa (β-GAL)

Durante el almacenamiento a 5 °C se obtuvo un incremento en la actividad enzimática de  $\beta$ -GAL en todos los tratamientos **(Figura 15)**. Los frutos control y los correspondientes al tratamiento TH presentaron los valores mayores de actividad (2 y 2.3 U de  $\beta$ -GAL/ g ff), mostrando diferencia significativa (P<0.05) con las combinaciones TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa que mantuvieron la actividad menor (1.65 y 1.5 U de  $\beta$ -GAL/ g ff). Al transferir los frutos al periodo de maduración (21 °C), los correspondientes a los tratamientos control y TH mantuvieron un incremento en la actividad de  $\beta$ -Gal, siendo superiores en el control. Por otra parte, los frutos que se sometieron a un TH combinado con sal de calcio mostraron una reducción significativa en la actividad, obteniendo TH-LacCa y TH-CitCa la menor actividad (pon valor) y diferencia estadística con el resto de los tratamientos. La disminución de la actividad en los frutos con la combinación podría deberse a que hubo un bloqueo en las ramificaciones del esqueleto de la pectina por la presencia de los iones de calcio para así mantener la fracción unida. La supresión de la actividad de



**Figura 15.** Actividad de la enzima  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -Gal) en frutos de mango cv. Keitt tratados hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Cada punto representa la media de 3 repeticiones y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con un  $\alpha$ =0.05.

 $\beta$ -GAL al inicio de la maduración reduce significativamente el ablandamiento de la fruta, y debido a que  $\beta$ -GAL elimina el residuo  $\beta$ -D-galactosil terminal no reductor del  $\beta$ -D-galactósido, se sugiere que la eliminación de las cadenas de galactósidos pecticos es un factor importante en los cambios de la pared celular para una menor pérdida de firmeza (Paniagua y col 2015). La mayor actividad generada por el tratamiento hidrotérmico afecta la estructura de la pared celular, ya que se promueve la solubilización de la pectina mediante la eliminación de arabinosa y galactosa de las cadenas laterales de la pectina, lo que aumenta el acceso de otras enzimas que se encargan de modificar la pared celular como  $\beta$ -GAL, promoviendo un ablandamiento mayor (Chea y col 2019).

Nuestros resultados concuerdan con lo observado por Ketsa y col (1999) quienes obtuvieron un aumento en la actividad enzimática de  $\beta$ -Gal en frutos de mango por el uso de un tratamiento hidrotérmico (48 °C por 30 min). Otros autores también reportan que la actividad de la enzima fue mayor para mango con TH (50 °C por 10 min) durante el almacenamiento por 15 días a 12 °C, concluyendo que el aumento se debió a una mayor solubilidad de la pectina ocasionada por el TH (Yimyong y col 2011; Ali y col 2014). El aumento de la actividad debido al uso del TH durante el almacenamiento se puede deber al aumento en residuos de las cadenas de la pectina, generando la acción de las enzimas sobre ellos, así como también al incremento en los transcriptores de algunos genes relacionados con las hidrolasas de la pared celular, incluyendo la  $\beta$ -Gal durante el almacenamiento (Yimyong y col 2011; Amnuaysin y col 2012).

Los resultados obtenidos de β-GAL al combinar un tratamiento hidrotérmico con una sal de calcio coinciden con los resultados de firmeza, ya que se presentó una mayor retención de ésta en los frutos tratados con TH-Ca durante el almacenamiento a temperaturas bajas y la actividad de β-GAL se redujo. El uso de calcio fortalece la estructura de las paredes celulares y contrarresta el aumento de la actividad de las enzimas (Alandes y col 2006; Ortiz y col 2011). De acuerdo con Shafiee y col (2010) el uso de agua caliente (45 °C por 10 min) con cloruro de calcio al 1% en fresa logró una disminución en la actividad de β-Gal durante el almacenamiento a temperatura ambiente. Los autores señalan que la presencia de calcio ocasiona un retraso en los procesos de maduración, en los cuales se incluye la pérdida de ácido galacturónico, responsable de la integridad de la pared celular. De igual manera se ha obtenido el mismo comportamiento con el uso de la combinación TH-Ca respecto a la β-Gal en frutos de melón (Silveira y col 2011), cereza (Wang y col 2015) y mango (Muengkaew y col 2018). La actividad de esta enzima, así como las previamente descritas de la pared celular se ve modificada dependiendo del fruto e incluso del cultivar que se evalúe (Díaz-Corona 2017).

No hay que dejar de mencionar que el ablandamiento de los frutos se debe a la acción de un conjunto de enzimas diferentes presentes en la pared celular y que el uso de la combinación de TH-sal de calcio como alternativa para retrasar este comportamiento nos ayudará a mantener la calidad de los frutos por más tiempo.

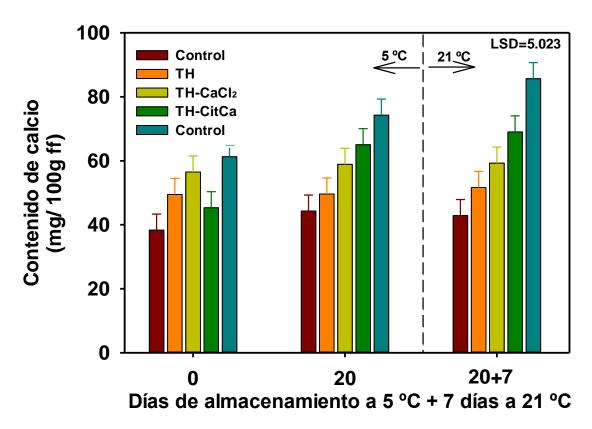
# F. CONTENIDO DE CALCIO EN CÁSCARA

El contenido de calcio se evaluó en la cáscara del mango durante el almacenamiento a temperaturas bajas y el periodo de maduración a 21 °C

(Figura 16). Al inicio del almacenamiento (día 0), los frutos control y TH presentaron los contenidos menores de calcio (38 y 50 mg / 100 g ff, respectivamente); mientras que los frutos que fueron tratados con la combinación TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa presentaron valores significativamente mayores respecto al control (55, 46 y 61 mg/100 g ff), siendo la combinación TH-LacCa la que presento el valor más alto. Al transcurrir 20 días de almacenamiento a temperaturas bajas, el tratamiento control permaneció constante, mientras que en los tratamientos TH-CitCa y TH-LacCa se vió un incremento significativo (65 y 76 mg/ 100 g ff), comparado con el resto de los tratamientos. Al someter los frutos al periodo de maduración a 21 °C, los del control se mantuvieron sin cambios significativos en el contenido de calcio en cáscara, mientras que el resto de los tratamientos (TH, TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa) presentaron un ligero incremento, mostrando diferencia significativa respecto con respecto a frutos control. La mayor concentración de calcio fue para la combinación TH-LacCa, alcanzando valores de 91 mg / 100 g ff, seguido por TH-CitCa y TH-CaCl<sub>2</sub> con valores de 67 y 58 mg / 100 g ff, respectivamente.

El incremento del contenido de calcio al aplicar la combinación TH-LacCa se debe a su mayor capacidad de difusión de los iones de calcio a través de los poros del apoplasto, además el tratamiento por inmersión en agua caliente puede alterar la membrana celular e incrementar la infiltración activa de sustancias como minerales, así como también una mayor fijación del calcio en el tejido, que determina la reducción del ablandamiento.

El efecto positivo del uso de las temperaturas altas ha sido explicado en términos de la activación de la PME que favorece la incorporación del calcio en el tejido (Hemmaty y col 2007; Silveira y col 2011; Ayón-Reyna y col 2017).



**Figura 16.** Contenido de calcio en cáscara de mango cv. Keitt tratado hidrotérmicamente (TH) y su combinación con cloruro de calcio (TH-CaCl₂), citrato de calcio (TH-CitCa) y lactato de calcio (TH-LacCa), durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras representan la media de 3 réplicas y las barras verticales indican el LSD (P ≤ 0.05) mediante la prueba de Fisher.

De acuerdo con Ngamchuachit y col (2014) mientras mayor es la concentración de calcio y más largo es el tiempo de exposición del mango se obtendrán valores más altos de contenido de calcio y la firmeza se verá retenida por más tiempo. De igual manera, para pitahaya, el contenido de calcio en cáscara aumentó conforme incrementó la concentración de la sal de cloruro de calcio aplicada (Awang y col 2011). En frutos de durazno se ha visto que la inmersión del fruto entero en una solución de lactato de calcio favoreció un incremento en el contenido de calcio en el tejido de 50-74% comparado con los frutos no tratados (Manganaris y col 2005). Contrario a los resultados obtenidos en esta investigación, en frutos de Kiwi, la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (45 °C, 20 min) y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>, 3%) no permitió una incorporación del calcio en el tejido, lo cual atribuyeron a que probablemente la presión osmótica de la solución equilibró el efecto del gradiente de temperatura (Beirão-da-Costa y col 2008).

El efecto de las sales sobre el aumento en el contenido de calcio en la cáscara puede ser debido a las diferencias en la solubilidad y a la capacidad de difusión de las sales de calcio (Silveira y col 2011). Al combinar agua caliente y cloruro de calcio en frutos de manzana, el calcio exógeno se difuminó con mayor facilidad hacia el interior de las paredes celulares que cuando se aplicó por sí solo. Los autores atribuyen este comportamiento a que el CaCl<sub>2</sub> tiene una hidrofilicidad muy alta y estando en condiciones de humedad del 90% o superiores ayuda a que los iones se transporten al interior durante el almacenamiento (Hemmanty y col 2007). Amini y col (2016) reportaron que el uso de una concentración de 0.4% de cloruro de calcio es suficiente para ayudar a aumentar hasta un 31% el contenido de calcio en

pimiento durante el almacenamiento a 12 °C. Los resultados obtenidos referente al contenido de calcio en la cáscara de mango concuerdan con los resultados de firmeza, donde se obtuvo mayor retención de la firmeza durante el almacenamiento a 5 °C, mediante el uso de las combinaciones TH-CitCa y TH-LacCa, ya que al existir mayor cantidad de calcio en la cáscara éste se difunde al interior conforme el tiempo transcurre, permitiendo una mayor formación de pectatos de calcio, responsables de dar valores altos en firmeza.

### G. MICROSCOPÍA ÓPTICA

El efecto de los tratamientos TH, TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa sobre la microestructura del tejido de mango se observó por microscopía óptica. Las imágenes demuestran que al inicio del experimento la cutícula y pared celular se mantuvieron intactas para todos los tratamientos (Figura 17 A, C, E, G y I), la estructura de la célula está muy bien definida (Figura 17 B, D, F, H y J). Al transcurrir 20 días de almacenamiento a 5 °C, las fotomicrografías de la sección transversal del tejido de mango de los frutos tratados con TH mostraron que ocurrió un rompimiento de la parte exterior del tejido (Figura 18 C), mientras que el resto de los tratamientos incluido el control no presentó dicho agrietamiento (Figura 18 A, E, G, I), lo cual puede deberse a que el uso del TH (46.1 °C, 75 a 90 min) generó una mayor actividad en el proceso metabólico respecto al uso de la combinación TH-Ca, dando como resultado la activación de las hidrolasas que generan cambios químicos en la pared celular, lo que propicia una mayor desintegración de las células durante el almacenamiento (Jacobi y col 1992; Ortega y col 2008). Existen reportes indicando que el calor genera un estrés que activa las enzimas que provocan cambios

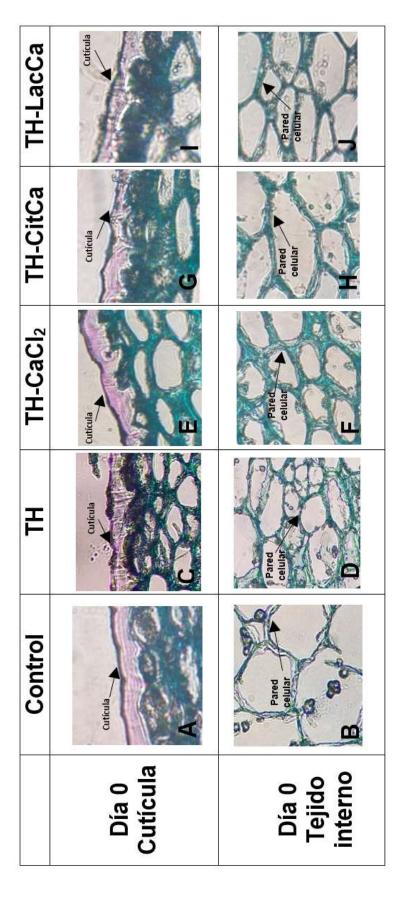


Figura 17. Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de frutos de mangos no tratados (A-B), tratados con TH (C-D), tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> (E-F), tratados con TH-CitCa (G-H) y tratados con TH-LacCa (I-J) al día 0 a 5 °C.

	Control	Ŧ	TH-CaCl <sub>2</sub>	TH-CitCa	TH-LacCa
Día 20 Cutícula	Cutiquis	C currents	Cutterilis	G. Carleula	Conficulty
Día 20 Tejido interno	Pared celular	Paced	Pared Celular Celular F	Paradicipal	Pared celular

Figura 18. Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de frutos de mangos no tratados (A-B), tratados con TH (C-D), tratados con TH-CaCl2 (E-F), tratados con TH-CitCa (G-H) y tratados con TH-LacCa (I-J) al día 20 de almacenamiento a 5 °C.

estructurales del tejido celular (Cisneros- Zeballos 2009; Yuan y col 2013). El uso de microscopia óptica confirmó los resultados obtenidos por el tratamiento TH en los parámetros IDF, %EL y contenido de MDA durante el almacenamiento a temperatura baja. De esta manera se puede reafirmar que el uso de una combinación de TH-Ca ayuda a mantener la integridad de la pared celular y por ende la membrana plasmática dando como resultado menores síntomas de DF en el fruto y una mayor firmeza. Para el día 20+7 (periodo de maduración) se observó mayor daño celular tanto en la parte externa como interna, especialmente en aquellos frutos que fueron tratados sólo con el TH, ya que las paredes celulares de las células internas del tejido presentaron una mayor ruptura (Figuras 19 C-D). Se observaron las diferencias tanto con el tratamiento control como para las tres combinaciones TH-calcio (TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa). Por otra parte, los frutos que fueron sometidos a TH-CaCl<sub>2</sub>, TH-CitCa y TH-LacCa lograron mantener mejor estructura celular hasta el almacenamiento (Figuras 19 A, B, E-J).

La estabilidad de la estructura de la pared celular depende de la cantidad de calcio existente, ya que éste genera la unión del calcio con los componentes pécticos de la pared celular para formar los pectatos de calcio, que al final son los responsables de mantener la estructura (Zamora Alfaro 2012), dicho efecto por el uso de sales de calcio se vio en los resultados de firmeza durante el almacenamiento a 5 °C y las microfotografías (Figura 18 F, H, J) corroboraron que la mayor firmeza se debía a un mayor orden celular en los frutos en los cuales se utilizaron las sales de calcio. Además, el calcio juega un papel muy importante en la adhesión célulacélula, lo cual es significativo para mantener la firmeza de los frutos, ya que la separación de las células junto con el colapso de la integridad del tejido resulta en la

	Control	TH	TH-CaCl <sub>2</sub>	TH-CitCa	TH-LacCa
Día 20+7 Cutícula	A Cultura	Carticula	E Copeula	G Cutterla	Cuticula
Día 20+7 Tejido interno	B Pared	D Pared collust	Pared	Pared celutar	Pared Centriar

Figura 19. Fotografías de microscopía óptica de la sección transversal de frutos de mangos no y tratados con TH-LacCa (I-J) al día 20+7 de almacenamiento, mostrando las paredes celulares tratados (A-B), tratados con TH (C-D), tratados con TH-CaCl<sub>2</sub> (E-F), tratados con TH-CitCa (G-H) rotas.

formación de espacios intercelulares (Madani y col 2016), dicho caso se pudo observar en aquellos frutos que no recibieron sales de calcio (Figura 19 C-D). Ngamchuachit y col (2014) reportaron que la aplicación de cloruro de calcio en frutos de mango ayudó a retener una mayor firmeza que los frutos que no fueron tratados. Estos autores encontraron que, a mayor concentración del cloruro de calcio aplicado, mayor era la firmeza en los frutos, esto debido a que la incorporación del calcio mantiene las paredes del tejido mayormente definidas. Además, Zhao y Wang (2015) reportaron que el uso de cloruro de calcio al 5% en frutos de manzana se observó por microscopía óptica que mantuvo íntegro el tejido durante su almacenamiento a 1 °C, de tal manera que ayudó a las células a permanecer más uniformes, por lo que la firmeza se mantuvo por más tiempo. Shahkoomahally y Ramezanian (2015) emplearon microscopía para demostrar que kiwi con TH y con Ca presentaban una mayor integridad celular, paredes celulares menos degradadas, que los frutos tratados individualmente con TH o con Ca. Estos autores explican que el efecto del tratamiento con calor fue probablemente el resultado de la inactivación de enzimas involucradas en la degradación de la pared celular, lo que mejora la integridad estructural. Como también se ha reportado en frutos de papaya (Ayón-Reyna y col 2017).

## IX. CONCLUSIONES

La aplicación individual del tratamiento hidrotérmico (TH) o su combinación con LacCa resultaron las alternativas más efectivas para inducir tolerancia al DF en frutos de mango almacenados a 5 °C, más 7 días a 21°C.

La combinación TH-LacCa resultó con los valores menores de los índices fisiológicos (electrolitos lixiviados y malondialdehido (MDA)). Además, logró retrasar los cambios en la calidad (color externo y porcentaje de pérdida de peso) y la pérdida de firmeza de los frutos de mango almacenados a 5°C.

Las aplicaciones TH-CaCl $_2$  y TH-LacCa generaron los mejores resultados sobre la actividad de enzimas degradativass de pared celular. El uso de TH-CaCl $_2$  mostró tener menor actividad para la enzima PG, mientras que TH-LacCa sobre las actividades de PME y  $\beta$ -Gal, durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de 7 días a 21 °C.

El contenido de calcio en cáscara de mango cv. Keitt almacenado a 5 °C se observó un incrementó paras las combinaciones, siendo el tratamiento hidrotérmico combinado con LacCa el que presentó el mayor contenido.

La combinación del tratamiento hidrotérmico con las sales de calcio (CaCl<sub>2</sub>, CitCa, LacCa) mantuvo la integridad de la pared celular por más tiempo, siendo TH-LacCa la que mostró el mejor efecto, comparado con los frutos control y TH, durante el almacenamiento a 5 °C.

En general, el uso combinado del tratamiento cuarentenario con lactato de calcio (TH-LacCa) puede ser una estrategia útil para inducir tolerancia al DF, mantener la estructura celular y retrasar la actividad de las enzimas degradativas de la pared

celular; ayudando así a mantener la calidad e incrementar la vida de anaquel de mango cv. Keitt durante su almacenamiento refrigerado.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abd-Elhady M. 2014. Effect of citric acid, calcium lactate and low temperature prefreezing treatment on the quality of frozen strawberry. Annals of Agricultural Science 59: 69-75.
- Acosta-Álvarez JA. 2018. Eco fisiología de poscosecha de frutas y hortalizas. Ingeniería Poscosecha. 30.
- Aghdam MS., Bodbodak S. 2013. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. Scientia Horticulturae 156: 73-85.
- Aghdam MS., Bodbodak S. 2014. Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. Food and Bioprocess Technology 7: 37-53.
- Aguayo E., Escalona V., Artés F. 2008. Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut 'amarillo' melon. Postharvest Biology and Technology 47: 397-406.
- Aguayo E., Requejo-Jackman C., Stanley R., Woolf A. 2015. Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain fresh-cut apple quality. Postharvest Biology and Technology 110: 158-165.
- Akbudak B., Akbudak N., Sniz V., Eris A. 2007. Sequential treatments of hot water and modified atmosphere packaging in cherry tomatoes. Journal of Food Quality 30: 869-910.

- Akhtar A., Akhtar-Abbasi N., Hussain A. 2010. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. Pakistan Journal of Botany 42: 181-188.
- Alandes L., Hernando Y., Quiles A., Pérez Munuera I., Lluch MA. 2006. Cell wall stability of fresh-cut fuji apples treated with calcium lactate. Journal of Food Science 71: 615-620.
- Albornoz K., Cantwell M. I., Zhang L., Beckles D. 2018. Integrative analysis of postharvest chilling injury in cherry tomato fruit reveals contrapuntal spatiotemporal responses to ripening and cold stress. Scientific Reports 9: 275-281.
- Ali Z. M., Chin L. H., Lazan H. 2004. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. Plant Science 167: 317-327.
- Aliaga V., Abel I. 2018. Aplicación Poscosecha de cloruro de calcio en frutos de manzana (*Malus x domestica* Borkh) cv. anna. Repositorio institucional.
   Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Facultad de Agronomía.
   Departamento Académico de Horticultura. 130.
- Amini F., Bayat L., Hosseinkhan S. 2016. Influence of preharvest nano calcium applications on postharvest of sweet pepper (*Capsicum annum*). Nusantara Bioscience 8: 215-220.

- Anjum M., Ali H. 2004. Effect of various calcium salts on ripening of mango fruits.

  Journal of Research (Science). 15: 45-52.
- Anthon GE., Blot L., Barrett DM. 2005. Improved firmness in calcified diced tomatoes by temperature activation of pectinmethylesterase. Journal of Food Science.70: 342–347.
- Amnuaysin N., Jones M. L., Serayphe K. 2012. Changes in activities and gene expression of enzymes associated with cell wall modification in peels of hot water treated bananas. Scientia Horticulturae 142: 98-104.
- Anwar R., Ullah-Mallik A. 2007. Hot water treatment effect ripening quality and storage life of mango. Journal of Agricultural Science 44: 304-311.
- Aponte L., Guadarrama A. 2003. Actividad de las enzimas pectinmetilesterasa, poligalacturonasa y celulasa durante la maduración de frutos de parchita maracuyá (*Passiflora edulis* f. flavicarpa Degener). Facultad de Agronomía Maracay 29:145-160.
- Arriaga V., Manrique V. 2018. Manual de tratamientos cuarentenarios. Agrocalidad.

  1-67. <a href="https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2017/09/MANUAL-DE-TRATAMIENTOS-CUARENTENARIOS.1.pdf">www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2017/09/MANUAL-DE-TRATAMIENTOS-CUARENTENARIOS.1.pdf</a>.
- Ártes F., Ártes-Hernández F. 2002. Daño por frío en la recolección de frutas y hortalizas. Grupo postrecolección y refrigeración. Departamento de ingeniería de alimentos. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, España.

- Awang Y., Azlan M., Ghani A., Sijam K., Mohamad R. 2011. Effect of calcium chloride on anthracnose disease and postharvest quality of red-flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). African Journal of Microbiology 5: 52-59.
- Ayón-Reyna LE., López-Valenzuela JA., Delgado-Vargas F., López-López ME., Molina-Corral FJ., Carrillo-López A., Vega-García MO. 2017. Effect of the combination hot water calcium chloride on the in vitro growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and the postharvest quality of infected papaya. The Plant Pathology Journal 33: 572-581.
- Bagheri M., Esna-Ashari M., Ershadi A. 2015. Effect of postharvest calcium chloride treatment on the storage life and quality of persimmon fruits (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. karaj. International Journal of Horticultural Science and Technology 2: 15-26.
- Bagnazari M., Saidia M., Mohammadib M., Khademic O., Nagaraja G. 2018. Preharvest CaCl2 and GA3 treatments improve postharvest quality of green bell peppers (*Capsicum annum* L.) during storage period. Scientia Horticulturae 240: 258-267.
- Baloch M. K., Bibi F. 2012. Effect of harvesting and storage conditions on the postharvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica L.*) fruit. South African Journal of Botany 83: 109-111.
- Bally SE. 2006. *Mangifera indica* (mango). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry 3: 1-25.

- Barrera JL., Arrazola GS., Cayón DG. 2010. Physical-chemist and physiologic characterization in the harton plantain ripening process in organic and conventional production systems. Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá 59: 20-29.
- Barzegar T., Fateh M., Razavi F. 2018. Enhancement of postharvest sensory quality and antioxidant capacity of sweet pepper fruits by foliar applying calcium lactate and ascorbic acid. Scientia Horticulturae 241: 293–303.
- Bassal M., El-Hamah M. 2011. Hot water dip and preconditioning treatments to reduce chilling injury and maintain postharvest quality of navel and valencia oranges during cold quarantine. Postharvest Biology and Technology 60: 186-191.
- Ben-Fadhel Y., Ziane N., Salmieri S., Lacroi M. 2017. Combined post-harvest treatments for improving quality and extending shelf-life of minimally processed broccoli florets (*Brassica oleracea var. italica*). Food Bioprocess Technology 11: 84–95.
- Beirão-Costa S., Cardoso A., Louro L., Empis J., Moldao-Martins M. 2008. The effect of calcium dips combined with mild heating of whole kiwifruit for fruit slices quality maintenance. Food Chemistry 108: 191-197.
- Bender RJ., Brecht JK., Baldwin EA. 2000. Low temperature controlled atmosphere storage for tree-ripe mangoes. Horticultural Science 509: 447-458.

- Berardini N., Fezer R., Conrad J., Beifuss U., Carle R. 2005. Screening of mango (*Mangifera indica L.*) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. Journal Agricultural and Food Chemistry 53: 1563–1570.
- Berg LR. 2018. Componentes de la pared celular. http://morfo-fisio-vegetal.yolasite.com/resources/PARED%20CELULAR.pdf. Consultado en abril del 2018.
- Brecht KJ., Nascimento-Nunes MC. 2012. Combinaciones de Temperatura-Tiempo que inducen los daños por frío en mangos. Comité de Investigaciones del NMB. 22.www.mango.org/Mangos/media/Media/Documents/Research%20And%20Re sources/Research/Industry/PostHarvest/Chilling\_Injury\_Final\_Report\_Spn.pdf.
- Brummell DA., Harpster MH. 2001. Metabolismo de la pared celular en el ablandamiento y la calidad de la fruta y su manipulación en plantas transgénicas. Plant Molecular Biology 47: 311 339.
- Brummell DA., Dal- Ceed V., Lurie HC., Labavitch JM. 2004. Cell wall metabolism during the development of chilling injury in cold-stored peach fruit: association of mealiness with arrested disassembly of cell wall pectins. Journal of Experimental Botany 55: 2041–2052.
- Caballero-García A. I. 2017. Estudio de las características funcionales y físicoquímicas de harina de piel de mango [Tesis de Maestría]. Orihuela, España. Universidad Miguel Hernández de Elche. 56.

- Carvajal F., Palma F., Jamilen M., Garrido D. 2015. Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. Postharvest Biology and Technology 108: 68-77.
- Casas-Forero N. 2011. Evaluación del efecto de la aplicación de calcio en la estabilidad de melón fresco cortado [Tesis de maestría]. Bogotá, Colombia. Universidad la sabana. 17. http://dspace.umh.es/bitstream/11000/4235/1/TFG%20Caballero%20Garc%C3%ADa%2C%20Ana%20Isabel.pdf.
- Castorena JH., Cano-Hernández M., Fajardo-Herrera E., Robles R. 2012. Inactivación de la poligalacturonasa de tomate con campo eléctrico. Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. 5. https://chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/html/inagbi/index.php?id\_articulo= 1468.
- Chaplin GR., Cole SP., Landrigan M., Nuevo PA., Lam P., Graham D. 1991. Chilling injury and storage of mango (*Mangifera Indica L.*) fruit held under low temperatures. Acta Horticulturae 291: 52. Chea S., Yua D., Park J., Oh H. D., Chung S. W., Lee H. J. 2019. Fruit softening correlates with enzymatic and compositional changes in fruit cell wall during ripening in bluecrop high bush blueberries. Scientia Horticulturae 245: 163-170.
- Chhatpar HS., Mattoo AK., Modi VV. 1971. Biochemical studies on chilling injury in mangoes. Phytochemistry 10: 1007-1009.

- Chuni SH., Awang Y., Mohamed MT. 2010. Cell wall enzymes activities and quality of calcium treated fresh-cut red flesh dragon fruit (*Hylocereuas polyrhizus*).

  International Journal of Agriculture and Biology 12: 713-718.
- Chongchatuporn U., Ktesa S., Van-Doorn WG. 2013. Chilling injury in mango (*Mangifera indica*) fruit peel: Relationship with ascorbic acid concentrations and antioxidant enzyme activities. Postharvest Biology and Technology 73: 80-88.
- Coletta C., Botondi R., Forniti R., Baccelloni S., Bellincontro A., Mencarelli F. 2018.

  Alternating temperature in postharvest cooling treatment of fiano and falanghina grapes affects cell wall enzyme rate, berry softening and polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture 99: 3142-3148.
- Costa F., Peace CP., Stella S., Serra S., Musacchi S., Bazzani M., Sansavini S., Van de Weg WE. 2010. QTL dynamics for fruit firmness and softening around an ethylene-dependent polygalacturonase gene in apple (*malus x domestica* borkh.). Journal of Experimental Botany 61:3029-39.
- Cruz-Mendívil A., López-Valenzuela JA., Calderón-Vázquez CL., Vega-García MO., Reyes-Moreno C., Valdez-Ortiz A. 2015. Transcriptional changes associated with chilling tolerance and susceptibility in micro-tom tomato fruit using RNA-seq. Postharvest Biology and Technology 99: 141-151.
- Demarty M., Morvan C., Theluer M. 1984. Calcium and the cell wall. Plant, Cell and Enviroment 7: 441-448.

- Dea S., Brecht J., Nunes M. 2010. Quality of fresh-cut Kent mango slices prepared from hot water or non-hot water-treated fruit. Postharvest Biology and Technology 56: 171-180.
- Díaz-Corona DA. 2017. Aplicación de un tratamiento hidrotérmico cuarentenariolactato de calcio en mango. Efecto sobre la inducción de tolerancia al daño por frío y la actividad de enzimas degradativas de pared celular [Tesis de Maestría]. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. 140.
- Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and bruising).

  Postharvest Biology and Technology 32: 125–134.
- FAO. 2018. Refrigeración y daño por Frío. http://www.fao.org/docrep/006/Y4893S/y4893s06.htm. Consultado en abril de 2018.
- FAOSTAT. 2019. Food and Agriculture Data. Disponible en <a href="http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC">http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC</a>. Consultado en marzo 2019.
- Fernández P., Verna G., Pat I., Zulia H. 2017. Comportamiento y competitividad del mango de México en el mercado mundial. Centro de Investigación y Servicio en Economía y Comercio Agropecuario. Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 93.
- Florissen P., Ekmana JS., Blumenthal C., McGlassona W., Conroya J., Holford P. 1996. The effects of short heat-treatments on the induction of chilling injury in

- avocado fruit (*Persea americana Mill*). Postharvest Biology and Technology 8: 129-141.
- García-Martínez R., López-Jiménez A., Saucedo-Veloz C., Salazar-García S., Suaréz-Espinosa J. 2016. Maduración y calidad de los frutos de mango Kent con tres niveles de fertilización. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6: 665-678.
- Ghasemnezhada M., Marsh K., Shilton R., Babalara M., Woolf A. 2008. Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in satsuma mandarins: antioxidant enzymes and vacuolar, and pyrophosphatase. Postharvest Biology and Technology 48: 364-371.
- González-Aguilar GA., Gayosso L., Cruz R., Fortiz J., Baez R., Wang C.Y. 2000.

  Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. Postharvest Biology and Technology 18: 19–26.
- Guerrero-López IJ., Mercado-Silva E., Vázquez-Barrios MaE., Súmano-Muñiz O., Escamilla-Obregón PC., Reyes-Ortega R. 2012. Efecto del etefón sobre la maduración de frutos de mango, cv. Keitt y Kent [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Centro de Investigación y Estudios de Posgrado en Alimentos. 5.
- Goncalves-Santos AM., Rodríguez Oliveira L., Silva J. 2015. Low doses of gamma radiation in the management of postharvest (*Lasiodiplodia theobromae*) in mango. Brazilian Journal of Microbiology 46: 841-847.

- González-Castellanos A. 2017. Introducción e inducción al manejo de los frutales y reguladores de crecimiento [Tesis de licenciatura]. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México: Universidad Autónoma del Estado de México. 80.
- Harris M., Llorens MC., Frezza D. 2017. A calcium lactate treatment at harvest, growing system and refrigerated modified atmosphere can affect strawberry's camarosa postharvest quality. Horticultural Science 31: 3-10.
- Hemmaty S., Moallemi N., Naseri L. 2007. Effect of uv-c radiation and hot water on the calcium content and postharvest quality of apples. Spanish Journal Agricultural 5: 59-68.
- Herbario. 2009. El mango. <a href="http://herbariovirtualmgm.blogspot.com/2009/11/el-mango-nombre-cientifico-mangifera.html">http://herbariovirtualmgm.blogspot.com/2009/11/el-mango-nombre-cientifico-mangifera.html</a>. Consultado en mayo del 2018.
- Hernández-Muñoz P., Alemar E., Del-Valle V., Velez D., Gavara D. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry 110: 428-435.
- Hernández-Suarez M., Rodríguez-Rodríguez EM., Delrot S., Lauvergeat V. 2008.

  Chemical composition tomato (*Lycopersicum esculentum*) from Tenerife, the

  Canary Islands. Food Chemistry 106: 1046-1056.
- Hewajulige I., Wilson-Wijeratnam RS., Wijesundera R., Abeysekere M. 2003. Fruit calcium concentration and chilling injury during low temperature storage of pineapple. Journal of the Science of Food and Agriculture 83: 1451-1454.

- Hong S., Lee H., Kim D. 2007. Effects of hot water treatment on the storage stability of Satsuma mandarin as a postharvest decay control. Postharvest Biology and Technology 43: 271-279.
- Huan C., Han S., Jiang L., Juan X., Yub M., Xua Y., Mab R., Yu Z. 2017. Postharvest hot air and hot water treatments affect the antioxidant system in peach fruit during refrigerated storage. Postharvest Biology and Technology 126: 1-14.
- Huang M., Guo Z. 2005. Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. Biology Plantarum 49: 81-84.
- Imahori Y., Takemuraa M., Bai J. 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology 49: 54-60.
- Imahori Y., Bai J., Baldwin E. 2016. Antioxidative responses of ripe tomato fruit to postharvest chilling and heating treatments. Scientia Horticulturae 198: 398-406.
- INFOAGRO. 2018. Cultivo de mango. http://www.infoagro.com/frutas/frutas\_tropicales/mango.htm. Consultado en abril del 2018.
- Jacobi KK., Wong LS. 1992. Quality of kensington mango following hot water and vapour-heat treatments. Postharvest Biology and Technology 1: 349-359.
- Jin P., Zheng Y, Tanga S., Ruia H., Wang Ch. 2009. A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. Postharvest Biology and Technology 52: 24-29.

- Jing Y., Fu M., Zhao Y., Ma L. 2009. Reduction of chilling injury and ultrastructural damage in cherry tomato fruits after hot water treatment. Agricultural Sciences in China 8: 304-310.
- Joyce D., Shorter A., Hockings P. 2001. Mango fruit calcium levels and the effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. Scientia Horticulturae 91: 81-99.
- Kaewsuksaeng S., Tatmalaa N., Srilaong V., Pongprase N. 2015. Postharvest heat treatment delays chlorophyll degradation and maintains quality in Thai lime (*Citrus aurantifolia* Swingle cv. Paan) fruit. Postharvest Biology and Technology 100: 1-7.
- Karakurt Y., Huber D. 2003. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. Postharvest Biology and Technology 28: 219-229.
- Ketsa S., Chidtragool S., Klein J. 1999. Firmness, pectin components and cell wall hydrolases of mango fruit following low temperature stress. Journal of Horticultural Science and Technology 74: 685-689.
- Khaliq G., Mohamed MT., Ali A., Ding P., Ghazali HM. 2014. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera Indica* L.) fruit during low temperature storage. Scientia Horticulturae 190: 187-194.

- Khademi O., Besada C., Mostofi Y., Salvador A. 2014. Changes in pectin methylesterase, polygalacturonase, catalase and peroxidase activities associated with alleviation of chilling injury in persimmon by hot water and 1-MCP treatments. Scientia Horticulturae 179: 191-197.
- Kim Y., Brech J., Talcott S. 2007. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. Food Chemistry 105: 1327-1334.
- Konda L., Martins M., Dutra E., Lima J. 2011. Activity of pectinmethylesterase and β-galactosidase during the ripening of papaya fruits cv. Golden. Revista Brasileira de Fruticultura 33: 733-722.
- Kumah P., Appiah F., Opoku-Debrah JK. 2011. Effect of hot water treatment on quality and shelf-life of Keitt mango. Agriculture and Biology Journal of North America 25: 806-817.
- Langer SE., Marina M., Burgos JL., Martínez GA., Civello P., Villarreal NM. 2019.

  Calcium chloride treatment modifies cell wall metabolism and activates defense responses in strawberry fruit (*Fragaria×ananassa*, Duch). Science of Food and Agriculture 99: 4003-4010.
- Lamikanra O., Watson AM. 2007. Mild heat and calcium treatment effects on freshcut cantaloupe melon during storage. Food Chemistry 102: 1383–1388.

- Liu H., Chen F., Laib S., Taod J., Yang H., Jiaoa Z. 2018. Effects of calcium treatment and low temperature storage on cell wall polysaccharide nanostructures and quality of postharvest apricot (*Prunus armeniaca*). Food Chemistry 225: 87-97.
- Lobos-Álvarez W., Lobos Manríquez T., Pinilla Quezada H. 2011. Effect of calcium applications on the quality of high bush blueberry fruit cv. Elliott. IDESIA 29: 59-64.
- López-López ME. 2017. Cambios en el sistema antioxidante enzimático y no enzimático asociados con la tolerancia inducida al daño por frio en frutos de mango [Tesis de Doctorado]. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. 213.
- 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: 217-223.
- Lu J., Charles M. T., Vigneaulta C., Goyetteb B., Raghavana V. 2010. Effect of heat treatment uniformity on tomato ripening and chilling injury. Postharvest Biology and Technology 56: 155-162.
- Luna-Guzmán I., Cantwell M., Barrett DM. 1999. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl2 dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. Postharvest Biology and Technology 17:201-213.

- Luo, Z., 2006. Extending shelf-life of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit by hot air treatment. European Food Research Technology 222: 149–154.
- Mahmoud GA., Mohamed GA., Botros HW., Sabri MA. 2008. Combined effect of gamma radiation, hot water and sodium bicarbonate on quality and chemical constituents of stored mandarin fruits. Phytopathology and Plant Protection 44: 1115-1127.
- Mahmud S., Zaffar S., hibly A., Monir M. 2015. The effects of CaCl<sub>2</sub> and different calcium salt on mango fruits ripening. Bangladesh Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 4: 210-215.
- Manganaris GA., Vasilakakis M., Diamantidis G. 2005. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. Food Chemistry 100: 1385-1392.
- Mansourbahmani S., Ghareyazie B., Kalatejari S., Mohammadi RS, Zarinnia V. 2017. Effect of post-harvest uv-c irradiation and calcium chloride on enzymatic activity and decay of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit during storage. Journal of Integrative Agriculture 16: 2093-2100.
- Marangoni AG. Jackman RL., Stanley DW. 1996. Membrane effects in postharvest physiology. Postharvest Biology and Technology 7: 1993-217.
- Martínez-Téllez M., Ramos-Clamont M., Gardea A. 2002. Effect of infiltred polyamines on pligalacturonase activity and chilling injury responses in zucchini

- squash (*Cucurbita pepo I.*). Biochemical and Biophysical Research Communications 295: 98-101.
- Martins V., Garcia A., Costa C., Sottomayor M., Geros H. 2018. Calcium- and hormone-driven regulation of secondary metabolism and cell wall enzymes in grape berry cells. Journal of Plant Physiology 231: 57-67.
- Mellado-Vázquez A., Salazar-García S., Treviño-de la Fuente CA., González-Durán JL. 2012. Composición y remoción nutrimental de frutos de mango haden y tommy atkins bajo producción forzada. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3: 788-792.
- Mercer MD., Smittle DE. 1992. Storage atmospheres influence chilling injury and chilling injury-induced changes in cell wall polysaccharides of cucumber. Journal of the American Society for Horticultural Science 117: 930-933.
- Mohd Z., Armugam S., Lazan H. 1995. β-Galactosidase and its significance in ripening mango fruit. Phytochemistry 38: 1109-1114.
- Mohnen D. 2008. Pectin structure and biosynthesis. Plant Biology 11: 266-27.
- Mora-Medina H., Padriona D. 2014. Propuesta de manual andino de tratamientos cuarentenarios. Comunidad Andina. 188.
- Muengkaew R., Whangchai K., Chaiprasart P. 2018. Application of calcium–boron improve fruit quality, cell characteristics, and effective softening enzyme activity after harvest in mango fruit (*Mangifera indica* L.). Horticulture, Environment, and Biotechnology 59: 537–546

- Naser F., Rabieia V., Razavia F., Khademib O. 2018. Effect of calcium lactate in combination with hot water treatment on the nutritional quality of persimmon fruit during cold storage. Scientia Horticulturae 233: 114-123.
- Nasef IN. 2018. Short hot water as safe treatment induces chilling tolerance and antioxidant enzymes, prevents decay and maintains quality of cold-stored cucumbers. Postharvest Biology and Technology 138: 1-10.
- Neta L., Sela N., Yaari M., Prusky D. 2014. De-novo assembly of mango fruit peel transcriptome reveals mechanisms of mango response to hot water treatment.

  BMC Genomics 15: 957.
- Ng A., Waldron K. 1997. Effect of cooking and pre-cooking on cell-wall chemistry in relation to firmness of carrot tissues. Journal of the Science of Food and Agriculture 73: 503-512.
- Ngamchuachit P., Sivertsen H., Mitcham EJ., Barrett DM. 2014. Effectiveness of calcium chloride and calcium lactate on maintenance of textural and sensory qualities of fresh-cut mangos. Journal of Food Science 79: 786-794.
- Niranjana P., Gopalakrishna R., Sudhakar R. 2009. Effect of controlled atmosphere storage (Cas) on antioxidant enzymes and radical scavenging activity of mango (*Mangifera Indica* L.) cv. Alphonso. African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development 9: 779-792.
- Núñez-Sellés AJ., Vélez-Castro HT., Agüero-Agüero J. 2002. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from

- mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in cuba as a nutritional supplement. Journal Agricultural and Food Chemistry 50: 762–76.
- Nyanjage MO., Wainwright H., Bishop CH. 1999. Efectos del tratamiento con agua caliente y la temperatura de almacenamiento en la fuga de mangos de electrolitos (*Mangifera indica* Linn.). Journal of Horticultural and Science Biotechnology 74: 566–572.
- OIRSA. 2018. Servicio Internacional de Tratamientos Cuarentenarios (SITC). https://www.oirsa.org/informacion.aspx?id=82. Consultado en abril del 2018.
- Ornelas-Paz JJ., Yahia EM., Gardea AA. 2013. Changes in external and internal color during postharvest ripening of manila and ataulfo mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography–apcl+-time-of-flight mass spectrometry. Postharvest Biology and Technology 86: 409-417.
- Ortega-Regules A., Ros-García JM., Bautista-Ortín AB., López-Roca JM., Gómez-Plaza E. 2008. Changes in skin cell wall composition during the maturation of four premium wine grape varieties. Journal of the Science of Food and Agricultural 88:420-428.
- Ortiz A., Grael J., Laraa I. 2011. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening Golden Reinders apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. Food Chemistry 128: 1072-1079.
- Paniagua C., Blanco-Portales R., Barceló-Muñoz M., García-Gago JA., Waldron K., Quesada MA., Muñoz-Blanco J., Mercado JA. 2015. Antisense down-regulation

- of the strawberry  $\beta$ -galactosidase gene Fa $\beta$ Gal4 increases cell wall galactose levels and reduces fruit softening. Journal of Experimental Botany 67: 619–631.
- Payasi A., Mishra NN., Chaves AS., Singh R. 2009. The hydrothermal treatment associated with calcium chloride improve banana cv. prata gorutuba quality modulating primary metabolism biochemistry of fruit softening: an overview. Plant Pathology 15: 103–113.
- Pereira-Kechinski C., Sherrer-Montero CR., Zapata-Noreña CP., Tessaro IC., Ferreira-Marczak LD., Bender RJ. 2012. Effects of ozone in combination with hydrothermal treatment and wax on physical and chemical properties of papayas. Ozone: Science and Engineering 34:57-63.
- Porras Gamboa J., Mora Montero J. 2010. Guía para el cultivo de mango en Costa Rica. Instituto Nacional de Innovación en Transferencia en Tecnología Agropecuaria. 62.
- Rahman M., Rahman M., Absar N., Ahsan M. 2011. Correlation of carbohydrate content with the changes in amylase, invertase and galactosidase activity of ripe mango pulp during storage under different temperatures. Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research 46: 443-446.
- Ranjbar S, Rahemi M., Ramezanian A. 2018. Comparison of nano-calcium and calcium chloride spray on postharvest quality and cell wall enzymes activity in apple cv. red delicious. Scientia Horticulturae 240: 57-64.

- Rathore HA., Masud T., Sammi S., Soomro AH. 2007. Effect of storage on physicochemical composition and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) variety dosehar. Pakistan Journal of Nutrition 6: 143-148.
- Resende MJ., Chitarra MI. 2004. Activity of the enzymes pectinmetylesterase and polygalacturonase during the ripening of tomatoes of the multilocular group. Horticultura Brasileira 22: 102-107.
- Rodríguez-Castro JP., Narváez-Cuenca CE., Restrepo-Sánchez LP. 2006.

  Polygalacturonase activity in yellow pitaya peel (*Acanthocereus pitajaya*). Acta

  Biológica Colombiana 11: 65–74.
- Rodríguez-Villanueva SJ., Larios-Medrano I., Campos-Serrano K. 2016. Introducción a la tecnología del mango. Guadalajara, Jalisco, México: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., (CIATEJ). 267.
- SAGARPA. 2019. Producción de mango en Sinaloa en el 2018. http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC\_ 0001-1.a. Consultado en marzo del 2019.
- Sala JM. 1998. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. Postharvest Biology and Technology 13: 255-261.
- 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.
- Saucedo Hernández L., Martínez Damián MT., Colinas León MT., Barrientos-Priego AF., Aguilar Melchor JJ. Aplicaciones foliares de nitrato de calcio en la maduración y daños por frío en aguacate Fuerte. Revista Chapingo Serie Horticultura 11: 149-157.
- Seid A., Tasew D., Tsedaley B. 2016. Effect of hot water treatment on development of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) and quality of mango fruit at jimma southwest Ethiopia. Phytopathology and Plant Protection 50: 303-316.
- Seymour GB., Stergaard L., Chapman NH., Knapp S., Martin C. 2013. Fruit development and ripening. Plant Biology Journal 64: 219–241.
- Serrano M., Umaña G., Sáenz M. 2011. Fisiología poscosecha, composición química y capacidad antioxidante de frutas de pejibaye (*Bactris gasipaes* kunth) cv. tuira darién cosechadas a tres diferentes edades. Agronomía Costarricense 35: 75-87.
- Sevillano L., Sánchez-Ballesta M., Romojaro F., Flores F. 2009. Physiological hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 555-573.
- Shafiee M., Taghavi T. S., Babalar M. 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and

- calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. Scientia Horticulturae 124: 40-45.
- Shahkoomahally S., Ramezanian A. 2015. Hot water combined with calcium treatment improves physical and physicochemical attributes of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) during storage. Horticutural Science 50: 412-415.
- Sharom M., Willemot C., Thompson JE. 1994. Chilling injury induces lipid phase changes in membranes of tomato fruit. Plant Physiology 105: 305-308.
- Sheng L., Zhoua X., Liub Z. L., Wanga J., Zhoua Q., Wanga L. 2016. Change activities of enzymes crucial to membrane lipid metabolism accompany pericarp browning in 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at room temperature. Postharvest Biology and Technology 117: 1–8.
- SIAP. SAGARPA. 2019. Producción agrícola nacional de mango. Disponible en http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\_siap\_gobmx/AvanceNacionalCultivo.d o. Consultado en abril del 2019.
- SIICEX. 2018. Principales países importadores y exportadores de mango. http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?\_page\_=172.17100&\_portletid\_= sfichaproductoinit&scriptdo=cc\_fp\_init&pproducto=118&pnomproducto=Mango. Consultado en agosto del 2018.
- Sila DN., Van Buggenhout, S., Duvetter T., Fraeye I., De Roeck A., Van Loey A., Hendrickx M., 2009. Pectins in processed fruits and vegetables: part II—structure–function relationships. Food Science 8: 86–104.

- Silveira–Gómez AC., Chisari M., Aguayo- Giménez EP., Artes- Calero F. 2011. Some calcium salts reduce polygalacturonase activity and softening in Galia melon minimally processed in fresh. Postharvest Biology and Technology 62: 77-84.
- Silva-Martins E., Ribeiro-Leite R. S., da Silva R., Gomes E. 2013. Purification and properties of polygalacturonase produced by thermophilic fungus thermoascus aurantiacus CBMAI-756 on solid-state fermentation. Enzyme Research: http://dx.doi.org/10.1155/2013/438645.
- Tejacal-Alia I., Colinas-León T., Martíne-Damián T., Soto-Hernández MR. 2002.

  Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey

  (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) durante la poscosecha. Programa

  de Fisiología Vegetal, IREGEP Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado

  de México.
- Trejo-Márquez MA., Fernández-Suárez MR., Sierra-Pérez I., Jiménez S., Calderón M., Eslava C., Wacher M. 2014. Los tratamientos con vapor saturado y aire pueden ser una alternativa viable al tratamiento cuarentenario hidrotérmico en mango. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Centro de Asimilación Tecnológica, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales. Edo. México, México.
- Ulloa JA., Rosas-Ulloa P., Flores JR., Ulloa-Rangel BE., Escalona H. 2009.

  Comportamiento del color en bulbos del fruto de la jaca (*Artocarpus heterophyllus*) auto estabilizados en frascos de vidrio por la tecnología de obstáculos. Ciencia y Tecnología Alimentaria 5: 372-378.

- U.S. Departament of Agriculture (USDA-APHIS). 2014. Treatment schedules. 30 August 2016. https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/import-information/sa\_quarantine\_treatments/ct\_quarantine-treatment.
- Valenzuela JL., Manzano S., Palma F., Carvajal F., Garrido D., Jamilena M. 2017.

  Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: postharvest technological and biotechnological. International Journal of Molecular Science 18: 1467-1493.
- Vázquez-Celestino D., Ramos-Sotelo H., Rivera-Pastrana D. 2016. Effects of waxing, microperforated polyethylene bag, calcium and nitric oxide on firmness and shrivel and weight loss of manila mango fruit during ripening. Postharvest Biology and Technology 111: 398-405.
- Verlent I., Loey A., Smout C., Duvetter T., Nguyen B., Hendrickx M. 2004. Changes in purified tomato pectinmethylesterase activity during thermal and high pressure treatment. Journal of the Science of Food and Agriculture 84: 1839-1847
- Wall-Medrano A., Olivas-Aguirre FJ., Velderrain-Rodríguez GR. 2015. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. Nutrición Hospitalaria 31: 67-75.
- Wang Y., Yang Z. M., Zhang Q. F., Li J. L. 2009. Enhanced chilling tolerance in Zoysia matrella by pre-treatment with salicylic acid, calcium chloride, hydrogen peroxide or 6-benzylaminopurine. Biologia Plantarum 53: 179-182.

- Wang Q., Ding T., Gao L., Pang J., Yang N. 2011. Effect of brassinolide on chilling injury of green bell pepper in storage. Scientia Horticulturae 144: 195-206.
- Wang H., Yang Z., Song F., Chen W., Zhang S. 2015. Effects of heat treatment on changes of respiration rate and enzyme activity of Ivory mangoes during storage. Journal of Food Processing and Preservation 41: 227-235.
- Wang J., Lvc M., Li G., Jiang Y., Fu W., Zhang L., Jib S. 2018. Effect of intermittent warming on alleviation of peel browning of 'Nanguo' pears by regulation energy and lipid metabolisms after cold storage. Postharvest Biology and Technology 142: 99-106.
- Wei Y., Zhou D., Wang Z., Tu S., Shao X., Peng J., Pan L., Tu K. 2017. Hot air treatment reduces postharvest decay and delays softening of cherry tomato by regulating gene expression and activities of cell wall-degrading enzymes.

  Journal of the Science of Food and Agriculture 98: 2105-2112.
- Wen B., Wu X., Boon-Ek Y., Xu L., Pan H., Xu P., Wu Y., Supapvanich S. 2018.

  Effect of honey and calcium dips on quality of fresh-cut nectarine (*Prunus persica* L. Batsch). Agriculture and Natural Resources 52: 140-145.
- Yahia EM. 2003. El comercio Internacional del mango. Mercados y Comercio.

  Universidad Autónoma de Querétaro. 9.

  https://www.researchgate.net/publication/28277946.
- Yang H., Wu Q., Ying L., Wang S. 2016. Effects of vacuum impregnation with calcium lactate and pectin methylesterase on quality attributes and chelate-soluble

- pectin morphology of fresh-cut papayas. Food Bioprocess Technology 10: 901–913.
- Yuen C. 1993. Effect of postharvest calcium and polymeric films on ripening and peel injury in Kensington Pride mango. ASEAN Food Journal 8: 110-113.
- Yimyong S., Datsenka T., Handa A. 2011. Hot water treatment delays ripening-associated metabolic shift in okrong mango fruit during storage. The Journal of Horticultural Science and Technology 136: 441-451.
- Zamora-Alfaro JA. 2012. Estudio de las características funcionales y fisicoquímicas de harina de piel de mango [Tesis de Licenciatura]. Universidad de Costa Rica. 135.
- Zhang Z., Gao Z., Li M. 2012. Hot water treatment maintains normal ripening and cell wall metabolism in mango (*Mangifera indica* L.) fruit. Horticultural Science 47: 1466-1471.
- Zhang Z., Zhu Q., Hu M., Gao Z., An F., Li M., Jiang Y. 2016. Low-temperature conditioning induces chilling tolerance in stored mango fruit. Food Chemistry 219: 76–84.
- Zhang L., Wang J., Zhou B., Lia G., Liu Y., Xia X., Xiao Z., Shu-juan F. 2019. Calcium inhibited peel browning by regulating enzymes in membrane metabolism of nanguo pears during post-ripeness after refrigerated storage. Scientia Horticulturae 244: 15-21.

Zhao Y, Wang C. 2015. Effect of calcium chloride in combination with salicylic acid on post-harvest freshness of apples. Food Science Biotechnology 24:139-146.

## **ABREVIATURAS**

β-Gal	Betagalactosidasa
μL	Microlitro (s)
μg	Microgramo (s)
μm	Micrómetro
μmol	Micromol (es)
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
DF	Daño por frío
Ca	Calcio
cm	Centímetro
col	Colaboradores
EUA	Estados Unidos de América
g	Gramo
g ff	Gramos de fruto fresco
h	Hora
IDF	Índice de daño por frío
Kcal	Kilocaloría
kg	Kilogramo
L	Litro
LSD	Diferencia mínima significativa (Least Significant Difference)
М	Molar
MDA	Malondialdehído
min	Minuto (s)
mg	Miligramo (s)
mL	Mililitro (s)
N	Newton
nm	Nanómetro
NaCl	Cloruro de sodio
рН	Potencial de hidrógeno

Pectinmetilesterasa **PME** PG Poligalacturonasa Partes por millón ppm s Segundo TH Tratamiento hidrotérmico Ton Tonelada (s) Ton / ha Toneladas por hectárea ٧ Volumen