



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología
Doctorado en Ciencias en Biotecnología

**Cambios en el Sistema Antioxidante Enzimático y
no Enzimático Asociados con la Tolerancia
Inducida al Daño por Frío en Frutos de Mango
(*Mangifera indica* L.)**

T E S I S

que presenta

Martha Edith López López

Como requisito para obtener el grado de

**Doctora en Ciencias en Biotecnología de
Alimentos**

Directores de tesis

Dr. Misael Odín Vega García

Dr. José Ángel López Valenzuela

Culiacán Rosales, Sinaloa, México

Noviembre de 2017.

La presente investigación, titulada **Cambios en el Sistema Antioxidante Enzimático y no Enzimático Asociados con la Tolerancia Inducida al Daño por Frío en Frutos de Mango (*Mangifera indica* L.)** se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Como asesores académicos participaron: Dr. Misael Odín Vega García (Director de Tesis), Dr José Ángel López Valenzuela (Director de Tesis), Dr. Francisco Delgado Vargas, Dra. Gabriela López Angulo y Dr. Armando Carrillo López. El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) apoyó a la MC Martha Edith López López, a través de Beca para Estudios de Doctorado 20013-2016 (225509).

*“No es más grande quien NUNCA falla
si no el que NUNCA se da por vencido”*

Anónimo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y al programa de **Doctorado en Ciencias en Biotecnología**, por permitirme formar parte de su programa y cumplir una más de mis metas planteadas.

Al **Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada para la realización de este estudio.

A mis directores de tesis al **Dr. Misael O. Vega García** y **Dr. José Ángel López Valenzuela**, por confiar en mí para desarrollar este proyecto y por las asesorías proporcionadas. Por aguantar tantos momentos de estrés junto a mí.

A mis asesores, **Dr. Francisco Delgado**, **Dra. Gabriela López** y **Dr. Armando Carrillo**, por siempre orientarme en todas las dudas que surgieron durante el proyecto. Y en especial a la **Dra Gabriela** que me aconsejó no solo en la cuestión académica sino en lo personal. Gracias por ser más que una asesora, una gran amiga que agradezco de corazón.

A mis compañeros de laboratorio, **Eslim, Jorge, Blanca, Ma. Fernanda, Lidia, Feliznando, Jordi, Carlos, Claudia, Denisse Díaz, Sady, Dennise Chairez y Yesenia**, por todo el apoyo que siempre recibí y recibo a diario. Por todas esas horas de trabajo de laboratorio en las que aun cuando ya no podíamos seguíamos trabajando. Por todos esos momentos divertidos que pasamos no solo en el laboratorio. Gracias infinitas por siempre estar ahí, saben que siempre les tendré una gran estima ya que son más que compañeros, son una hermosa familia.

A **Ivon** que siempre haz sido una gran amiga y que me apoyaste en todo este largo camino que parecía inalcanzable, gracias por siempre haber mantenido la fé en mí, gracias por incluirme en tu familia como uno más de ellos. Gracias por ser parte de mi vida.

A mis amigas **Jhoana, Dulce, Analí** y mi coma **Pech**, gracias por estar ahí en todo momento apoyándome y alentándome a que sí se podía. Este logro lo

comparto con ustedes que han sido parte importante en mi vida desde hace más de 16 años.

A mis padres **Héctor** y **Chayito** por que han estado siempre orgullosos de mí aun sin saber si lo merezco, solo espero que no los haya defraudado y que realmente sea merecedora de su sentir hacia mí. Los AMO con todo mi corazón y esto es para ustedes.

A mi suegro **Don Ramón** le doy las gracias por que siempre se preocupa por que estemos bien, gracias por todo su apoyo en este camino. **A mi suegra**, mi angelote que está en el cielo o más allá le doy infinitas gracias por que me alentó a que esto sería posible, por que nunca perdió la fé en mí y por que siempre me dio más que su cariño; te amo por siempre y para siempre, me haces mucha falta y jamás podré llenar ese vacío que dejaste en mí.

A mis hermanos **Vianey** y **Hector Fabián** por estar apoyándome siempre. Lamento que no haya estado con ustedes en muchos momentos importantes pero espero aprovechar el resto de mi vida disfrutando de buenos momentos a su lado.

A **Valentina, Raulito** y **Valeria**, los amo con todo mi corazón, han sido uno de los regalos más hermosos que la vida me pudo dar como tía y madrina. Espero poder apoyarlos en sus sueños siempre.

A mis ahijados **Natalya, Mariana** e **Ivan** que sin ustedes pedirlo formo parte importante de su vida y ustedes de la mía.

Y por supuesto a **mi esposo** que sin él nada de esto hubiera sido posible. Gracias amor por todos esos momentos en los que no solo fuiste mi esposo, sino un amigo y mi apoyo incondicional en los momentos de desesperación, llanto, decepciones, angustias, pero sobre todo en los momentos de logros y triunfos. Gracias por soportar todo este tiempo sin las atenciones que te merecías. Amo los momentos en los que siempre buscaste hacerme sonreír cuando era lo que menos quería. Por siempre TE AMO y te estaré agradecida.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	5
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA	9
A. MANGO	9
1. Aspectos botánicos	9
2. Composición química y nutricional	10
3. Producción de mango	14
a. Producción mundial	14
b. Producción nacional	14
c. Producción estatal	17
4. Madurez e índice de cosecha	17
5. Manejo poscosecha del mango	20
B. DAÑO POR FRÍO (DF)	21
1. Síntomas de daño por frío	22
2. Respuesta al daño por frío	24
a. Disfunción de la membrana plasmática	24
b. Estrés oxidativo	26
3. Sistema antioxidante enzimático	28
a. Superóxido dismutasa (SOD)	28
b. Catalasa (CAT)	30
c. Ascorbato peroxidasa (APX)	31
d. Glutación reductasa (GR)	32
e. Peroxidasa (POD)	33
4. Sistema antioxidante no enzimático	34
a. Ácido ascórbico	35
b. Carotenoides	35
c. Polifenoles	36
5. Tolerancia inducida al daño por frío	38

a. Tratamientos térmicos	38
b. Aditivos químicos	40
IV. JUSTIFICACIÓN	42
V. HIPÓTESIS	43
VI. OBJETIVOS	44
A. OBJETIVO GENERAL	44
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	45
A. ESTRATEGIA GENERAL DE TRABAJO	45
B. PRIMERA ETAPA: SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO POR FRÍO EN CINCO CULTIVARES DE MANGO	46
1. Materiales	46
a. Materia prima	46
2. Metodología	46
a. Índice de daño por frío (IDF)	46
b. Parámetros de calidad	47
1) Color	47
2) Firmeza	47
3) Sólidos solubles totales (SST)	47
c. Compuestos bioactivos	47
1) Compuestos fenólicos totales (CFT)	48
2) Flavonoides totales	48
d. Capacidad antioxidante	49
1) Método de DPPH	49
2) Método de ABTS	49
3) Método de ORAC	50
e. Diseño estadístico primera etapa	50
C. SEGUNDA ETAPA: EFECTO DE LA COMBINACIÓN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO Y TRES DIFERENTES SALES DE CALCIO SOBRE LA TOLERANCIA AL DF EN MANGO KEITT	51
1. Preliminar	51

2. Materiales	51
a. Materia prima	51
3. Metodología	52
a. Porcentaje de pérdida de peso (%PP)	52
b. Índice de daño por frío	52
c. Índices fisiológicos	52
1) Porcentaje de electrolitos lixiviados (%EL)	52
d. Parámetros de calidad	53
1) Color, firmeza y SST	53
2) pH y AT	53
e. diseño estadístico segunda etapa	53
D. TERCERA ETAPA: EFECTO DEL TH CUARENTENARIO Y LACTATO DE CALCIO (LacCa) SOBRE LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE MANGO KEITT	54
1. Materiales	54
2. Métodos	54
a. Índice de daño por frío	54
b. Índices fisiológicos	54
1) % de electrolitos lixiviados (%EL)	54
2) Contenido de malondialdehído (MDA)	55
3) Actividad de lipoxigenasa (LOX)	55
c. Parámetros de calidad	56
d. Determinación del sistema antioxidante no enzimático en respuesta al estrés por frío	56
1) Fenólicos totales y flavonoides totales	56
2) Ácido ascórbico (AA)	56
3) Carotenoides totales	57
e. Determinación de la actividad de enzimas del sistema antioxidante	57
1) Actividad de superóxido dismutasa (SOD)	57
2) Actividad de catalasa (CAT)	58

3) Actividad de ascorbato peroxidasa (APX)	58
4) Actividad de glutatión reductasa (GR)	59
5) Actividad de peroxidasa (POD)	59
f. Capacidad antioxidante	60
1) Métodos DPPH y ABTS	60
g. Diseño estadístico tercera etapa	60
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
A. PRIMERA ETAPA: SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO POR FRÍO EN CINCO CULTIVARES DE MANGO	61
1. Índice de daño por frío (IDF)	61
2. Parámetros de calidad	64
a. Color	64
1) Luminosidad (L*)	64
2) Parámetro b*	68
3) Ángulo de matiz (°HUE)	70
b. Firmeza	73
c. Sólidos solubles totales (SST)	76
3. Compuestos bioactivos	78
a. Compuestos fenólicos totales (CFT)	79
b. Flavonoides totales	81
4. Actividad antioxidante	83
B. SEGUNDA ETAPA: EFECTO DE LA COMBINACIÓN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO Y TRES DIFERENTES SALES DE CALCIO SOBRE LA TOLERANCIA AL DF EN MANGO KEITT	88
1. Porcentaje de pérdida de peso (%PP)	88
2. Índice de daño por frío (IDF)	91
3. Índices fisiológicos	96
a. % de electrolitos lixiviados (%EL)	96
4. Parámetros de calidad	99
a. Color	99
1) Luminosidad (L*)	99

2) Parámetro b*	100
3) Ángulo de matiz (°Hue)	102
b. Firmeza (N)	103
c. Sólidos solubles totales (SST)	106
d. pH	110
e. acidez titulable (AT)	110
C. TERCERA ETAPA: EFECTO DEL TH CUARENTENARIO Y LACTATO DE CALCIO (LacCa) SOBRE LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE MANGO CULTIVAR KEITT	114
1. Índice de daño por frío (IDF)	114
2. Índices fisiológicos	119
a. % de electrolitos lixiviados (%EL)	119
b. Nivel de malondialdehído (MDA)	122
c. Actividad de la enzima lipoxigenasa (LOX)	126
3. Parámetros de calidad	129
a. Color	129
1) Luminosidad (L*)	129
2) Cromo (C)	131
3) Ángulo de matiz (°Hue)	132
b. Firmeza (N)	133
c. Sólidos solubles totales (SST)	136
d. pH	139
e. Acidez titulable (AT)	141
4. Respuesta del sistema antioxidante no enzimático al estrés por frío en cáscara y pulpa de mango	143
a. Fenólicos totales	143
b. Flavonoides totales	148
c. Ácido ascórbico (AA)	150
d. Carotenoides totales	152
5. Actividad de enzimas del sistema antioxidante en respuesta al estrés por frío	155

a. Actividad de superóxido dismutasa (SOD)	155
b. Actividad de catalasa (CAT)	159
c. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX)	162
d. Actividad de glutatión reductasa (GR)	167
e. Actividad de peroxidasa (POD)	169
6. Actividad antioxidante	172
IX. CONCLUSIONES	180
X. BIBLIOGRAFÍA	181
XI. ABREVIATURAS	209
ANEXOS	213

ÍNDICE DE CUADROS

Núm	Descripción	Pág
1	Composición química de pulpa de mango por cada 100 g de peso fresco	12
2	Principales países productores de mango en el 2014	15
3	Principales estados productores de mango en el 2017 (temporal + riego)	16
4	Producción estatal (temporal + riego) de frutos de mango 2016	18
5	Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y maduración por 7 días a 21 °C sobre el contenido de compuestos bioactivos en cáscara de mango Keitt.	145
6	Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y maduración por 7 días a 21 °C sobre el contenido de compuestos bioactivos en pulpa de mango Keitt	146
7	Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y la maduración a 21 °C sobre la capacidad antioxidante en cáscara y pulpa de mango Keitt.	174
8	Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en cáscara de mango	175
9	Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en pulpa de mango	175

ÍNDICE DE FIGURAS

Núm	Descripción	Pág.
1	Estructura del fruto de mango	11
2	Índice de maduración de frutos en diferentes cultivares de mango	19
3	Síntomas de daño por frío en mango	23
4	Mecanismo de acción del sistema antioxidante enzimático	29
5	Estrategia general de trabajo utilizada para la selección del cultivar y la combinación TH-sal de calcio que proporcionó la mayor tolerancia al DF en los frutos de mango	45
6	Índice de daño por frío en frutos de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 8 °C (C) más 7 días a 21 °C (B y D)	62
7	Síntomas visibles de daño por frío en cinco diferentes cultivares de mangos almacenados a 5 (A) y 8 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (C y D)	63
8	Luminosidad en cáscara (A, B, C) y pulpa de mango (D, E, F) durante el almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas), respectivamente, más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas)	65
9	Imágenes de color interno en pulpa de diferentes cultivares de mango después de un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	67
10	Parámetro b* de cáscara (A, B, C) y pulpa de mango (D, E, F) durante el almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas)	69
11	Ángulo de matiz de cáscara (A, B, C) y pulpa de mango (D, E, F) durante el almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas)	72
12	Firmeza de mango durante el almacenamiento a 5 (A), 8 (B) y 13 °C (C) (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas)	74
13	Sólidos solubles totales (SST) en pulpa de mango durante el	

	almacenamiento a 5 (A), 8 (B) y 13 °C (C) (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas)	77
14	Compuestos fenólicos totales (CFT) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 13 °C (B) más 7 días a 21 °C	80
15	Flavonoides totales en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 13 °C (B) más 7 días a 21 °C	82
16	Capacidad antioxidante por los métodos DPPH (A, B), ABTS (C, D) y ORAC (E, F) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 y 13 °C más 7 días a 21 °C	85
17	Porcentaje de pérdida de peso (%PP) en frutos de mango durante el almacenamiento a temperaturas bajas (5 y 13 °C)	89
18	Índice de daño por frío en frutos de mango Keitt durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días a 21°C (B)	93
19	Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango Keitt almacenados durante 30 días a 5 °C	94
20	Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenados a 5 °C más 7 días a 21 °C	95
21	Porcentaje de electrolitos lixiviados durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días de almacenamiento a 21 °C (B)	97
22	Luminosidad (A, B), parámetro b* (C y D) y ángulo de matiz (E y F) en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C	101
23	Firmeza (N) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B)	104
24	Sólidos solubles totales en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días a 21 °C (B)	108
25	pH en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C(A) más 7 días a 21 °C (B).	111
26	Acidez titulable en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C	

	(A) más 7 días a 21 °C (B).	112
27	Índice de daño por frío (IDF) en frutos de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B)	115
28	Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenado a 5 °C. Se indican los diferentes tratamientos (control, TH, LacCa y TH-LacCa)	116
29	Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenado a 5 °C más 7 días a 21 °C. Se indican los tratamientos (control, TH, LacCa y TH-LacCa) en la parte superior de las imágenes	117
30	Lixiviación de electrolitos en cáscara (A, B) y pulpa (C, D) de mango durante el almacenamiento a 5 °C y 21 °C	120
31	Efecto de diferentes tratamientos en el contenido de MDA en cáscara (A y B) y pulpa (C y D) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	124
32	Actividad de LOX en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	127
33	Parámetro de luminosidad (A, B), cromaticidad (C, D) y ángulo de matiz (E, F) en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	130
34	Firmeza de la pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B)	134
35	Sólidos Solubles Totales de pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B).	137
36	Parámetro de pH en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B)	140
37	Acidez titulable en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B)	142

38	Actividad de la enzima SOD en cáscara (A) y pulpa (B) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración a 21 °C por 7 días	156
39	Actividad de Catalasa (CAT) en cáscara (A) y pulpa (B) de mango almacenada a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	160
40	Actividad de Ascorbato Peroxidasa (APX) en cáscara (A) y pulpa (B) de mango almacenada a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C	163
41	Actividad de la enzima GR en cáscara (A) y pulpa de mango (B) durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C	166
42	Actividad de la enzima POD en cáscara (A) y pulpa (B) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C	170

I. RESUMEN

El mango es uno de los frutos tropicales de mayor consumo en el mundo, pero su comercialización se ve limitada debido a su corta vida poscosecha. El almacenamiento a temperaturas bajas permite reducir su actividad metabólica y extender su vida de anaquel. Sin embargo, temperaturas por debajo de los 13 °C pueden generar daño por frío (DF), un desorden fisiológico que se intensifica conforme disminuye la temperatura y aumenta el tiempo de exposición. La aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) previo al almacenamiento a temperatura baja ha logrado reducir la sensibilidad a este desorden en diversos frutos, pero el uso de temperaturas altas por tiempos prolongados suele ser perjudicial, ya que puede provocar desórdenes metabólicos como ablandamiento excesivo del fruto. En este sentido, la combinación de un TH con sales de calcio puede ser benéfico para incrementar la tolerancia al DF y mantener la calidad en frutos de mango. Sin embargo, no existe suficiente información sobre la susceptibilidad al DF en mango y el efecto del tratamiento hidrotérmico cuarentenario solo o en combinación con sales de calcio para generar tolerancia a este desorden, por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de dichos tratamientos en la tolerancia al daño por frío (DF), así como en parámetros fisiológicos [electrolitos lixiviados (%EL) y producción de malondialdehído (MDA)], sistema antioxidante enzimático (SOD, CAT, APX, GR y POD) y no enzimático (fenólicos totales, flavonoides, ácido ascórbico y carotenoides), y actividad antioxidante (ABTS, DPPH) durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración. Como estrategia general el trabajo se dividió en tres etapas, donde primeramente se realizó un estudio de susceptibilidad al DF de diferentes cultivares de mango de importancia comercial; posteriormente se escogió la concentración y tipo de sal de calcio que generó la mayor tolerancia al DF en combinación con el tratamiento hidrotérmico y por último se evaluó el efecto de estos tratamientos sobre parámetros fisiológicos (%EL y MDA), sistema antioxidante (enzimático y

no enzimático) y capacidad antioxidante durante el almacenamiento a temperaturas de DF y un periodo posterior de maduración. La susceptibilidad al DF estuvo fuertemente relacionada con el cultivar, la temperatura y el tiempo de exposición, siendo el cultivar Keitt el que presentó el mayor índice de DF (IDF) a 5 y 8 °C, mientras que Ataulfo resultó ser el cultivar más tolerante, presentando a su vez el mayor contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) a 5 °C (daño por frío) y 13 °C (temperatura óptima). La aplicación de un TH combinado con LacCa (0.5%, p/v) resultó en mayor tolerancia al DF, menor %EL y mayor retención de la firmeza con respecto a las combinaciones TH-CitCa y TH-CaCl₂ evaluadas a la misma concentración de sal. La aplicación del TH solo o la combinación TH-LacCa fue más efectiva que el LacCa solo en proveer tolerancia al DF, evidenciado por una menor incidencia de síntomas de daño por frío, así como menor %EL y MDA tanto en cáscara como en pulpa. La actividad de la enzima LOX fue menor para TH durante el DF en cáscara de mango, pero similar a LacCa y TH-LacCa después del periodo de maduración. Los tratamientos TH-LacCa y TH incrementaron el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides en cáscara y pulpa de mango, lo cual se correlacionó con un aumento en la capacidad antioxidante. La actividad de las enzimas SOD, CAT y APX se incrementó en cáscara de frutos de mango con TH-LacCa, mientras que en pulpa solo las actividades de SOD y APX aumentaron por dicho tratamiento. El uso de LacCa incrementó la actividad de GR en ambos tejidos durante la maduración, mientras que la actividad de POD aumentó en cáscara durante el almacenamiento en frío (5 °C) y en pulpa a 21 °C. Estos resultados sugieren que la combinación TH-LacCa proporcionó tolerancia al DF en los frutos de mango Keitt mediante la activación de los sistemas antioxidantes enzimático y no enzimático, manteniendo por más tiempo la calidad de los frutos.

ABSTRACT

Mango is one of the most widely consumed tropical fruits in the world, but its commercialization is limited by its short postharvest life. Storage at low temperatures allows to reduce its metabolic activity and to extend its shelf life. However, temperatures below 13 °C can induce chilling injury (CI), a physiological disorder whose incidence increases as the the temperature decreases and the time of exposure increases. The application of a hydrothermal treatment (HT) before storage at low temperature has been effective to reduce the sensitivity to this disorder in several fruits, but the use of high temperatures for long periods of time is usually detrimental since it can cause metabolic disorders such as excessive fruit softening. In this regard, the combination of HT with calcium salts can be useful to increase the CI tolerance and to maintain the quality of mango fruit. Nevertheless, there is not enough information about the susceptibility to CI in mango fruit and the effect of the quarantine hot water treatment, either alone or in combination with calcium salts, to provide tolerance to this disorder, so the objective of this research was to evaluate the effect of these treatments on CI tolerance, as well as in physiological parameters [electrolyte leakage (%EL) and malondialdehyde (MDA) production], enzymatic (SOD, CAT, APX, GR, POD) and non-enzymatic (phenolics, flavonoids, ascorbic acid and carotenoids) antioxidant system and antioxidant capacity (ABTS, DPPH) during storage at 5 °C plus a ripening period. As a general strategy, the study was divided into three stages, starting with the analysis of the CI susceptibility of different commercial cultivars of mango, followed by selection of the type and concentration of calcium salt that provided the best CI tolerance in combination with HT and finally, the effect of the selected treatments on physiological parameters (%EL and MDA), antioxidant system (enzymatic and non-enzymatic) and antioxidant capacity was evaluated during storage at CI temperatures and subsequent ripening. The CI susceptibility was strongly related to the cultivar, temperature and time of

exposure, being the cultivar Keitt the one that showed the highest CI index at 5 and 8 °C, whereas Ataulfo was the most tolerant cultivar, presenting the highest content of phenolics compounds, flavonoids and antioxidant capacity by ABTS and DPPH at 5 °C (chilling injury) and 13 °C (optimum temperature). The application of a HT combined with LacCa (5%, w/v) provided greater CI tolerance, lower %EL and higher firmness retention with respect to the combined treatments HT-CitCa and HT-CaCl₂ evaluated at the same concentration. The application of the HT alone or combined with LacCa was more effective than LacCa in providing CI tolerance as evidenced by a lower incidence of CI symptoms, as well as lower %EL and MDA in peel and pulp. The LOX enzymatic activity was lower for HT during CI, but similar to those of LacCa and HT-LacCa treatments after ripening. The treatments HT-LacCa and HT increased the content of phenolic compounds, flavonoids and carotenoids in peel and mango pulp, which correlated with an increase in antioxidant capacity. The activity of SOD, CAT and APX enzymes increased in mango peel in response to HT-LacCa, whereas in mango pulp only the activities of SOD and APX increased for this treatment. The use of LacCa increased GR activity in both tissues during ripening, whereas the activity of POD increased in the peel during cold storage (5 °C) and in the pulp at 21 °C. These results suggest that the combination HT-LacCa provided CI tolerance to 'Keitt' mango by activation of the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems, maintaining the fruit quality for longer time.

II. INTRODUCCIÓN

El almacenamiento a temperaturas bajas es muy utilizado en el manejo poscosecha para prolongar la vida de anaquel del fruto ya que la refrigeración limita los procesos físicos y bioquímicos que ocurren en su interior, así como la proliferación microbiana, manteniendo la calidad organoléptica y nutricional facilitando el traslado a distancias más largas (González y col., 2015). Sin embargo, uno de los inconvenientes del uso de temperaturas bajas es la presencia de un desorden fisiológico conocido como daño por frío (DF), que afecta a frutos de origen tropical y subtropical provocando una disminución en la calidad poscosecha que se traduce en pérdidas económicas altas (González y col., 2015).

Los síntomas del DF en frutos pueden ser clasificados en dos categorías: (1) desarrollo de síntomas metabólicos que provocan alteraciones en la conformación y estructura de la membrana celular causando cambios en la composición lipídica, generando una disminución en la fluidez y permeabilidad de la misma y una sobre producción de especies reactivas de oxígeno debido al mal funcionamiento de la mitocondria y cloroplastos y por lo tanto un aumento en el estrés oxidativo (Sevillano y col., 2009) y (2) síntomas fisiológicos como picadura superficial, maduración irregular, descomposición interna, susceptibilidad al daño mecánico y ataque fúngico (Aghdam y Bodbodak, 2014).

El mango es el tercer cultivo tropical de mayor consumo a nivel mundial, pero su transporte y comercialización están limitados por su susceptibilidad al desarrollo de síntomas de DF, siendo de 10 a 15 °C la temperatura mínima de almacenamiento para mantener su calidad (Sivakumar y col., 2011). Los principales síntomas de DF observados en los frutos de mango incluyen oscurecimiento de lenticelas, picadura superficial, maduración irregular, áreas grisáceas y necróticas, pérdida de sabor y aroma. Estos síntomas se intensifican cuando los frutos son trasladados a temperaturas superiores para su maduración. Este incremento en los síntomas se debe a alteraciones en la

pared celular y membrana plasmática, colapso en las capas del pericarpio, incremento en la lixiviación de electrolitos, estrés oxidativo y velocidad de respiración, así como alteraciones en la acumulación de carotenoides, azúcares y ácidos orgánicos (Loay Arafat, 2005).

Estudios previos han demostrado que la tolerancia que presentan los frutos al estrés por frío está relacionada con una mayor actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), así como con una disminución en la actividad de lipoxigenasa (LOX), las cuales mitigan el estrés oxidativo al disminuir el contenido del anión superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Aghdam y Bodbodak, 2014). También se ha asociado con un incremento en la expresión y actividad de ascorbato peroxidasa (APX) (Wang y col., 2012), mayor expresión de genes de proteínas de choque térmico (HSPs), incremento en la ruta de la arginina (aminoácido precursor de moléculas como la poliamina, prolina y óxido nítrico que juegan un papel crucial en la tolerancia al DF) mediante una mayor expresión del gen arginasa (LeARG1 y LeARG2) (Zhang y col., 2011), así como alteraciones en la actividad de las enzimas FAL (fenilalanina amonio liasa) y POD (peroxidasa) que se encargan de inducir la síntesis y oxidación de compuestos fenólicos, respectivamente (Aghdam y Bodbodak, 2014).

La aplicación de un tratamiento térmico previo al almacenamiento a temperaturas bajas ha resultado ser eficaz para incrementar la tolerancia al DF en diversos frutos, entre los que se encuentran el mango (Yimyong y col., 2011; Cruz y col., 2012; Almeida Mieguel y col., 2016), tomate (Cruz Medivil y col., 2015), mandarina (Ghasemnezhad y col., 2008) y kiwi (Shahkoomahally y Ramezani, 2015). Cuando los frutos son expuestos a un calentamiento moderado (estrés térmico), se induce un estrés oxidativo leve que modula los niveles antioxidantes y favorece una mayor tolerancia a un estrés subsecuente más severo (Shadmani y col., 2015). Se ha encontrado que la aplicación de un tratamiento térmico moderado genera cambios en la actividad de enzimas

antioxidantes y lipoxigenasa, cambios en los niveles de transcriptos de hidrolasas de la pared celular y la enzima SOD-Mn, y mayor expresión de proteínas (Yimyong y col., 2011). Yimyong y col. (2011) reportaron que la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) indujo la actividad de enzimas barredoras de especies reactivas de oxígeno (ERO's) como son la APX, CAT, y glutatión reductasa (GR) favoreciendo la protección celular a través de un balance en los niveles de ERO's. Almeida Miguel y col. (2016) reportaron que el TH minimizó el DF, produjo un incremento en la actividad de FAL, pero redujo la capacidad antioxidante y la acumulación de nutrimentos, especialmente ácido ascórbico y compuestos fenólicos.

Un almacenamiento prolongado a temperaturas bajas en combinación con un TH provoca cambios en la firmeza del fruto, pudiendo sufrir un ablandamiento acelerado. Para evitar esto, se han utilizado distintas sales de calcio para estabilizar la membrana celular y retardar la senescencia en los frutos. La aplicación de calcio mantiene la turgencia celular, la integridad de la membrana y reduce la permeabilidad de la misma, proporcionando firmeza en el tejido y retraso en el metabolismo de los lípidos de la membrana, lo cual disminuye los desórdenes fisiológicos y permite extender la vida de anaquel del fruto (Shirzadeh y col., 2011). Kou y col. (2015) reportaron que la aplicación de diferentes sales de calcio en peras inhibió la actividad de las enzimas polifenoloxidasas (PPO) y POD, incrementó la actividad de las enzimas CAT y SOD, y disminuyó la pérdida de compuestos fenólicos y la producción de malondialdehído (MDA), cambios atribuidos al efecto del calcio sobre la integridad estructural de la membrana celular. Martin-Diana y col. (2007) reportaron que la combinación de un TH y lactato de calcio en lechuga favoreció una mayor retención de la firmeza y de la turgencia del tejido celular reduciendo la lignificación de las áreas cortadas, además de incrementar la actividad de la pectinmetil esterasa (PME).

En el presente trabajo se planteó analizar el efecto del tratamiento hidrotérmico cuarentenario solo y en combinación con sales de calcio en frutos de mango durante el almacenamiento a temperatura de DF y posterior maduración. Se analizaron los cambios fisiológicos y actividad del sistema antioxidante enzimático y no enzimático que influyen en la tolerancia al DF, así como su impacto en la actividad antioxidante.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

A. MANGO

El mango (*Mangifera indica* L.) pertenece a la familia Anacardiaceae y es originario de Asia, específicamente de la región Indio-Birmánica. Es uno de los frutos más importantes en el mundo y es cultivado en más de 100 países tanto en latitudes tropicales como subtropicales (Liu y col., 2013). Esta fruta fue introducida a México por los españoles al igual que otras frutas como plátano o limón. A pesar de no ser un cultivo nativo del continente americano se ha convertido en uno de los frutos tropicales más finos y apreciados por los consumidores a nivel mundial (Djioua y col., 2009). Para México, el mango representa uno de los frutos de mayor importancia dentro del contexto agrícola nacional y estatal debido a que se produce con fines de exportación, donde diversos cultivares cumplen con las características peculiares de sabor, color y aroma necesarias para tales fines.

1. Aspectos botánicos

El género *Mangifera* comprende más de 50 especies nativas del sureste de Asia, excepto *M. africana* que se encuentra en África y sólo tres ó cuatro especies producen fruta comestible (Bally, 2006).

El árbol de mango es de tamaño mediano a grande, va de 10 a más de 20 m de altura, simétrico, copa redonda, siempre verde (hoja perenne), de raíces fuertes (6-8 m de profundidad), de savia irritante y tóxica que puede causar lesiones en la piel. Se considera un árbol vigoroso, que permite que se desarrolle en suelos pocos profundos, relativamente pobres y hasta cierto punto impermeables. Las hojas son de un color rojo intenso al inicio del crecimiento, en algunos cultivares pasa de verde y luego a verde oscuro en su madurez. La floración se da en panículas terminales ramificadas de 2 mil a 4 mil panículas las cuales pueden poseer entre 400 y 5000 flores cada una; la mayoría son masculinas o estaminadas y unas pocas flores perfectas (Bally, 2006).

La fruta de mango es una drupa que varía en peso, desde 200 a 2000 g aproximadamente, de forma redondeada, ovoide, arriñonada y a veces aplanada. La coloración depende tanto de la variedad como del estado de madurez y varía de verdoso, amarillo-verdoso, amarillos, rojos con áreas verdes, naranjas o púrpuras mezclados con partes verdes (Crane y Campbell, 1995; Torres Oquendo, 2007). El mango esta formado por cáscara (exocarpio) que es gruesa y frecuentemente con lenticelas blancas, pulpa (mesocarpio) de diferente grosor según los cultivares y las condiciones de cultivo, de color amarillo pálido a naranja oscuro y una semilla grande de forma ovoide, oblonga, alargada, estando cubierta por un endocarpio grueso y leñoso con una capa fibrosa externa, que se puede extender dentro de la pulpa (**Fig. 1**). Aunque los frutos pueden madurar en los árboles, comercialmente se recolectan para su embarque cuando todavía están firmes y no se ha desarrollado el cambio de coloración por completo en cáscara pero si están bien formados los cachetes (madurez fisiológica) (Crane y Campbell, 1995).

2. Composición química y nutrimental

La composición química del mango depende de factores como la variedad, estado de madurez, condiciones ambientales y de cultivo (Wall-Medrano y col., 2015). Es precisamente la composición química la que determina la calidad del fruto respecto al color, textura, apariencia, valor nutritivo y sabor. Por tales motivos, la calidad del mango es comúnmente evaluada mediante parámetros relacionados con su contenido químico; es decir, cantidad de materia seca, sólidos solubles totales (°Brix), azúcares simples, acidez titulable, contenido de ácidos orgánicos y compuestos volátiles (Hernández-Suárez y col., 2008).

El mango es considerado como uno de los frutos tropicales más deliciosos y representa una importante fuente nutritiva por su contenido de vitaminas, minerales y fotoquímicos, por lo que califica como una súper fruta (**Cuadro 1**).

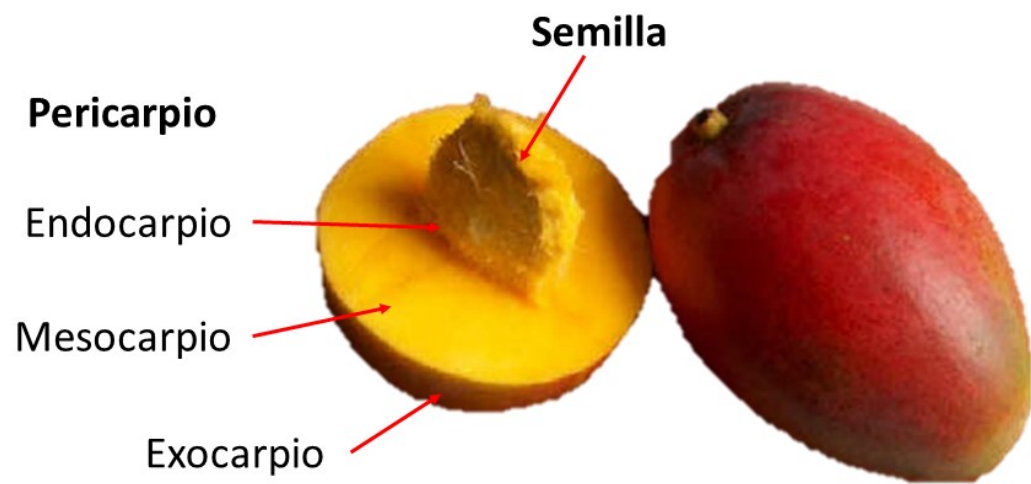


Fig. 1. Estructura del fruto de mango.
Fuente: Anónimo, 2017a.

Cuadro 1. Composición química de pulpa de mango por cada 100 g de peso fresco.

Energía	102 Kcal
Agua	82 g
Proteína	0.6 g
Grasas	0.45 g
Hidratos de carbono	12.5 g
Fibra total	1.7 g
Soluble	0.63 g
Insoluble	1.07 g
Vitaminas	
Vitamina A	201 µg
Carotenoides totales	1.3 µg
Vitamina E	1 mg
Vitamina B1	45 µg
Vitamina B2	50 µg
Vitamina C	37 mg
Ácidos orgánicos	
Ácido cítrico	264 mg
Ácido málico	74 mg
Ácido tartárico	81 mg
Minerales	
Calcio	12 mg
Hierro	0.4 mg
Fósforo	13 mg
Magnesio	18 mg
Sodio	5 mg
Potasio	170 mg

Fuente: Torres Oquendo 2007.

De acuerdo a lo reportado por Robles-Sánchez y col. (2009) la pulpa de mango presenta una mayor actividad antioxidante y una mayor concentración de compuestos fenólicos totales comparada con la pulpa de uva, guayaba y piña, lo cual permite ayudar a reducir los niveles de estrés oxidativo y triglicéridos en plasma. La cáscara y pulpa de mango tienen un elevado porcentaje de humedad (74-87%) y carbohidratos (15-23%) pero escaso contenido de proteínas (0.4-0.8%) y lípidos (0.3-1.0%). El contenido de carbohidratos y lípidos es mucho mayor en pulpa que en cáscara lo que justifica la diferencia en el aporte calórico (102 a 68 kcal/100 g aproximadamente). En cuanto al contenido de extractos lipofílicos en la pulpa de mango, las especies predominantes son esteroides glicosilados (45-71%) y ácidos grasos (23-42%), suficientes para aportar 9.5-38.2 mg y 0.7-3.9 mg de fitoesteroides (libres + glicosilados) y ácidos grasos (ω -3 y ω -6) por cada 100 g de peso fresco (Wall-Medrano y col., 2015).

El mango es una fuente importante de fibra dietaria, siendo principalmente solubles en pulpa (pectinas y almidones) e insolubles en cáscara (ligninas y hemicelulosa). La pulpa contiene un alto contenido de fructosa, sacarosa y glucosa, mientras que la cáscara es una fuente importante de heteropolisacáridos de ácido urónico y azúcares neutros (arabinosa y ramnogalacturonanos) (Wall-Medrano y col., 2015). Así mismo, el mango es una fuente importante de vitaminas tales como la pro-vitamina A (esencial para el mantenimiento de los tejidos epiteliales piel y mucosa), vitamina C, vitamina E, entre otras (B6 y K) (Lim, 2012).

Además, contiene compuestos que contribuyen a la actividad antioxidante como son los carotenoides (β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, etc.) responsables de la coloración de la pulpa, compuestos fenólicos (quercetina y kaempferol, flavonol), fenólicos ácidos (ácido gálico, p -camárico) y taninos, los cuales presentan funciones nutraceuticas (Lim 2012), ácidos orgánicos (málico, palmítico, cítrico y mirístico) (Torres Oquendo, 2007; Sumaya-Martínez y col.,

2012) y 17 minerales esenciales (potasio y magnesio principalmente y en menor proporción hierro, fósforo y calcio), los cuales intervienen en la transmisión nerviosa y muscular (**Cuadro 1**) (Torres Oquendo, 2007).

3. Producción de mango

a. Producción mundial

El mango es una de las principales frutas cultivadas en el mundo. En el año 2014 se tuvo una producción mundial de más de 45 millones de ton, siendo India el principal país productor con más de 18.4 millones de ton, contribuyendo con el 40.75% de la producción total, seguido por China (4.67 millones de ton), Tailandia (3.6 millones de ton) e Indonesia (2.43 millones de ton). México presentó una producción de 1,754,609 ton posicionándose en el 6to lugar aportando el 3.88% de la producción mundial (**Cuadro 2**) (FAOSTAT, 2017). A pesar de que la producción nacional de mango representa un porcentaje bajo a nivel mundial, México ocupa uno de los primeros lugares como país exportador de mango, generando una derrama económica importante para el país (SAGARPA, 2017).

b. Producción nacional

Dentro de la producción nacional (temporal + riego), los principales estados productores en el año 2017 fueron: Sinaloa (368,302 ton), Guerrero (361,792 ton) y Nayarit (323,052 ton) (**Cuadro 3**), con un rendimiento promedio nacional de 10.31 ton ha⁻¹. Esta producción generó una derrama económica al país de \$3,078 millones de pesos. Para México el mango representa el cuarto producto frutícola más importante producido después de la naranja, el plátano y el limón con una superficie sembrada y cosechada de más de 201 y 188 mil hectáreas, respectivamente. Los principales cultivares producidas con calidad de exportación son: Kent, Keitt, Tommy Atkin, Haden y Ataulfo (SAGARPA-SIAP 2017).

Cuadro 2. Principales países productores de mango en el 2014

País	Producción (ton)
India	18,431,330
China	4,674,951
Tailandia	3,597,589
Indonesia	2,431,329
México	1,754,609
Pakistán	1,716,882
Brasil	1,132,463
Bangladesh	992,296
Egipto	927,352
Filipinas	899,014
Producción total	45,225,211

Fuente: FAOSTAT, 2017.

Cuadro 3. Principales estados productores de mango en el 2017
(temporal + riego).

Estado	Producción (ton)
Sinaloa	368,302
Guerrero	361,792
Nayarit	323,052
Chiapas	264,507
Michoacán	151,542
Oaxaca	148,401
Jalisco	106,464
Veracruz	90,975
Colima	56,457
Campeche	30,212
Tamaulipas	15,533
Total	1,937,346

Fuente: SAGARPA-SIAP, 2017.

c. Producción estatal

Sinaloa ocupó el primer lugar en producción de mango a nivel nacional en cultivo de temporal + riego con una superficie sembrada de 32,271 ha y una producción de 368,302 ton, lo que representa el 19.01% de la producción total en el 2017. Sinaloa mostró un incremento del 7.81% en la producción con respecto al año previo (2016) (339,530 ton) (SAGARPA-SIAP 2017). Los principales municipios productores en el año 2016 (no se tienen datos más recientes) fueron Escuinapa (139,048.3 ton), El Rosario (108,717.35 ton), Ahome (51,224.95 ton), Concordia (16,436.95 ton) y Mazatlán (1,2927.83 ton) (**Cuadro 4**), con un rendimiento general de 10.74 ton ha⁻¹ y un valor de producción estatal de \$539'653,013.06 pesos (SAGARPA-SIAP 2017).

4. Madurez e índice de cosecha

El momento para cosechar los frutos de mango es una de las decisiones más importantes que los productores tienen que tomar para poder suministrar a los mercados frutos de calidad. La etapa de cosecha debe permitir además desarrollar propiedades organolépticas que le proporcionen una mayor vida de anaquel (Yahia 1998; Brecht y col., 2012). Cuando los frutos son cosechados antes de llegar a la madurez fisiológica no maduran uniformemente o simplemente no maduran. Por otro lado, cuando se cosechan sobre-maduros son muy sensibles a golpes, pudriciones y pérdida de agua, por lo que se deterioran rápidamente presentando corta vida de anaquel (Yahia 1998).

Existen algunas características visuales utilizadas para determinar el punto de corte en algunos cultivares de mango como: inicio de la coloración amarilla en el extremo inferior del fruto, formación de una cavidad en la base del pedúnculo y presencia de cambios de coloración en la pulpa (amarillo) como consecuencia de la síntesis de carotenoides (Rodríguez-Cedillo y col., 2002).

Cuadro 4. Producción estatal (temporal + riego) de frutos de mango 2016.

Municipio	Producción (ton)
Escuinapa	139,048.3
Rosario	108,717.4
Ahome	512,25.0
Concordia	16,437.0
Mazatlán	12,927.8
El Fuerte	5,621.7
Culiacán	2,367.5
Navolato	1,746.2
San Ignacio	664.0
Guasave	270.0
Elota	238.0
Angostura	172.7
Sinaloa	95.0
Total	339,530.40

Fuente: SAGARPA-SIAP, 2017.








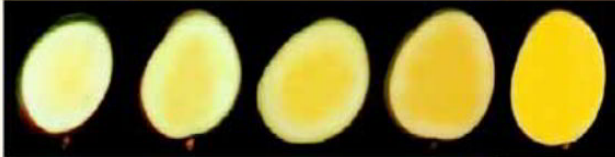
KEITT		COLOR PROMEDIO				
	COLOR INTERNO (PULPA)					
	MADUREZ / MADURACIÓN	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
	FIRMEZA (lbs - fuerza)	12 - 15	12 - 14	5 - 8	4 - 5	2 - 3
	SÓLIDOS SOLUBLES (° Brix)	6 - 8	9 - 11	12 - 15	14 - 16	14 - 17
KENT		COLOR PROMEDIO				
	COLOR INTERNO (PULPA)					
	MADUREZ / MADURACIÓN	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
	FIRMEZA (lbs - fuerza)	19 - 22	14 - 18	11 - 13	5 - 8	2 - 4
	SÓLIDOS SOLUBLES (° Brix)	8 - 10	9 - 11	12 - 13	12 - 14	14 - 15
MANILA		COLOR PROMEDIO				
	COLOR INTERNO (PULPA)					
	MADUREZ / MADURACIÓN	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
	FIRMEZA (lbs - fuerza)	8 - 12	6 - 10	4 - 6	2 - 4	1 - 2
	SÓLIDOS SOLUBLES (° Brix)	5 - 6	10 - 13	12 - 14	15 - 16	16 - 18
TOMMY ATKINS		COLOR PROMEDIO				
	COLOR INTERNO (PULPA)					
	MADUREZ / MADURACIÓN	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
	FIRMEZA (lbs - fuerza)	18 - 20	15 - 17	10 - 13	6 - 8	3 - 6
	SÓLIDOS SOLUBLES (° Brix)	7 - 9	8 - 11	9 - 11	10 - 13	12 - 15

Fig. 2. Índice de maduración de frutos en diferentes cultivares de mango.
Fuente: Anonimo, 2017b.

Cuando los frutos climatéricos como el mango son cosechados en la etapa de madurez fisiológica (grado 3) (**Fig. 2**), presentan un aumento en la velocidad de respiración y síntesis de etileno, justo al inicio de la maduración conocido como pico climatérico.

La supresión o reducción en la producción de etileno por la eliminación de la expresión de ACC oxidasa y ACC sintasa ha resultado en una fuerte inhibición del proceso de maduración (Zaharah y Singh, 2011). Saiprasad y col. (2003) mencionaron que para que la maduración del mango se presente de manera adecuada deben activarse la enzima oxidasa alternativa, proteínas de desacoplamiento, ACC oxidasa, tiolasa peroxisomal, quinasas proteína/caseína y endo-poligalacturonasa. En conjunto estas enzimas permitirán cambios bioquímicos y fisiológicos en el fruto que incluyen la producción de etileno, ablandamiento del fruto, desarrollo de pigmentos, actividades metabólicas que permiten cambios en carbohidratos, ácidos orgánicos, lípidos, compuestos fenólicos, compuestos volátiles, polisacáridos estructurales y ablandamiento de la textura de calidad aceptable (Nair y Singh, 2003).

5. Manejo poscosecha del mango

En la mayoría de las áreas de producción, el mango alcanza la mejor calidad de consumo cuando se deja madurar en el árbol. No obstante, al ser un fruto climatérico es cosechado usualmente en estado verde-maduro, por lo que mantiene una velocidad de respiración, transpiración y producción de etileno que contribuyen a su maduración y finalmente su deterioro (Kader, 2008).

Después de la cosecha, los frutos son trasladados a las agrícolas donde se inspeccionan sobre la presencia de la mosca de la fruta, se lavan y se someten a un tratamiento térmico cuarentenario de acuerdo a la estipulado por la USDA-APHIS (González-Aguilar y col., 2010; Bassal y El-Hamahmy, 2011). En algunas ocasiones después del tratamiento térmico se aplica un encerado, se clasifican por color (estado de madurez) y tamaño, se empacan y se almacenan en refrigeración hasta su venta y distribución (Brecht y col., 2012).

El almacenamiento a temperaturas bajas permite en los frutos climatéricos el control o reducción de diferentes procesos metabólicos (velocidad de respiración y producción de etileno). La temperatura óptima de almacenamiento del mango se encuentra en un rango de 20 a 23 °C, debido a que a esta temperatura se obtiene el mejor aspecto, palatabilidad y control del decaimiento de la maduración de los frutos. El almacenamiento de 15.5 a 18 °C durante la maduración proporcionan el color más atractivo de la cáscara, sin embargo, el sabor del fruto sigue siendo agrio a menos que sea transferido a temperaturas mayores que permitan la síntesis de azúcares simples (Aghdam y col., 2013).

Cuando los frutos son almacenados a temperaturas menores presentan daño por frío, dicho daño varía con el estado de madurez ya que en estado verde-maduro la temperatura mínima de almacenamiento es de 13 °C, mientras que parcialmente madura puede tolerar los 10 °C con una humedad relativa de 90-95% para evitar la deshidratación del fruto en ambos casos, sin mostrar la aparición de síntomas de daño por frío (Slaughter, 2009).

B. DAÑO POR FRÍO (DF)

El daño por frío es un desorden fisiológico que se presenta cuando el fruto es expuesto a temperaturas por debajo de la crítica pero por arriba del punto de congelación por periodos prolongados. Es considerado un fenómeno oxidativo relacionado con la producción de especies reactivas de oxígeno que generan peroxidación de lípidos, daño a la membrana y reducción global de la capacidad de los sistemas antioxidantes (Singh y Singh, 2012).

El DF induce la aparición de síntomas característicos del fruto. De manera general los frutos pueden presentar una coloración irregular, maduración incompleta, cambios en el sabor y olor, presencia de picaduras y oscurecimiento en cáscara y pulpa (Loay Arafat, 2005). Dichos síntomas se ven intensificados cuando los frutos son transferidos a temperaturas de maduración (21 °C). La severidad del daño está relacionada con la especie, el cultivar, las

condiciones pre- y pos-cosecha, el estado de madurez, las temperaturas y tiempos de almacenamiento, entre otros factores (Singh y Singh, 2012).

1. Síntomas de daño por frío

En frutos de mango se presentan síntomas fisiológicos como decoloración y picaduras en cáscara, coloración irregular en pulpa o presencia de oscurecimiento, en casos severos se presenta picadura superficial, presencia de áreas necróticas, y la aparición de sabores y olores desagradables. Generalmente, la severidad de los síntomas ocurre cuando los frutos son retirados del almacenamiento a temperatura baja y colocados a temperatura ambiente (**Fig. 3**) (Wang y col., 2008). Las alteraciones provocadas por el DF en el fruto, traen como consecuencia una reducción en la calidad general y la inacceptabilidad del producto en el mercado.

Se han propuesto dos etapas de desarrollo del daño por frío:

Primera etapa: ocurre una respuesta rápida en el fruto provocando una disfunción en las células vegetales o procesos metabólicos (Loay Arafat, 2005). Puede ocurrir en las primeras horas, en dos semanas (más común) o hasta en algunos meses dependiendo de la susceptibilidad del fruto. Las alteraciones son poco severas que no permiten la manifestación de los síntomas, por lo que se denomina umbral de inducción o fase de latencia, y los productos pueden retornar a su estado normal cuando son expuestos a temperaturas por arriba de las críticas (Artés y Artés 2003). Algunos de los síntomas no visibles que se pueden presentar en el fruto son anomalías del desarrollo (insuficiencia en sabor y aroma) o metabolismo alterado, teniendo como consecuencia un incremento en la velocidad de producción de CO₂ y etileno; algunas veces durante el enfriamiento y después de este (Artés y Artés 2003; Aghdam y Bodbodak, 2014).

Segunda etapa: tiene lugar cuando se pasa del umbral de inducción (fase de latencia) y aparecen los síntomas, su establecimiento es irreversible y se intensifica al ser expuesta a temperaturas por arriba de las críticas (Artés y



Fig. 3. Síntomas de daño por frío en mango.
Fuente: Wang y col., 2008.

Artés 2003). La sintomatología la integran lesiones superficiales y las manifestaciones varían dependiendo el daño.

Algunos de los síntomas observados en frutos de mango son depresiones de la cáscara o picaduras, descomposición del tejido (cambios en la estructura y composición de la membrana), oscurecimiento interno o superficial, decoloración de la cáscara y pulpa, infiltración de agua de los espacios intracelulares, desarrollo de texturas algodonosas o harinosas, debilitamiento a la resistencia de daños mecánicos y al ataque microbiano debido a una senescencia acelerada (**Fig. 3**) (Aghdam y Bodbodak, 2014). En este caso el impacto del daño por frío es muy severo, causando una deterioración significativa del fruto y por lo tanto tienen un mayor efecto negativo en mercado, provocando devaluación de su precio y generando grandes pérdidas económicas (Aghdam y Bodbodak, 2014).

2. Respuestas al daño por frío

a. Disfunción de la membrana plasmática

El evento principal del DF en las plantas está asociado con la peroxidación de la membrana lipídica, saturación de los ácidos grasos de la membrana y la degradación de los fosfolípidos (Aghdam y col., 2012; Sivankalyani y col., 2016). La fase de transición de la membrana celular genera cambios estructurales de la membrana lipídica de una estructura líquida-cristalina (cristalina) a sólido-gel (amorfa), que ocurre durante el almacenamiento a temperaturas bajas incrementando el riesgo de la pérdida del control de la semi-permeabilidad de la membrana celular (Sharom y col., 1994; Aghdam y col., 2013).

Este cambio en la fluidez de la membrana genera una inmovilización de los fosfolípidos de alto punto de fusión como consecuencia de la peroxidación, provocando así mismo, pérdida de la función de la membrana y de las proteínas asociadas a ella formando dominios de fases separados (Sharom y col., 1994). Sharom y col. (1994) demostraron que la separación de las fases en la

membrana lipídica contribuye con el desarrollo de daño por frío el tejido celular provocando la lixiviación de electrolitos debido al incremento en la permeabilidad de la membrana.

Estudios previos han demostrado que la respuesta de la membrana lipídica a las temperaturas bajas esta correlacionada con el incremento en la actividad de las enzimas fosfolipasa D (PLD) y lipoxigenasa (LOX). Estas enzimas se encuentran involucradas en el catabolismo de fosfolípidos e inician una cascada lipolítica durante la senescencia, e inducen la deterioración de la membrana por estrés. La PLD se encarga de descomponer los lípidos de la membrana y con ello la degradación de estos. Mientras que la LOX está estrechamente relacionado con la senescencia de la planta, alteraciones en la membrana (peroxidación del plasma de la membrana lipídica, incrementando la insaturación de los lípidos y cambios en la fluidez) y la degradación de los lípidos en las plantas por estrés, incrementando la permeabilidad de la membrana (Sheng y col., 2016).

Rui y col. (2010) reportaron que una mayor proporción de ácidos grasos insaturados provee una mayor tolerancia a las temperaturas bajas en frutos de plátano, granada y níspero. Mientras que Léchaudel y col. (2013) reportaron que la temperatura de almacenamiento afectó características como transpiración, grosor de la cutícula y el potencial osmótico en cáscara de mango, los cuales provocaron un incremento en la producción de H_2O_2 y MDA, una reducción del contenido de ascorbato, y cambios en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y monodehidroascorbato reductasa (MDHAR). Asimismo, Ma y col., (2014) reportaron que el almacenamiento a temperaturas bajas en frutos de kiwi provocó una pérdida de firmeza y acumulación de SST, así como un incremento en la actividad de la LOX, producción de MDA y etileno, promoviendo la pérdida de integridad de la membrana celular e incrementando la susceptibilidad al DF.

b. Estrés oxidativo

Un evento secundario para el desarrollo de síntomas de DF es consecuencia de un estrés oxidativo en los tejidos, lo que ocurre cuando las ERO's como H_2O_2 , O_2^- , OH^- , están en exceso con respecto a la capacidad que tiene el tejido en neutralizarlas (Ghasemnezhad y col., 2008). Este desbalance provoca la acumulación de ERO's que pueden ocasionar daño oxidativo e inducir reacciones de peroxidación de lípidos, inactivación de enzimas, degradación de proteínas, daño al ADN, y de este modo aceleran el ciclo de deterioración asociado con la senescencia (Zhang y col., 2009; Vega-García y col., 2010; Singh y Singh, 2012).

Las células sometidas a estrés reaccionan produciendo mayores niveles de ERO's, los cuales generan una reacción en cascada, cuando el electrón libre se transfiere de una molécula a otra. Activando asimismo, la acción de enzimas oxidasas, frecuentemente nombradas como polifenol oxidasa (PPO), fenolasas, tirosinasas y peroxidasas (POD), las cuales son liberadas, sintetizadas o están presentes en ciertos sustratos y condiciones oxidativas (lesiones o senescencia) (Azofeifa, 2009).

En la cadena de transferencia de electrones tanto en la fotosíntesis como en la respiración ocurre la β -oxidación de los ácidos grasos (que forman productos tóxicos como malondialdehído), oxidación del glicolato del NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), oxalato y xantinas como respuesta a los cambios de las condiciones intracelulares (susceptibilidad del estrés oxidativo dependiente del balance entre oxidantes y antioxidantes) (Liu y Wang, 2012) y extracelulares (la luz, cortes, herbicidas, patógenos, metales pesados, lesiones, sustancias abrasivas, etc.) (Imahori y col., 2008; Azofeifa, 2009).

Las ERO's son productos de un metabolismo celular normal y tienen una función vital en la estimulación de las vías de señalización en células vegetales y animales, además de ser mensajeros secundarios que activan la respuesta

como mecanismo de defensa (Liu y Wang, 2012). Este comportamiento ocurre como una incompleta reducción del oxígeno o la oxidación del agua, pudiéndose generar en organelos celulares como mitocondria, peroxisomas y lisosomas, ya que son estimulados por la actividad enzimática citocromo P₄₅₀ y como resultado de reacciones enzimáticas que involucran oxígeno y compuestos orgánicos (Huang y col., 2008).

Las células vegetales están equipadas con sistemas antioxidantes de defensa que ayudan a reducir el daño provocado por la acumulación de ERO's (Zhang y col., 2009), entre los que se encuentran un aumento en la fuga de electrolitos y la actividad de enzimas antioxidantes como proteínas de choque térmico (HSPs), FAL (responsables de la biosíntesis de compuestos fenólicos), SOD, CAT, APX y POD (Artés y Artés, 2003), además de la activación de sistemas no enzimáticos donde participan los compuestos fenólicos, ácido ascórbico (AA), glutatión (GSH), y enzimas del ciclo ascorbato-glutatión como APX, dehidroascorbato reductasa (DHAR) y GR (Yimyong y col., 2011; Singh y Singh, 2012). La función protectora de estas enzimas ha sido reportada en frutas como manzana (Rudell y col., 2011), tomate (Kerdnaimongkol y col., 1997), durazno (Gao y col., 2016), y mango (Luo y col., 2012; Léchaudel y col., 2013), entre otros.

Junmatong y col. (2015) reportaron que los frutos de mango presentaron un incremento en los niveles de O₂⁻, H₂O₂, OH⁻, así como una disminución en el contenido de AA y GSH, mientras que la expresión de genes de SOD, CAT y APX mostraron un incremento los primeros días de almacenamiento; también presentaron una reducción en la capacidad antioxidante del fruto (método DPPH) como consecuencia del daño a la membrana y pared celular. Por otro lado, Yimyong y col., (2011) reportaron que al aplicar un TH en frutos de mango se logró un incremento en la actividad de CAT, suprimiendo la actividad de la APX, mientras que no presentó efecto con respecto a la GR. También se observó una alteración en los niveles de transcritos de SOD-Mn, Pectato liasa,

β -galactosidasa, y β -1,3-glucanasa durante el almacenamiento a temperaturas bajas mostrando una reducción en las ERO's.

Aghdam y col. (2012) aplicaron ácido salicílico en tomate encontrando que durante el almacenamiento a temperaturas bajas se redujo la actividad de las enzimas PLD y LOX con respecto al control aminorando el DF. Khaliq y col. (2016) reportaron que los frutos de mango control presentaron un incremento en los niveles de O_2^- , H_2O_2 , OH^- , así como una disminución en la actividad de las enzimas del sistema antioxidante, contrario a lo observado en los frutos que fueron tratados con agarosa + cloruro de calcio al 3%, lo que atribuyeron a la retención de la integridad de la membrana celular. Esto sugiere que el calcio puede incrementar la tolerancia a las temperaturas bajas debido a la activación del sistema de defensa antioxidante y la reducción del daño oxidativo, mecanismos de respuesta al estrés.

3. Sistema antioxidante enzimático

El sistema de defensa correspondiente a las enzimas antioxidantes o endógenas, impide la formación de radicales libres a partir de otras moléculas. Si los radicales libres ya existen, estos antioxidantes se encargan de convertirlos en moléculas menos dañinas para la célula. Entre los antioxidantes enzimáticos se encuentran SOD, CAT, APX, FAL, GR y POD (**Fig. 4**) (López y col., 2012).

a. Superóxido dismutasa (SOD)

La SOD es una enzima antioxidante que pertenece al grupo de las metaloenzimas, contiene un ion de transición (cobre-zinc, hierro o manganeso) en su sitio activo (De la Torre-Binimelis, 1994; Jin y col., 2009), se encarga de catalizar la reacción redox del radical O_2^- , donde dos moléculas del radical interactúan con dos cationes de hidrógeno formando el H_2O_2 . Este no es un radical libre auténtico puesto que los electrones están apareados pero es peligroso no solo por la capacidad de atravesar membranas celulares sino también, porque si no es neutralizado, da origen a otra especie mucho más

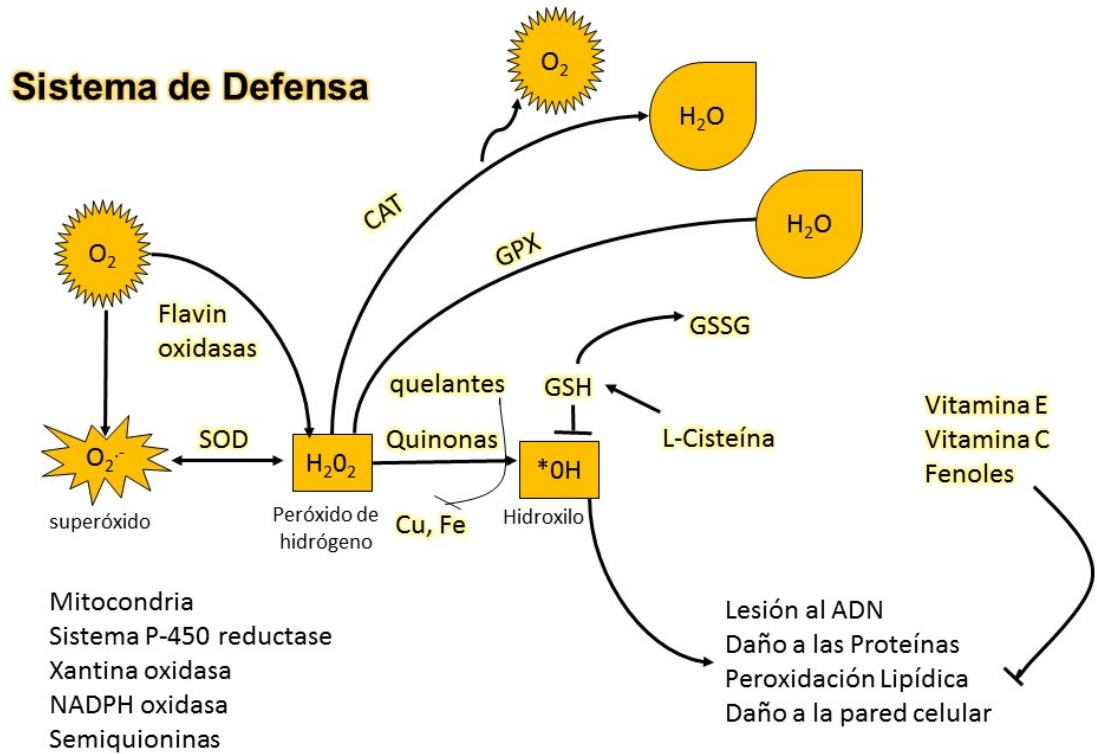


Fig. 4. Mecanismo de acción del sistema antioxidante enzimático.

Fuente: López y col., 2012.

reactiva del oxígeno conocida como el radical hidroxilo (OH^-) (Imahori y col., 2008; Zhang y col., 2009). Existen dos genes ancestrales diferentes, no relacionados, que codifican las diferentes SODs, las cuales dan lugar a 3 grandes familias de SODs de acuerdo al metal co-factor presente en su sitio activo: hierro (Fe-SOD) localizadas en cloroplastos y peroxisomas, manganeso (Mn-SOD) presente en mitocondria y peroxisomas y Cu/Zn (Cu/Zn-SOD) localizadas en cloroplastos, citosol, apoplastos y posiblemente en el espacio extracelular (De la Torre-Binimelis y col., 1994). La actividad de la enzima SOD debe estar ligada a las de CAT y POD para evitar la acumulación de peróxido de hidrógeno. Frutos de mango (Jacobi y col., 2000; Ding y col., 2007; Lopes y col., 2016) pre-tratados (agua caliente, ácido oxálico, ácido salicílico, pulsos de luz) y almacenados a temperaturas de daño por frío mostraron una mayor actividad enzimática (SOD) con respecto a los frutos control. Esta relación indica que la enzima SOD presentó un papel protector sobre la detoxificación de los radicales libres, haciendo que el O_2^- producido se convierta rápidamente a H_2O_2 y O_2 haciendo a la fruta menos susceptible al daño por frío (Kondo y col., 2005; Arreola-Cortés y col., 2010).

b. Catalasa (CAT)

La CAT es una enzima localizada en el interior de los peroxisomas cuya función es proteger a la célula del H_2O_2 al catalizar su descomposición en O_2 y H_2O (Liu y col., 2010), funcionando en la eliminación del exceso ERO's durante el estrés (Huang y col., 2008). La CAT puede mejorar la remoción de H_2O_2 sin producir la activación de radicales libres peligrosos que provoquen el daño oxidativo, el cual se considera ser el principal responsable de la susceptibilidad del tejido al enfriamiento. Muchos radicales libres son altamente reactivos químicamente y pueden inducir la ruptura de los dobles enlaces de los ácidos grasos de la membrana lipídica (Wang y col., 1995).

El mecanismo de reacción se lleva a cabo en dos pasos. En el primero la catalasa se oxida por una molécula de peróxido formando un intermediario

llamado compuesto I. El compuesto I se caracteriza por tener un grupo ferróxilo con FeIV y un radical catiónico de porfirina. En esta reacción se produce una molécula de agua. En el segundo paso el compuesto I es reducido por otra molécula de peróxido regresando la catalasa a su estado inicial y produciendo H₂O y O₂ (Díaz, 2003). La mayoría de estas enzimas son homotetrámeros con un grupo hemo en cada subunidad. Algunas CAT tienen subunidades pequeñas (60 kDa) y otras grandes (>80 kDa). Las catalasas pequeñas son menos resistentes a la desnaturalización, se unen a NADPH, tienen hemo y se inhiben e inactivan por sustratos. Las catalasas grandes tienen un dominio extra en el extremo C-terminal que es semejante a la flavodoxina proteínas ácidas que participan en la transferencia de electrones, generalmente reemplazando a la ferridoxina (proceso de la fotosíntesis), siendo muy resistentes a la desnaturalización y concentraciones molares de H₂O₂ (Díaz, 2003).

Diversos frutos como mandarina (Ghasemnezhad y col., 2008), calabaza (Zheng y col., 2008), durazno (Montero-Prado y col., 2011), naranja (Bassal y El-Hamahmy 2011) y manzana (Sabban-Amin y col., 2011) sometidos a un tratamiento (agua caliente, atmósferas modificadas, aceites esenciales, 1-MCP) previo al almacenamiento a temperaturas bajas mostraron una alta actividad de la CAT durante todo el almacenamiento, disminuyendo así la sintomatología de DF tanto en cáscara como en pulpa, lo cual fue relacionado con una mayor capacidad antioxidante, un incremento en SOD y una reducción de las ERO's. En este sentido, una reducción en la actividad de la CAT está relacionada con una baja actividad de SOD o bien debido a un exceso en la producción de ERO's por la exposición prolongada a las temperaturas bajas (Singh y Singh, 2012).

c. Ascorbato peroxidasa (APX)

La ascorbato peroxidasa cataliza la conversión de H₂O₂ en agua utilizando dos moléculas de ácido ascórbico (AA) que funciona como un potente reductor con la consecuente producción de MDA. Una disminución en la concentración

de AA durante la maduración de la fruta puede atribuirse a un incremento en la actividad de APX (Singh y Singh, 2012). Esta enzima se encuentra localizada en cloroplastos, mitocondria, citoplasma, peroxisoma y apoplasto (Benavides-Mendoza y col., 2009). La APX presenta una afinidad por la conversión de H_2O_2 mediante un control fino mientras que la enzima CAT lo hace en condiciones de estrés (Benavides-Mendoza y col., 2009).

En manzana se observó que la acumulación de la enzima APX durante el estrés por frío se relacionó con una disminución de la ascorbato deshidrogenasa (DHAR), por lo que los resultados sugirieron que la alta producción de H_2O_2 provoca condiciones de anaerobiosis en manzana activando la APX que actúa como una señalización redox (Kasai y Arakawa, 2010). Por otro lado, en lichi se observó un incremento en CAT pero no en APX durante el estrés por frío, lo cual pudo deberse a que estas enzimas reducen la sobre-producción de ERO's en el el tejido, retardando la peroxidación de los lípidos de la membrana, posponiendo la pérdida de su funcionalidad y aliviando el estrés oxidativo de la fruta en poscosecha (Sun y col. 2011). En mango almacenado a 4 °C se presentó un incremento significativo en las actividades de APX y POD presentando oscurecimiento en el fruto, por lo que no se pudo establecer la relación directa entre la actividad de las enzimas antioxidantes y el DF (Chongchatuporn y col., 2013).

d. Glutation reductasa (GR)

La GR pertenece a la familia de las flavoproteínas oxidoreductasa y se encuentra en eucariotas y procariotas. En las plantas juega un papel importante en respuesta al estrés oxidativo debido a que mantiene el glutatión intracelular principalmente en estado reducido (Stevens y col., 1997). La GR consume NADPH y se encarga de catalizar la reducción de la glutatión oxidada (GSSG) a Glutatión (GSH). El GSH sirve como un antioxidante (reacciona con los radicales libres y peróxido), y como sustrato para la Glutatión Peroxidasa (GPX) y Glutatión-S-Transferasa en la destoxificación del H_2O_2 . Su localización se da

principalmente en cloroplastos, pero se ha encontrado en mitocondria y citosol. La GR está involucrada en el mecanismo de defensa sobre el estrés oxidativo, mientras que el glutatión juega un importante papel en el sistema celular el cual incluye el ciclo ácido ascórbico-glutatión (ASH-GSH). La GR y GSH juegan un papel importante en la tolerancia a diferentes tipos de estrés (Lado y col., 2016).

e. Peroxidasa (POD)

La POD, conocida como peróxido de hidrógeno oxidoreductasa, es una de las enzimas que controla el crecimiento fisiológico de las plantas, su diferenciación y desarrollo (Yu y col., 1999; Chen y col., 2004). Su actividad en algunos casos depende del estado de madurez del tejido, mientras que en otros se mantiene constante en todo momento (Yu y col., 1999).

La actividad de POD está ampliamente ligada con la pérdida de sabor y olor durante el almacenamiento, así como con una gran variedad de reacciones bio-degradativas (Rojas-Graü y col., 2008), pero se cree que solo tiene un papel parcial en la degradación de los compuestos fenólicos, debido a que el H_2O_2 se encuentra en muy bajas concentraciones en la célula vegetal (Toivonen y Brummell, 2008). Un incremento en la actividad de esta enzima se asocia comúnmente a la reparación de heridas, resistencia a enfermedades o a una alta producción de H_2O_2 , por la activación de SOD o PPO al oxidar las quinonas (Toivonen y Brummell, 2008). Otro de los factores que puede generar la producción de POD es la acumulación de mRNA-POD debido al estrés provocado por la temperatura de daño por frío (Toivonen y Brummell, 2008). Mientras que Dangcham y col. (2008) reportaron que el incremento en la actividad de POD difícilmente se asociaba a una presencia elevada de mRNA-POD debido a la diversidad de genes, pero su incremento en la actividad, si pudiera estar correlacionado con la cantidad de proteína presente en el tejido y la presencia de O_2 . Baquero-Duarte y col. (2005) mencionaron que un incremento en la actividad de POD en piyata amarilla al final del almacenamiento a 25 °C se asoció a la senescencia del fruto provocando el

oscurecimiento del tejido; mientras que CAT presentaba mayor actividad durante los primeros días de almacenamiento.

La aplicación de TH en mandarina almacenada a 2 °C mostró que la exposición a tratamientos térmicos moderados provoca una reducción de la actividad de CAT y un incremento en la POD, lo cual Ghasemnezhad y col (2008) asociaron con el daño provocado en el tejido debido al tratamiento térmico y las temperaturas bajas. Generalmente la actividad de las enzimas del sistema antioxidante incrementa cuando los niveles de oxidación incrementan (Ghasemnezhad y col., 2008). Liu y Wang (2012) observaron que un incremento en la actividad las enzimas POD, SOD y CAT y una reducción de POD se en champiñones almacenados a 2 °C mantuvo la integridad de la membrana reduciendo el oscurecimiento en el tejido.

4. Sistema antioxidante no enzimático

El sistema antioxidante no enzimático o exógeno está influenciado por una serie de compuestos llamados depuradores de radicales libres, los cuales retrasan la producción y acción de los radicales libres. Algunos antioxidantes no enzimáticos de las células son el glutatión, los polifenoles (flavonoides), la vitamina E (alfa tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina A, los carotenoides, curcumina, resveratrol, y vitaminas del complejo B; mientras que los minerales selenio, cobre, zinc y magnesio forman parte de la estructura molecular de algunas de las enzimas antioxidantes (López y col., 2012). En las frutas tropicales se ha reportado la presencia de algunos compuestos como carotenoides, ácido ascórbico y polifenoles que poseen actividad antioxidante.

a. Ácido ascórbico

La vitamina C o ácido L-ascórbico (AA) es una vitamina esencial y un agente antioxidante hidrosoluble importante del organismo, actúa a nivel extracelular y citosólico (Valencia y Robles-Sardin, 2005; Valls y Valencia, 2012). Es esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, además de jugar un papel importante en la resistencia al estrés ambiental y al comienzo de

la senescencia. El AA actúa como un cofactor de enzimas que participan en la fotosíntesis, fotoprotección, crecimiento de la pared celular y expansión celular, resistencia a estrés ambiental y síntesis de etileno, giberelina, antocianina e hidroxiprolina (Smirnoff y Wheeler, 2000). Su actividad antioxidante deriva del desplazamiento del ácido L-ascórbico a su forma oxidada L-dehidroascórbico, esto habilita la molécula para combatir radicales oxidativos (O_2^- y OH^-) y los radicales acuosos como el oxígeno singulete. Es considerado como uno de los antioxidantes más eficaces para evitar la peroxidación lipídica en cualquier tipo de membrana celular (Basabe Tuero, 2000). Sin embargo, en presencia de metales de transición (Cu^{2+} , Fe^{2+}) puede actuar como prooxidante *in vivo* y formar el radical hidroxilo produciendo peroxidación de lípidos (Valls y Valencia, 2012).

En frutos de mango y plátano almacenados a 6 y 12 °C fue observado un incremento en la síntesis de ácido ascórbico sobre todo en los frutos tratados con n-propyl dihidrojasmonato (PDJ) (Kondo y col., 2005). Mientras que la combinación de metil jasmonato (MJ) y aire caliente mantuvo los niveles de ácido ascórbico, así como la actividad de las enzimas del sistema antioxidante en frutos de durazno durante el almacenamiento a 0 °C (Jin y col., 2009). Ambos tratamientos redujeron la susceptibilidad al DF.

b. Carotenoides

Los carotenoides son una familia de pigmentos liposolubles que comprenden carotenos y xantofilas. Se encuentran en una gran cantidad de frutas y hortalizas; los carotenoides son compuestos fundamentalmente de origen vegetal (Bravo Clemente, 2011). Algunos carotenoides tienen efectos asimilables a las vitaminas; en concreto α y β -caroteno y la β -criptoxantina son convertidos en el organismo a retinol, precursor de la vitamina A, lo que asocia sus efectos beneficiosos con la salud ocular (Bravo Clemente, 2011). Son considerados antioxidantes liposolubles debido a su estructura química, ya que los numerosos dobles enlaces conjugados reaccionan con las especies

reactivas de oxígeno (oxígeno singulete ($^1\text{O}_2^-$) y peroxilo (ROO^-)) inhibiendo su reacción (Thaipong y col., 2006; Bravo Clemente, 2011). Un estrés por infrarrojo en frutos de mango mantuvo una menor degradación de carotenoides durante el almacenamiento a 4 °C, permitiendo además una mayor capacidad antioxidante (Sogi y col., 2012). Djoua y col. (2009) mencionan que el uso de TH en mango generó una acumulación de carotenoides totales en los días iniciales, manteniendo una menor peroxidación de lípidos estimada por MDA.

c. Polifenoles

Los polifenoles son derivados del metabolismo secundario principalmente de la ruta del fenilpropanoide (Christopoulos y Tsantilli, 2012) a partir de fenilalanina y la acción de la enzima FAL (Bonghi y col., 2012). Son un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante gracias a sus propiedades reductoras en la peroxidación de lípidos. Se dividen en varias clases, entre las que destacan los fenoles ácidos y flavonoides (Drago Serrano y col., 2006).

La capacidad antioxidante de los polifenoles se debe principalmente a sus propiedades reductoras y la intensidad exhibida depende del número y posición de los grupos hidroxilo presentes en la molécula. Los polifenoles son conocidos como antioxidantes hidrofílicos (Thaipong y col., 2006) y se dividen en varias clases, entre las que destacan los ácidos fenólicos, flavanos (catequina), flavonas (diosmetina), antocianidinas y flavonoles (quercitina) (Martínez-Flórez y col., 2002; Valls y Valencia, 2012). Están relacionados no solo con su función benéfica a la salud como antioxidantes si no también por su participación en la expresión de genes, señalización en la célula y adhesión de la célula por la unión de la célula receptora y transportadora (Fiskaa Hagen y col., 2009).

En los productos de origen vegetal se encuentra una gran variedad de fenoles ácidos como curcumina (curry y mostaza), ácidos caféico, ferúlico y clorogénico (frutas, semillas de café y soya). Este tipo de fenoles inhiben la actividad de agentes mutágenos, estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferasa implicada en la detoxificación de compuestos metabólicos

potencialmente tóxicos y poseen además actividad antibacteriana (Drago Serrano, 2006). Los flavonoides son pigmentos presentes en las plantas que son sintetizados en el citosol y se transportan principalmente a la vacuola para su almacenamiento (Hichri y col., 2011). Tienen la capacidad de proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes (rayos ultravioleta, contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.), inducen apoptosis, estimulan la reparación del ADN e inhiben la división de células cancerígenas (Martínez-Flórez y col., 2002, Hichri y col., 2011). Dentro de su estructura química contienen grupos hidroxilos fenólicos y poseen propiedades excelentes de quelación del hierro y otros metales de transición lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Martínez Flórez y col., 2002). Son sintetizados a partir de la unión de 3x malonil CoA + 4-coumaroil-CoA mediante la enzima chalcona sintasa. En un estudio realizado en bayas de uva se identificaron dos genes que codifican para esta enzima responsable de la producción de flavonoides y tres para la enzima FAL (Bonghi y col., 2012).

Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas (cebolla y lechuga), flavanonas (cítricos), catequinas (vino rojo) y antocianinas (frutas que van del color rojo al azul o morado) (Drago Serrano, 2006). En un principio se creía que no tenían efecto benéfico a la salud, pero más tarde se demostraron los múltiples efectos positivos debidos a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres (Martínez-Flores y col., 2002). En mango tratado con infrarojo fue observado un incremento en el contenido de fenólicos los cuales participaron activamente para generar propiedades antioxidantes en el fruto y mantener la apariencia visual durante el almacenamiento a 4 °C (Sogi y col., 2012). Bi y col. (2014) mencionaron que la aplicación exógena de H₂O₂ incrementó la síntesis de compuestos fenólicos en manzana especialmente antocianinas, las cuales resultaron ser más sensibles al H₂O₂ contribuyendo a su mayor eliminación.

5. Tolerancia inducida al daño por frío

Los frutos incrementan la tolerancia a las temperaturas bajas conforme avanza su estado de maduración, sin embargo reducen su periodo de comercialización. Con el afán de conseguir una mayor vida de anaquel en los frutos, a lo largo de la historia se han aplicado diferentes tecnologías poscosecha que se pueden clasificar como tratamientos no térmicos y térmicos.

Entre los tratamientos no térmicos podemos encontrar el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (Wang y col., 2008), atmósferas controladas y modificadas (Sothornvit y col., 2008; Feygenberg y col., 2014), ácido oxálico (Ding y col., 2007), óxido nítrico (Zahara y Singh, 2011), metil jasmonato (González Aguilar y col., 2000; Khademi y col., 2014), ácido salicílico (Junmatong y col., 2012), sales de calcio (Chaplin y Scott, 1980; Hewajulige y col., 2003; Ramezani y col., 2010; Aghdam y col., 2013); mientras que en los tratamientos térmicos podemos encontrar enfriamiento gradual (Bojórquez-Gálvez y col., 2010), calentamiento intermitente (Jacobi y col., 2000), aire caliente (Ornelas Paz y Yahia., 2014), irradiación (Monzon y col., 2007; González-Aguilar y col., 2007) y tratamiento hidrotérmico (Yimyong y col., 2011, Khademi y col., 2014).

a. Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos como irradiación, vapor caliente y agua caliente han sido ampliamente utilizados como sistemas cuarentenarios en frutos de mango para mantenerlos libres de la mosca de la fruta (Kim y col., 2009). La aplicación de agua caliente ha mostrado una disminución en la severidad de desórdenes en la cáscara, como son oscurecimiento de lenticelas y antracnosis (Kim y col., 2009), además de proporcionar resistencia a las temperaturas bajas disminuyendo el DF; sin embargo, puede provocar una aceleración en la pérdida de firmeza (Dea y col., 2010a; Yimyong y col., 2011).

Se ha comprobado que la aplicación de un tratamiento térmico previo al almacenamiento a temperaturas bajas le confiere al fruto cierta tolerancia a un estrés mayor (Saltveit y col., 2004, Besada y col., 2008; Nyanjage y col., 2015).

La reducción del daño por frío en las frutas tratadas térmicamente puede estar relacionada con diversos factores como son (Aghdam y col., 2014):

1) Mejoramiento en la integridad de la membrana debido al incremento en la relación ácidos grasos insaturados/saturados.

2) Incremento en la expresión y acumulación de genes de proteínas de choque térmico (HSPs), las cuales actúan como chaperonas moleculares para apoyar al plegamiento de proteínas del sistema antioxidante como SOD, CAT, APX y GR manteniendo la fluidez de la membrana y regulando el desorden provocado por las ERO's bajo condiciones de estrés por frío (Choi y col., 2014).

3) Incremento en la actividad del sistema antioxidante enzimático (SOD, CAT, APX, GR) y no enzimático (ácido ascórbico, fenólicos, carotenos, etc.).

4) Incremento en la ruta de la arginina la cual lleva a la acumulación de moléculas de señalización (poliaminas, ácido nítrico y prolina) con el papel fundamental de generar tolerancia a las temperaturas bajas.

5) Alteraciones en la actividad de las enzimas FAL y PPO.

6) Incremento en el metabolismo de azúcares y ablandamiento del tejido.

Al respecto, McCollum y col. (1993) trataron térmicamente (38 °C, 24 y 48 h) frutos de mango Keitt y los almacenaron a 5 °C encontrando que la tolerancia de los mangos a las temperaturas bajas puede incrementar manteniendo la calidad de los mismos. Luna-Esquivel y col. (2006) por otro lado reportan que la aplicación de un TH (46.1 °C, 75 min) en mango Ataulfo provocó una pérdida de la firmeza y una susceptibilidad al DF, acelerando su maduración. Cuando el TH es aplicado en forma inapropiada, pueden tener efectos adversos en la calidad de los frutos de mango que se manifiestan como alteraciones en la actividad enzimática, aumento en la velocidad de la respiración, hundimiento de la pulpa en la zona peduncular y otros efectos no deseables en parámetros físicos, químicos y sensoriales (Jiménez y col., 2009). Sin embargo, hasta el momento no existen suficientes estudios en frutos de mango sobre el efecto que presenta

el TH cuarentenario (46.1 °C, 75-90 min) en la adquisición de tolerancia al DF relacionados al sistema antioxidante que proporcionan dicha tolerancia.

b. Aditivos químicos

El ablandamiento de los frutos carnosos se encuentra fuertemente asociado con la disminución de los niveles de calcio extracelular conforme la fruta madura. Las causas del ablandamiento son posiblemente debidas a cambios en la estructura de las moléculas pécticas de la pared celular durante la maduración. Cualquier aumento de los fragmentos pécticos solubles durante la maduración del fruto resulta en un cambio del equilibrio entre la pared celular y el calcio libre. Por su parte, la disminución de los niveles de calcio puede afectar la función del plasmalema causando pérdida de la permeabilidad de la membrana (Galvis y col., 2003).

El lactato de calcio ha sido ampliamente utilizado como agente reafirmante para frutas como melón, fresas, zanahorias, mango, entre otras. Es bien reportado que el lactato de calcio es una buena alternativa para el cloruro de calcio ya que evita la formación del sabor amargo asociado con la sal de cloruro (Martín-Diana y col., 2005; Rico y col., 2007; Alandes y col., 2009). El calcio es esencial para el mantenimiento de la estabilidad de la membrana celular y su deficiencia ocasiona aumento del flujo de compuestos de peso molecular bajo desde el citoplasma hacia el apoplasto, lo que favorece el desarrollo de hongos. El calcio confiere resistencia a los materiales de la pared celular contra el ataque de enzimas hidrolíticas (Robles-Sánchez y col., 2009; Silveira y col., 2011). Cuando esto ocurre en el fruto, da como resultado una reducción de la velocidad de respiración y producción de etileno, incrementando la firmeza y reduciendo la incidencia de desórdenes fisiológicos debido a que se provoca la estabilización de la membrana celular, pudiendo inclusive mejorar la tolerancia a las temperaturas bajas (Lamikanra y Watson, 2004; Aguayo y col., 2008).

Manganaris y col. (2007) reportaron que la aplicación de calcio en duraznos incrementó la estabilidad de la pared celular, limitando la intensidad

de los síntomas de DF. Asimismo, en granada y cerezas tratadas con calcio y almacenadas a 2 y 5 °C respectivamente, se observó una menor pérdida de peso y una mayor cantidad de jugo así como una mayor resistencia a las temperaturas bajas (menor lixiviación), lo que los autores relacionaron con un incremento en el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y actividad antioxidante. También, el calcio provocó un incremento en la actividad de la enzima FAL, proporcionándole además tolerancia al DF (Ramezani y col., 2010; Aghdam y col., 2013). La combinación de un TH con diferentes sales de calcio favoreció una retención significativa de la firmeza en frutos de melón, proporcionándoles además resistencia a las temperaturas bajas (Silveira y col., 2011).

IV. JUSTIFICACIÓN

El mango es uno de los frutos tropicales de mayor consumo en el mundo. Su demanda ha incrementado en los últimos años de acuerdo a lo reportado por la FAO (2017). Este aumento obedece a las características sensoriales, nutrimentales y de calidad que presenta; así como a su alto contenido de compuestos bioactivos que ofrecen propiedades antioxidantes al organismo contrarrestando el efecto negativo de los radicales libres (Robles-Sánchez y col., 2011). Para México, la comercialización de mango representa una buena fuente de ingresos económicos, ocupando el quinto lugar en producción a nivel mundial en el 2014 (FAOSTAT, 2017). Para su comercialización en fresco, el mango requiere cosecharse en estado de madurez fisiológica, ya que en esta etapa el fruto se encuentra firme y es más resistente a pudriciones y plagas; sin embargo, su vida útil se limita a dos semanas. Una de las estrategias más utilizadas para alargar la vida de anaquel del mango es el uso de temperaturas bajas, pero la exposición prolongada del fruto a temperaturas por debajo de la crítica (13 °C) resulta en daño por frío (DF). La combinación temperatura baja y tratamiento térmico ha sido reportada como benéfica para alargar la vida de anaquel y reducir la susceptibilidad al DF en diferentes frutos. Sin embargo, la aplicación del tratamiento térmico por tiempos prolongados (mayor a 30 min) puede provocar ablandamiento en el tejido, limitando su vida poscosecha. En este sentido, el uso de sales de calcio ayuda a preservar la estabilidad de la pared celular logrando con ello mantener la integridad del tejido por más tiempo.

El efecto combinado del TH y calcio durante el estrés por frío no ha sido previamente reportado. En este sentido, los productores de mango para exportación aplican un tratamiento hidrotérmico (TH) cuarentenario (46.1 °C, 75 ó 90 min de acuerdo al peso del fruto), por lo que la finalidad del presente estudio fue evaluar la utilidad de la combinación de este tratamiento térmico con sales de calcio para mejorar la tolerancia al daño por frío de mango e incrementar su tiempo de comercialización manteniendo la calidad del fruto.

V. HIPÓTESIS

La aplicación de un tratamiento hidrotérmico-calcio en mango almacenado a temperatura de daño por frío induce cambios en los sistemas antioxidantes enzimático y no enzimático, así como en la capacidad antioxidante, induciendo tolerancia en el fruto al estrés por temperaturas bajas y permitiendo alargar su vida de anaquel.

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la combinación tratamiento hidrotérmico (TH)-sales de calcio sobre el sistema antioxidante de mango durante su almacenamiento a temperaturas bajas y su asociación con la inducción de tolerancia al daño por frío.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la susceptibilidad al daño por frío de frutos de 5 cultivares de mango (Ataulfo, Haden, Kent, Keitt y Tommy Atkins) durante su almacenamiento a 5 y 8 °C analizando la presencia de síntomas de DF y el efecto sobre la calidad.

2. Determinar la relación de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante con la susceptibilidad al DF de los frutos de 5 cultivares de mango almacenados a temperaturas bajas.

3. Evaluar el efecto de la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (46.1 °C, 75-90 min) combinado con 3 diferentes sales de calcio (cloruro de calcio, lactato de calcio y citrato calcio) en la inducción de tolerancia al DF en frutos de mango susceptibles para seleccionar la mejor combinación.

4. Evaluar el efecto de la aplicación de la combinación hidrotérmico-calcio seleccionada previo al almacenamiento en frío de mango susceptible al DF sobre parámetros de calidad (color, firmeza, SST, pH y AT), índice de daño por frío, parámetros fisiológicos (lixiviación de electrolitos, contenido de malondialdehído) y actividad de la enzima LOX.

5. Estudiar el comportamiento del sistema antioxidante enzimático (SOD, CAT, APX, GR, POD), no enzimático (ácido ascórbico, carotenoides, fenoles, flavonoides) y los cambios en la actividad antioxidante en cáscara y pulpa de mango sometidos a TH, calcio y su combinación durante el almacenamiento a temperatura de DF y maduración.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. ESTRATEGIA GENERAL DE TRABAJO



Fig. 5. Estrategia general de trabajo utilizada para la selección del cultivar y la combinación TH-sal de calcio que proporcionó la mayor tolerancia al DF en los frutos de mango.

B. PRIMERA ETAPA: SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO POR FRÍO EN CINCO CULTIVARES DE MANGO

En esta etapa se utilizaron los principales cultivares (Ataulfo, Haden, Kent, Keitt y Tommy Atkins) de exportación para México y producidos en Sinaloa.

1. Materiales

a. Materia prima

Los frutos de mango fueron cosechados y seleccionados en un estado de madurez fisiológica, con uniformidad de tamaño, color y con libertad de golpes y deterioro. De acuerdo al mes de producción: Julio (Ataulfo y Haden), Agosto (Kent y Tommy Atkins) y Septiembre (Keitt). Los frutos fueron llevados al Laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha (LFTP) de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas (FCQB) de la UAS, donde fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio (300 ppm por 3 min). Posteriormente, fueron seleccionados y clasificados en 3 grupos para su almacenamiento por 21 días a 5, 8 y 13 °C, con retiros cada 7 días para pasar a un segundo almacenamiento (periodo de maduración) de 7 días a 21 °C.

2. Metodología

a. Índice de daño por frío (IDF)

La evaluación de IDF se llevó a cabo de manera visual de acuerdo a lo reportado por Vega-García y col. (2010) con algunas modificaciones con respecto a los síntomas. Se seleccionaron 5 frutos de cada cultivar y se les evaluó la presencia de síntomas considerando el oscurecimiento de lenticelas (O), las picaduras superficiales (P), la presencia de escaldado (áreas grisáceas, E), la maduración irregular (M) y las áreas necróticas (A). Se determinó el IDF con la ayuda de una escala hedónica de 5 puntos donde 0= no daño, 1= 1-25%, 2= 26-50%, 3= 51-75%, 4= >76% del área total dañada. El IDF fue calculado mediante la siguiente ecuación: $IDF = (NDO + NDP + NDE + NDM + NDA) / 5$. Donde ND es el nivel de daño para cada uno de los síntomas.

b. Parámetros de calidad

1) Color

Para la evaluación de color en cáscara y pulpa de mango se utilizó un colorímetro Minolta CR200 (Minolta, Ramsey, N.J.). Para color externo se marcaron 3 puntos equidistantes en la superficie de cada fruto. Para el color interno, se cortaron los cachetes de cada mango y se evaluaron 2 puntos por cada cachete obteniendo 4 valores por mango. Para ambos tejidos se evaluaron los parámetros CIE L* (luminosidad), a* (rojo-verde), b* (amarillo-azul), Croma (pureza o intensidad del color) y ángulo de matiz (°Hue).

2) Firmeza (N)

La firmeza se evaluó en el mesocarpio del fruto utilizando un penetrómetro Chatillon DFE 100 (AMETEK Inc, Largo, Fla., U.S.A.) equipado con una punta plana de 11 mm de diámetro a una velocidad de penetración constante (50 mm/min) de acuerdo a lo reportado por Jha y col., (2010) con algunas modificaciones (penetración de 5 mm). A los dos cachetes de cada mango se les retiró la cáscara en la parte central, evaluando 3 puntos por cachete. Se determinó la fuerza de compresión máxima expresada en Newtons (N).

3) Sólidos solubles totales (SST)

El contenido de SST se determinó de acuerdo al método oficial 22.014 de la AOAC (2012) utilizando un refractómetro manual (Fisherbrand by Fisher Scientific S66366, Ltd, Nepean, Ontario, Canada). Diferentes partes del mesocarpio fueron seleccionadas y maceradas, el jugo fue colocado directamente en el refractómetro, reportándose como °Brix.

c. Compuestos bioactivos

Preparación del extracto metanólico

Para la determinación de los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante se obtuvo un extracto metanólico (EM) como se describe por López-Angulo y col. (2014) con algunas modificaciones. Un gramo de tejido

lío-filizado y pulverizado fue extraído con metanol durante 3 días a 4 °C; el solvente fue cambiado cada 24 h y las fases metanólicas fueron mezcladas obteniendo un volumen final de 10 mL aproximadamente, el residuo fue eliminando mediante centrifugación (12,000 g por 15 min). Por último el solvente fue eliminado mediante vacío (40 °C) con un evaporador rotatorio (BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland). El EM obtenido fue almacenado a -20 °C en completa oscuridad hasta su uso.

1) Compuestos fenólicos totales (CFT)

El contenido de CFT se determinó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu (FC) descrito por Adom y col. (2005) con algunas modificaciones. Primeramente se realizaron diluciones del EM de pulpa de mango con metanol (Ataulfo 1:4, Haden 1:2, Kent 1:2, Keitt 1:1 y Tommy Atkins 1:1). El EM diluido de cada cultivar (20 µL) se oxidó con 180 µL del reactivo FC (1:8 v/v) más 50 µL de Na₂CO₃ (7% p/v) por 90 min en completa oscuridad, la absorbancia fue medida a 750 nm en un lector de microplacas de 96 pozos (Synergy™ HT Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT). Se utilizó agua como muestra para el control negativo. La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva estándar de ácido gálico (50-500 µg/mL). Los fenólicos totales fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por 100 g de peso fresco (g P.F.).

2) Flavonoides totales

Los flavonoides totales fueron evaluados de acuerdo a lo reportado por Moo-Huchin y col. (2014). Se tomaron 500 µL del EM diluido en metanol (Ataulfo 1:8, Haden 1:4, Kent 1:4, Keitt 1:2 y Tommy Atkins 1:2) y fueron homogenizados con 2000 µL de agua desionizada y 150 µL de NaNO₂ al 5%, la mezcla fue reposada por 5 min para equilibrar la solución. Posteriormente, se agregaron 150 µL de AlCl₃ al 10% (solución metanólica) dejándose reposar por 1 min. Para finalizar se adicionaron 1000 µL de NaOH 1 M y 1200 µL de agua desionizada obteniendo un volumen final de 5 mL. La absorbancia de las

muestras fue leída a 415 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (UNICO SQ 2800 NJ, USA). La cuantificación se realizó a partir de una curva estándar de quercetina (10-120 µg/mL) y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de quercetina (EQ)/100 g P.F.

d. Capacidad antioxidante

1) Método DPPH

El análisis de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se realizó según lo reportado por Brand-Williams y col. (1995) con algunas modificaciones. Una alícuota de 20 µL del EM diluido (1:4) se mezcló con 180 µL del radical DPPH 150 mM (metanol). Las mezclas fueron incubadas por 30 min en completa oscuridad (27 °C) y leídas a una absorbancia de 525 nm en un lector de microplacas (Synergy™ HT Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT). Trolox fue preparado como curva de calibración (Sigma-Aldrich-238813) (0-225 µg/mL) y la actividad antioxidante fue reportada como micromoles equivalentes de Trolox (µmol ET)/100 g P.F.

2) Método ABTS

El método de ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) fue evaluado usando el análisis de decoloración del catión ABTS⁺ de acuerdo con Re y col. (1999) con algunas modificaciones. Las soluciones ABTS (7 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM) fueron mezcladas en una relación 1:1, la mezcla se mantuvo en reposo por 12-16 h a 25 °C en completa oscuridad para producir el radical ABTS⁺. Esta solución fue diluida con amortiguador de fosfato (PBS) 7 mM (pH 7.4) hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. En un tubo de ensayo se colocaron 100 µL del EM diluido (Ataulfo 1:80, Haden 1:20, Kent 1:16, Keitt 1:16 y Tommy Atkins 1:20) y se mezclaron con 1900 µL del radical ABTS diluido. La mezcla se mantuvo en reposo por 30 min a 27 °C en completa oscuridad y la absorbancia fue leída a 734 nm. Una curva de calibración de Trolox (0-225 µg/mL) fue utilizada para calcular la actividad antioxidante, expresándose como µmol ET/100 g P.F.

3) Método de ORAC

El método de ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno) fue realizado según lo descrito por Ou y col. (2002) con algunas modificaciones. En una micro-placa negra de 96 pozos se colocaron 25 μ L del extracto metanólico diluido (1:150) con PBS (75 mM, pH 7.4). La microplaca fue colocada en el lector de fluorescencia (SynergyTM HT Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT), donde 175 μ L de fluoresceína (0.96 μ M) fueron dosificados, la mezcla se mantuvo en reposo 30 min a 37 °C antes de adicionar 50 μ L de APPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride) (200 mM). La intensidad de la fluoresceína (485 nm (ex)/525 nm (em)) fue medida por 60 min a 37 °C con intervalos de 2 min. La actividad antioxidante fue determinada mediante el contraste del área bajo la curva obtenida con Trolox y la muestra. Los resultados fueron expresados como μ mol ET/100 g P.F.

e. Diseño estadístico primera etapa

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con tres factores. Quedando de la siguiente manera:

Tiempo de almacenamiento a 5, 8 y 13 °C	0, 7, 14 y 21 días
Tiempo de maduración a 21 °C:	0 y 7 días
Cultivares de mango:	Ataulfo, Haden, Kent, Keitt y Tommy Atkins

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo a través de un análisis de varianza (ANOVA), y la diferencia significativa ($P < 0.05$) fue establecida utilizando la diferencia mínima significativa (LSD) mediante la prueba de Fisher. El análisis de varianza se realizó con el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1. Las medias con el correspondiente LSD para cada nivel fueron trazados utilizando Sigma Plot 12.

C. SEGUNDA ETAPA: EFECTO DE LA COMBINACIÓN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO Y TRES DIFERENTES SALES DE CALCIO SOBRE LA TOLERANCIA AL DF EN MANGO KEITT

En esta segunda etapa se probaron diferentes sales de calcio que en combinación con el tratamiento hidrotérmico cuarentenario favorecieran la retención de la calidad del fruto (especialmente la firmeza) y a su vez proporcionaran tolerancia a las temperaturas bajas. Para la selección de la concentración adecuada se llevó a cabo un preliminar que se describe a continuación:

1. Preliminar

Se seleccionaron las sales cloruro de calcio (CaCl_2), lactato de calcio (LacCa) y citrato de calcio (CitCa) con tres concentraciones (0.5%, 1.5% y 2.5%) de acuerdo a diferentes autores (Manganaris y col., 2007; Silveira y col., 2011) y se combinaron con un TH (46.1 °C, 75 ó 90 min). Los frutos se almacenaron durante 20 días a 5 °C evaluándose IDF, color y firmeza, seleccionando la concentración que permitió la mayor tolerancia al DF y mantuvo la mayor calidad, especialmente en la firmeza.

2. Materiales

a. Materia prima

Los preliminares arrojaron que la concentración de sal de calcio de 0.5% proporcionó la mayor tolerancia al DF en los frutos de mango manteniendo la calidad durante el almacenamiento a 5 °C y el menor IDF. A partir de estos resultados, nuevamente se cosecharon mangos cv. Keitt en madurez fisiológica, se lavaron, sanitizaron y dividieron en 6 lotes para la aplicación de los tratamientos de la siguiente manera:

T1: Control 13 °C

T3: TH

T5: TH-LacCa

T2: Control 5 °C

T4: TH- CaCl_2

T6: TH-CitCa

La fruta fue adquirida del mismo huerto de la primera etapa y el tratamiento hidrotérmico se aplicó de acuerdo a lo reportado por la USDA-APHIS (2014) para frutos de mango con calidad de exportación (46.1 °C, 75 ó 90 min) combinado con cada sal de calcio a una concentración de 0.5%. Una vez aplicados los tratamientos, los frutos se enfriaron a 21 °C por una hora y posteriormente se almacenaron durante 30 días a 5 °C con retiros cada 10 días para pasar a un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.

3. Metodología

a. Porcentaje de pérdida de peso (%PP)

Se pesaron 5 frutos por cada tratamiento cada tercer día durante 30 días. Se empleó una balanza Sartorius modelo TE 4101 (Goettingen, Alemania). Los resultados fueron calculados con la siguiente fórmula: $\%PP = [(Peso\ inicial - peso\ final) / peso\ inicial] \times 100$

b. Índice de daño por frío

El IDF se evaluó de manera visual acuerdo a lo reportado por Vega-García y col. (2010), como se describió previamente en la primera etapa.

c. Índices fisiológicos

1) Porcentaje de electrolitos lixiviados (%EL)

El método descrito por Malacrida y col. (2006) fue utilizado para la determinación de los electrolitos lixiviados con algunas modificaciones. Para cada tratamiento, 18 cilindros de 7 mm (6 cilindros por réplica) fueron obtenidos del tejido usando un sacacorchos. Las muestras fueron lavadas (3 veces) con agua desionizada para eliminar por completo cualquier electrolito liberado. Los cilindros fueron colocados en 25 mL de manitol (0.4 M) y se incubaron por 2 h a 24 °C bajo agitación constante; la conductividad de la solución fue determinada utilizando un conductímetro manual (HI 98311, Hanna instruments, Mauritius, USA). Después de la primera lectura, las muestras fueron sometidas a una autoclave a 121 °C por 10 min para liberar todos los electrolitos. Luego fueron

enfriadas a 25 °C y de nuevo se midió la conductividad para determinar los electrolitos totales. El %EL fue determinado con la siguiente fórmula: %EL= (electrolitos iniciales/electrolitos totales) × 100.

d. Parámetros de calidad

1) Color, firmeza y SST

Para la determinación de color, firmeza y SST se siguió la metodología descrita en la primera etapa.

2) pH y AT

Ambos análisis se llevaron a cabo de acuerdo a los métodos 981.12 y 942.15B descritos por la AOAC (2012). Reportándose como potencial de hidrógeno y % de ácido cítrico.

e. Diseño estadístico de la segunda etapa

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con 3 factores. Quedando de la siguiente manera:

Tiempo de almacenamiento a 5 °C:	0, 10, 20 y 30 días
Tiempo de maduración a 21 °C:	0 y 7 días
Tratamientos:	Control 13 °C, control 5 °C, TH, TH-CaCl ₂ , TH-LacCa y TH-CitCa

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un ANOVA con tres factores y la diferencia entre las medias fue establecida 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.

D. TERCERA ETAPA: EFECTO DEL TH CUARENTENARIO Y LACTATO DE CALCIO (LacCa) SOBRE LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE MANGO KEITT

A partir de los resultados obtenidos previamente en las dos primeras etapas (cultivar de mayor susceptibilidad y combinación TH-sal de calcio que proporcionó la mayor calidad y tolerancia al DF) fueron aplicados nuevamente para analizar el efecto de estos tratamientos sobre el sistema antioxidante enzimático y no enzimático.

1. Materiales

Se cosecharon los mangos cv. Keitt en estado de madurez fisiológica del mismo huerto descrito previamente, considerando uniformidad de tamaño, color y libertad de daños o deterioración. La fruta fue lavada y sanitizada. Posteriormente fue pesada y dividida en 4 lotes para la aplicación de los tratamientos correspondientes (control, TH (46.1 °C, 75 ó 95 min), LacCa (0.5% p/v, 75 ó 95 min), TH-LacCa (combinación de tratamientos). La fruta fue almacenada a 5 °C durante 30 días con retiros cada 10 días más un periodo de maduración a 21 °C por 7 días. Las muestras que no fueron trabajadas en fresco, una parte fue congelada con nitrógeno líquido (N₂) y almacenada a -70 °C hasta su uso. El resto del tejido una vez congelado con N₂ líquido fue liofilizado, pulverizado y almacenado a -20 °C hasta su uso.

2. Métodos

a. Índice de daño por frío

Se determinó de acuerdo a lo reportado previamente en la primera etapa

b. Índices fisiológicos

1) % de electrolitos lixiviados (%EL)

Ambos métodos fueron determinados como se describió en la etapa previa.

2) Contenido de malondialdehído (MDA)

La prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) determina el malondialdehído como producto final de la peroxidación lipídica. La técnica fue realizada de acuerdo a Sun y col. (2011). Se tomó 1 g de tejido congelado (cáscara o pulpa) y se homogenizó con 30 mL de etanol: agua (80:20 v/v) por 1 min. La muestra fue centrifugada a 3,000 g por 10 min a 4 °C, recuperándose el sobrenadante. La mezcla de reacción consistió en tomar 1 mL del sobrenadante y mezclarlo con 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%). La mezcla se homogenizó ligeramente y fue calentada a 95 °C por 25 min. La reacción fue detenida colocando las muestras en agua con hielo por 10 min. Una segunda centrifugación (3,000 g por 10 min a 4 °C) fue llevada a cabo para clarificar las muestras por completo. La absorbancia fue leída a 3 longitudes de onda (400, 532 y 600 nm). La cantidad del complejo MDA-TBA (pigmento rojo) fue calculada 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 ($nmol \cdot mL^{-1}$) = $(A - B/157,000)10^6$.

3) Actividad de lipoxigenasa (LOX)

Para el análisis de la actividad de la enzima LOX se utilizó la metodología propuesta por Lara y col. (2003). Se pesó 0.1 g de tejido liofilizado, se homogenizó con 1000 μ L de la solución de extracción (amortiguador de fosfato de sodio 0.1 M (pH 7.5), DTT 2 mM, EDTA 1 mM, Triton X-100 0.1% (v/v) y polivinil polipirrolidona (PVPP)). El homogenizado fue centrifugado a 17,000 g por 35 min a 4 °C y el sobrenadante fue recuperado y utilizado como extracto enzimático crudo, manteniendo siempre la cadena de frío.

La actividad de la enzima LOX se determinó mezclando 847 μ L de amortiguador de fosfato (0.1 M, pH 8.0), 133 μ L de la solución sustrato (ácido linoleico 8.6 mM, Tween-20 0.25% (v/v), NaOH 10 mM, en fosfato de sodio 0.1 M, pH 8.0) y 20 μ L de extracto enzimático crudo. La actividad fue determinada

siguiendo el incremento en la absorbancia a 234 nm de manera espectrofotométrica por 3 min con lecturas cada 10 seg, debido a la formación del dieno conjugado del ácido linoleico durante la reacción de catálisis. Los resultados fueron expresados como U/mg proteína. La concentración de proteína fue determinada por el método de Bradford (1976) utilizando suero de albúmina bovina (BSA) como estándar para calcular la actividad enzimática específica.

c. Parámetros de calidad

Los parámetros de calidad (color, firmeza, SST, pH y AT) fueron analizados como se describió previamente.

d. Determinación del sistema antioxidante no enzimático en respuesta al estrés por frío

El extracto metanólico (EM) fue obtenido bajo las mismas condiciones que en la primera etapa utilizando tejido liofilizado.

1) Fenólicos totales y flavonoides totales

Los compuestos fenólicos totales (CFT) y flavonoides totales fueron determinados como se describió en la primera etapa, reportándose como mg EAG/ g F.S. y mg EQ/ g F.S. para cáscara y mg EAG/ 100 g F.F. y mg EQ/100 g F.F. para pulpa, respectivamente.

2) Ácido ascórbico (AA)

La concentración de AA fue determinada de acuerdo a Dürüst y col. (1997). Tejido fresco (1 g) fue homogenizado con 10 mL de ácido oxálico al 0.4% por 1 min en un homogenizador Ultra-Turrax T18 (IKA Works, Inc. Wilmington, NC, USA). Una alícuota (1 mL) de ácido oxálico fue mezclada con 1 mL de amortiguador de acetato (30 g de acetato de sodio anhídrido + 70 mL de agua desionizada + 100 mL de ácido acético glacial) y 8 mL de DCPI (2,6-diclorofenolindofenol disodio sal) (12 mg/L H₂O desionizada) por 15 seg, y la absorbancia fue medida a 520 nm (L₁). Para L₂, el equipo fue ajustado a cero con 1 mL de muestra + 1 mL de amortiguador de acetato + 8 mL de agua

desionizada. Las muestras fueron determinadas sustituyendo 8 mL de agua desionizada por 8 mL de DCPI. Así, el valor de L_1-L_2 representa la absorbancia de la muestra. La concentración de AA fue determinada utilizando una curva estándar de ácido ascórbico (10-50 $\mu\text{g/mL}$) y los resultados fueron expresados como mg de AA/100 g F.F.

3) Carotenoides totales

La extracción y cuantificación de los carotenoides totales fueron realizadas de acuerdo al método desarrollado por Moo-Huchin y col. (2014). Se pesó 0.1 g de tejido liofilizado y se homogenizó con 5 mL de la mezcla hexano:acetona:etanol (70:15:15, respectivamente + 0.5% de BHT). Las muestras fueron agitadas de manera oscilatoria por 1 h en completa oscuridad, saponificadas con 0.5 mL de KOH al 40% (metanol) por 2 h (25 °C/oscuridad). Al finalizar, 2 mL de hexano fueron adicionados a la mezcla, se agitó vigorosamente y se dejó reposar por unos minutos, la fase superior fue recolectada. La capa inferior fue tratada 2 veces más, los tres sobrenadantes fueron mezclados y filtrados a través de sulfato de sodio anhídrido en polvo. El contenido total de carotenoides fue determinado a una absorbancia de 450 nm. Una curva de calibración fue preparada utilizando β -caroteno en hexano como estándar (0-50 $\mu\text{g/mL}$) y los resultados fueron expresados como mg de β -caroteno/g F.S. y mg de β -caroteno/100 g F.F. en cáscara y pulpa, respectivamente.

e. Determinación de la actividad de enzimas del sistema antioxidante

1) Actividad de superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de SOD se determinó de acuerdo a Liu y col. (2005) con algunas modificaciones. El tejido liofilizado (0.5 g) fue homogenizado en un mortero frío con 5 mL de amortiguador de fosfato 0.05 M (4 °C) conteniendo EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 1 mM y 5% de polivinilpirrolidona (PVP). La mezcla fue centrifugada a 17,200 g por 15 min a 4 °C y el sobrenadante fue recuperado y utilizado como extracto enzimático. La mezcla de reacción

contenía 1 μL del extracto enzimático y 199 μL del amortiguador de fosfato 0.1 M (pH 7.8), que contenía L-metionina 0.01 M, 0.025% de Tritón X-100, EDTA 0.11 mM y NBT (nitroazul de tetrazolio) 57 μM y 50 μL de riboflavina 20 μM . Las muestras fueron llevadas a un lector de micro placas a 550 nm antes y después de la exposición a la luz (25 watts) por 10 min. Una unidad de actividad de SOD fue definida como la cantidad de enzima que causa un 50% de inhibición del azul de tetrazolium. La actividad de SOD fue expresada en unidades por miligramo de proteína (U/mg de proteína), esta última medida según Bradford (1976).

2) Actividad de catalasa (CAT)

El extracto enzimático y la cuantificación se llevaron a cabo de acuerdo a lo reportado por Yimyong y col. (2011) con algunas modificaciones. Se pesó 0.5 g de tejido liofilizado y se homogenizó en un mortero frío con 5 mL de amortiguador de fosfato 0.045 M (pH 7.0) que contenía DTT 5 mM, EDTA 5 mM y 0.125 g de PVPP. Las muestras fueron centrifugadas a 17,200 g por 30 min a 4 °C. El sobrenadante fue recuperado y utilizado como extracto enzimático manteniéndose a temperatura baja durante su uso. La mezcla de reacción consistió de 1 mL de amortiguador de fosfato de potasio (40 mM, pH 7.0) más H_2O_2 (40 mM) y 25 μL del extracto enzimático. El blanco utilizado fue la mezcla del amortiguador y extracto enzimático sin el H_2O_2 . El cambio de concentración de H_2O_2 fue calculado basado en el coeficiente de extinción 43.6 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 240 nm. La actividad de la CAT fue expresada como U/mg de proteína.

3) Actividad de ascorbato peroxidasa (APX)

La actividad de APX fue determinada con el mismo extracto utilizado en la evaluación de la actividad de CAT, siguiendo el protocolo de Yimyong y col. (2011) con algunas modificaciones. La mezcla de reacción contenía 969 μL de amortiguador de fosfato de potasio (40 mM, pH 7.0), 5 μL de L-ácido ascórbico (0.1 M), 1 μL de H_2O_2 (0.1 M) y 25 μL de extracto enzimático para un volumen total de 1 mL. La actividad de APX fue expresada como U/mg de proteína. El

cambio en la concentración de ácido ascórbico se calculó basándose en el coeficiente de extinción de $2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 290 nm.

4) Actividad de glutatión reductasa (GR)

La actividad de GR se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por Smith y col. (1988) con algunas modificaciones. Para el extracto enzimático se pesó 0.5 g de tejido pulverizado con N_2 líquido y se homogenizó con 5 mL de una solución amortiguadora de fosfato de potasio 0.1 M (pH 7.5), EDTA 0.5 mM y PVPP al 1%. La mezcla fue centrifugada a 17,200 g por 50 min a 4 °C, el sobrenadante fue recuperado y utilizado como extracto crudo. Para la medición de la actividad, la reacción contenía 1000 μL de fosfato de potasio 0.2 M (pH 7.5)-EDTA 1 mM, 500 μL de DTNB (5,5'-Ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) 3 mM (amortiguador de fosfato de potasio 0.01 M), 25 μL de H_2O desionizada, 100 μL de NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) 2 mM, 50 μL del extracto enzimático y 100 μL de GSSG (glutatión oxidado) 20 mM. La reacción inició cuando se adicionó el GSSG y fue monitoreada por 5 min con lecturas cada 30 s a 412 nm. La velocidad de reacción fue calculada de la porción lineal de la curva. Reportándose como U/mg de proteína, utilizando el coeficiente de extinción de $6.2 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

5) Actividad de peroxidasa (POD)

La actividad de POD fue determinada de acuerdo a Lin y col. (2011) con algunas modificaciones. Se pesó 0.5 g de tejido liofilizado y homogenizó con 5 mL de la solución amortiguadora de fosfato ((0.05 M, pH 7.5), 5% de PVPP y EDTA 0.1 M). El homogenizado fue centrifugado a 17,200 g por 20 min a 4 °C. El sobrenadante se utilizó como extracto crudo. Para la cuantificación de la actividad se mezclaron 2,750 μL de buffer de fosfato 0.1 M (pH 7.8), 100 μL guayacol al 1% (v/v), 100 μL de H_2O_2 (0.46%) y 50 μL de extracto crudo. Una unidad de POD fue definida como el incremento de absorbancia de 0.01 min^{-1} a 470 nm. Reportándose como U/mg de proteína.

f. Capacidad antioxidante

1) Métodos DPPH y ABTS

Los análisis de DPPH y ABTS fueron llevados a cabo de acuerdo a Brand-Williams y col. (1995) y Re y col. (1999) con algunas modificaciones, como se describió previamente. La actividad antioxidante fue reportada como $\mu\text{mol ET/g}$ F.S. para cáscara y $\mu\text{mol ET/100 g}$ F.F. para pulpa.

g. Diseño estadístico tercera etapa

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio con 3 factores. Quedando de la siguiente manera:

Tiempo de almacenamiento a 5 °C:	0, 10, 20 y 30 días
Tiempo de maduración a 21 °C:	0 y 7 días
Tratamientos:	Control, TH, LacCa, TH-LacCa

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un ANOVA con tres factores y la diferencia entre las medias fue establecida 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.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. PRIMERA ETAPA: SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO POR FRÍO EN CINCO CULTIVARES DE MANGO

1. Índice de daño por frío (IDF)

Los resultados obtenidos para el IDF durante el almacenamiento de frutos de mango a 5 y 8 °C después de un periodo de maduración de 7 días a 21 °C se muestran en la **Fig. 6**. Durante el almacenamiento a temperaturas bajas los diferentes cultivares mostraron presencia de síntomas de DF independientemente de la temperatura de almacenamiento (**Figs. 6A y 6C**). De manera general, Kent y Keitt presentaron el menor y mayor IDF, respectivamente, mostrando Keitt síntomas como oscurecimiento de lenticelas, picaduras superficiales y maduración irregular (**Fig. 7**). Durante la maduración (**Figs. 6B y 6D**), todos los cultivares obtuvieron un incremento significativo ($P<0.05$) en el IDF. El cultivar Keitt mantuvo el valor mayor (3.06) con la presencia de áreas necróticas tanto en cáscara como en pulpa (**Fig. 7A**), mientras que Ataulfo presentó el valor menor (1.46) al final del almacenamiento a 21 °C. El almacenamiento por 21 días a 8 °C más 7 días de maduración no mostró diferencias significativas en el IDF de los cinco cultivares (**Fig. 7D**).

Resultados similares fueron observados previamente en los cultivares Tommy Atkins, Keitt (Pesis y col., 2000), Nam Dok Mai (Junmatong y col., 2012, Chongchatuporn y col., 2013) y Zill (Han y col., 2006) almacenados a diferentes temperaturas, coincidiendo también con el aumento en la presencia de síntomas una vez transferidos a temperaturas más altas. La susceptibilidad al DF ha sido atribuida a una disfunción celular debido a la desestabilización de la membrana (oxidación de lípidos, incremento en la permeabilidad, mayor actividad de las enzimas LOX y PLD, disrupción del citoplasma e hinchamiento de cloroplastos en respuesta al estrés (Shivashankara y col., 2004; Aghdam y col., 2013; Chongchatuporn y col., 2013), además de la degradación de compuestos antioxidantes y reducción de la actividad de enzimas antioxidantes

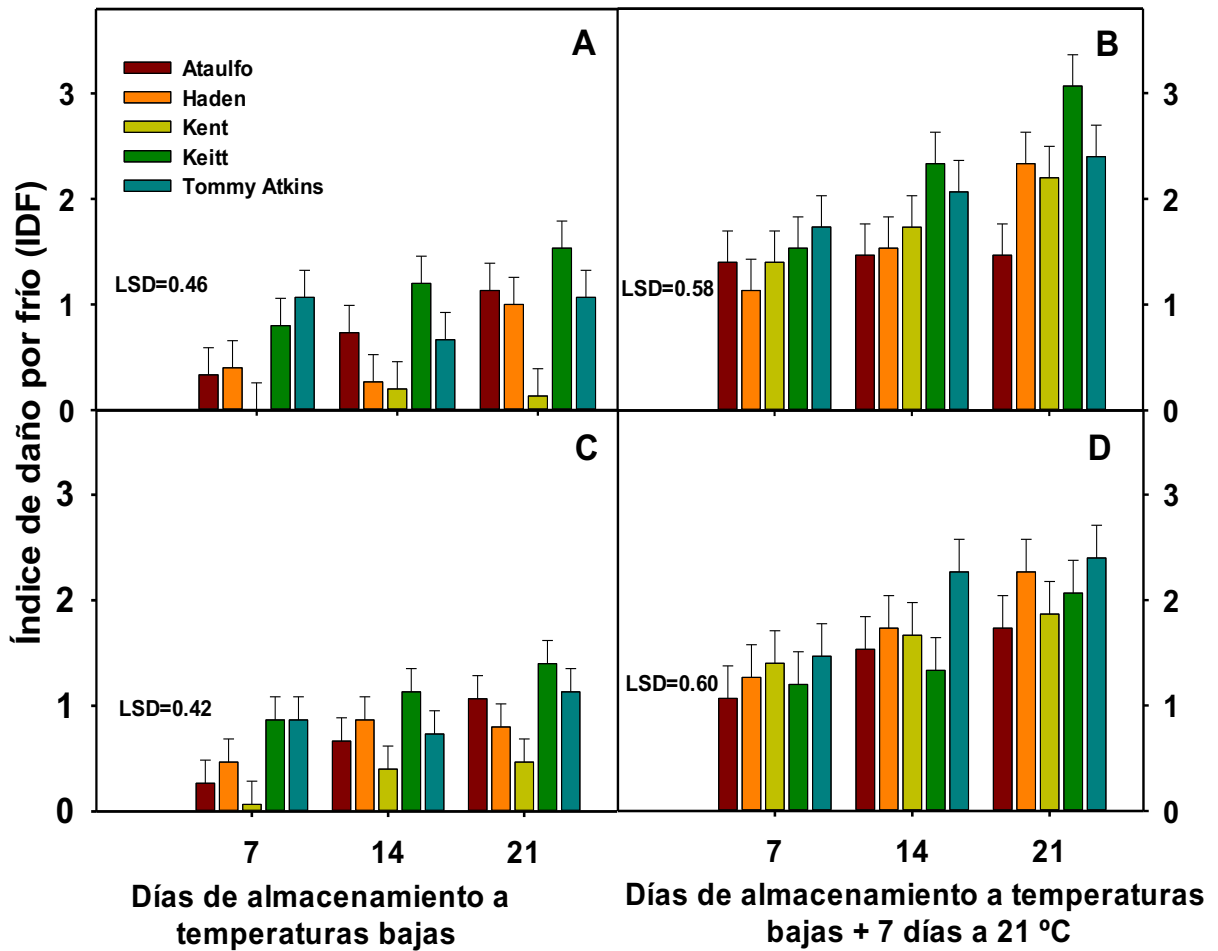


Fig. 6. Índice de daño por frío en frutos de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 8 °C (C) más 7 días a 21 °C (B y D). Los datos representan la media de cinco réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Temperatura de almacenamiento

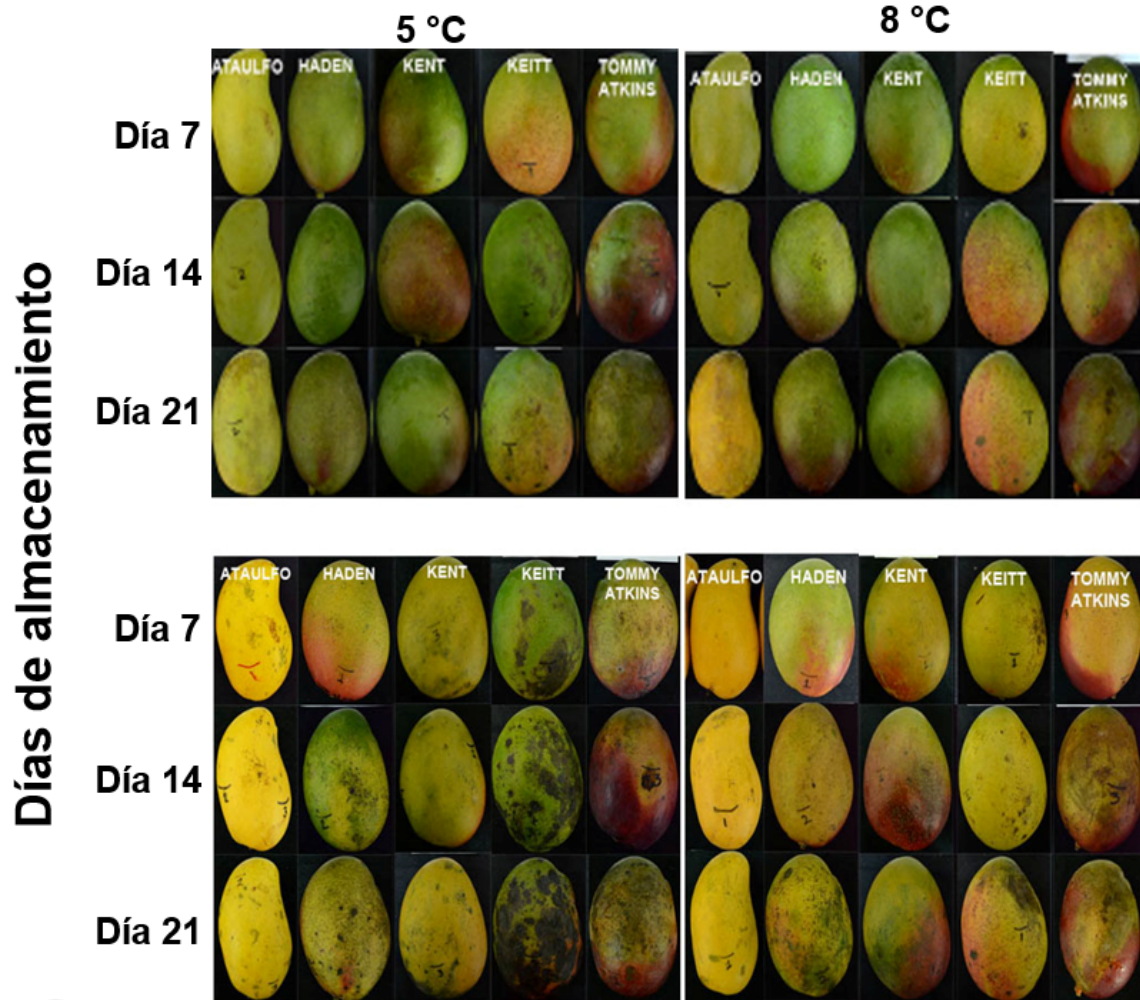


Fig. 7. Síntomas visibles de daño por frío en cinco diferentes cultivares de mangos almacenados a 5 (A) y 8 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (C y D).

(Junmatong y col., 2012; Chongchatuporn y col., 2013). La tolerancia al DF que presentaron los frutos de mango cv. Ataulfo ha sido previamente relacionada con la alta presencia de azúcares solubles y contenido fenólico en el fruto (Manthey y Perkins-Veazie, 2009). Los azúcares funcionan como osmoprotectores que proveen estabilidad a las proteínas de la membrana plasmática (Pal Singh y Singh, 2012), mientras que los compuestos fenólicos disminuyen el estrés oxidativo debido a la neutralización de los radicales libres producidos durante el almacenamiento a temperaturas bajas (Palafox-Carlos y col., 2012). Esta misma tolerancia a la temperatura baja (<50% de la superficie dañada) fue observada previamente en mangos Choke Anan almacenados a 6 °C (Kondo y col., 2005), Zill almacenados a 5 °C (Li y col., 2012) y Tainong almacenados a 4 °C (Wang y col., 2008), cultivares que presentan características sensoriales y físicas similares al cultivar Ataulfo.

2. Parámetros de calidad

a. Color

1) Luminosidad (L*)

Ataulfo, Haden y Kent mantuvieron valores constantes de luminosidad en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C, mientras que Keitt y Tommy Atkins presentaron en general una reducción en L* (**Fig. 8A**). Ataulfo y Tommy Atkins obtuvieron la mayor y menor luminosidad, respectivamente, mostrando diferencia significativa entre ellos ($P<0.05$). Por otra parte, cuando los cultivares fueron almacenados a 8 °C (**Fig. 8B**), Keitt mantuvo los valores más altos de L* durante los primeros 14 días, seguido de una reducción al día 21, con valores similares a los de Ataulfo. El almacenamiento a 13 °C generó un incremento de L* para todos los cultivares a excepción de Keitt que permaneció constante (**Fig. 8C**). Tommy Atkins y Kent revelaron la menor luminosidad al final de almacenamiento mientras que Ataulfo presentó la mayor luminosidad (**Fig. 8C**).

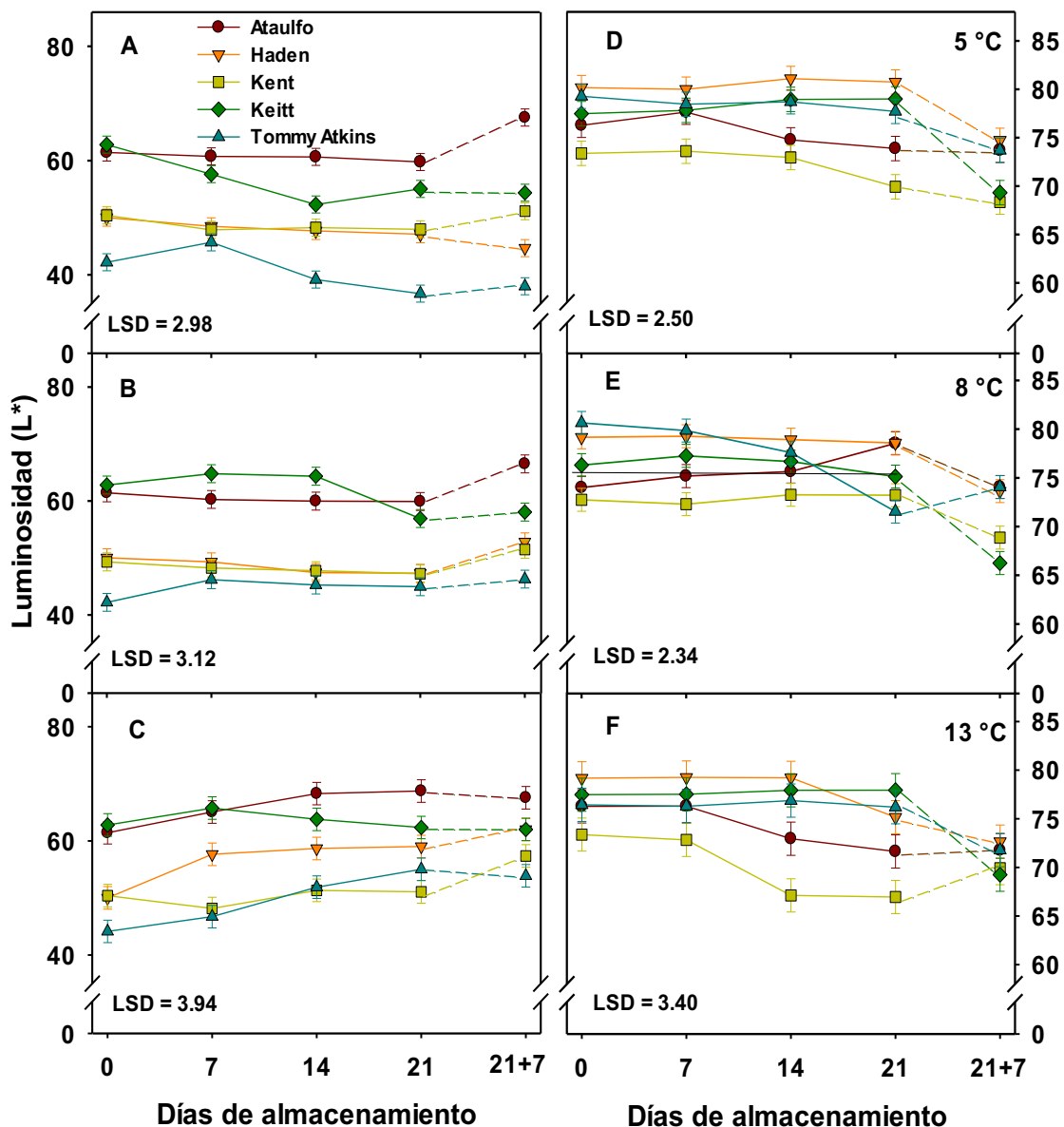


Fig. 8. Luminosidad en cáscara (A, B, C) y pulpa (D, E, F) de diferentes cultivares de mango durante su almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas), más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas). Los datos representan la media de 12 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Durante el periodo de maduración Keitt y Tommy Atkins mantuvieron los valores de L^* con respecto a las temperaturas bajas (**Figs. 8A, 8B y 8C**), mientras que el resto de los cultivares manifestaron un incremento de L^* , debido a la degradación de clorofila y la síntesis de carotenoides. Por otra parte, la disminución de la luminosidad puede estar relacionada con la pérdida de brillo y oscurecimiento del tejido debido a la presencia de síntomas de DF como oscurecimiento de lenticelas, maduración irregular y en algunos casos áreas necróticas (**Fig. 7**).

Con respecto a la luminosidad en pulpa, durante el almacenamiento a 5 °C (**Fig. 8D**), el cultivar Kent mostró los valores más bajos, mientras que Haden, Keitt y Tommy Atkins mostraron los más altos ($P>0.05$). Durante la maduración, Ataulfo mantuvo los valores de L^* mientras que el resto de los cultivares presentaron una reducción, especialmente el cultivar Keitt que manifestó oscurecimiento en la pulpa (**Fig. 9**). Tommy Atkins obtuvo una reducción de L^* durante el almacenamiento a 8 °C, obteniendo valores similares a Kent (**Fig. 8E**), lo que se puede asociar con oscurecimiento en la pulpa debido a la síntesis de carotenoides, oxidación de compuestos fenólicos y al desarrollo de azúcares simples que provienen de la degradación del almidón (**Fig. 9**). La luminosidad en Ataulfo y Keitt se conservó sin cambios con respecto al tiempo y con diferencia estadística ($P>0.05$) con Haden y Tommy Atkins al final del almacenamiento pero no entre ellos. En maduración, Keitt presentó la mayor reducción de L^* , con valores por debajo de los observados para Kent, mientras que Tommy Atkins se mantuvo sin cambios significativos ($P>0.05$). El almacenamiento a 13 °C resultó en una reducción de L^* especialmente en Kent y Ataulfo, manteniendo Kent la menor luminosidad y diferencia estadística con el resto de los tratamientos (**Fig. 8F**). En la maduración, solo los cultivares Keitt y Tommy Atkins presentaron una reducción significativa de L^* como consecuencia del oscurecimiento en el tejido y la senescencia del fruto mientras que el resto de los cultivares mantuvieron una mayor luminosidad

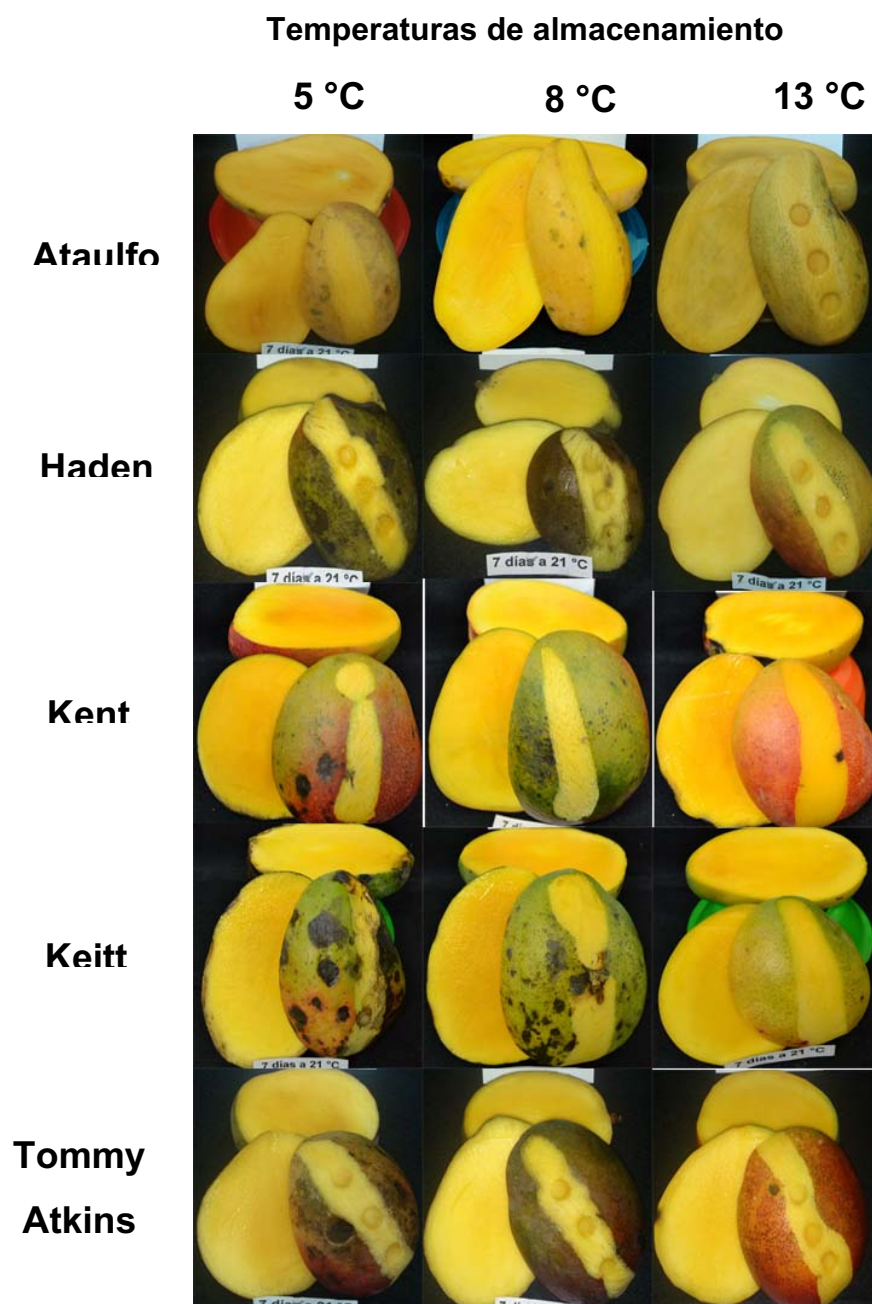


Fig. 9. Imágenes de color interno en pulpa de diferentes cultivares de mango después de un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos fueron previamente almacenados durante 21 días a temperaturas bajas.

y menor deterioración en la pulpa.

Comportamientos similares fueron reportados previamente en diferentes cultivares de mango almacenados a temperaturas bajas, observando que la reducción de L^* se debía a la pérdida de la cera natural del fruto, menor degradación de clorofila y la aparición de síntomas de DF (Phakawatmongkol y col., 2004; Ornelas-Paz y col., 2008; Kim y col., 2010; Palafox y col., 2012), mientras que el incremento de este parámetro lo asociaron con la degradación de la intensidad del color verde de la cáscara propio de la maduración y la síntesis de pigmentos como los carotenoides (Dea y col. 2010a). Dang y col. (2008) y Yimyong y col. (2011) reportaron que las temperaturas por arriba de los 12 °C permitieron un mejor desarrollo del color en frutos de mango, con reducción en L^* durante la maduración como consecuencia de la senescencia del fruto y pérdida del brillo, similar a este estudio.

2) Parámetro b^*

En cáscara de mango el cultivar Ataulfo presentó los valores más altos de b^* con respecto al resto de los cultivares independientemente de la temperatura de almacenamiento con valores por arriba de 40 (coloración amarilla) (**Fig. 10**). Dicho comportamiento se relaciona con la degradación de la clorofila (color verde) y síntesis de carotenoides propios de la maduración (Ornelas-Paz y col., 2008). Haden y Kent no tuvieron cambios estadísticos ($P>0.05$) a 5 °C (**Fig. 10A**), mientras que a 8 °C los diferentes cultivares expresaron una reducción mínima ($P<0.05$), presentando en todo momento valores por debajo de los obtenidos para Ataulfo (**Fig. 10B**). El cultivar Tommy Atkins manifestó los menores valores (20) independientemente de la temperatura, lo que representa una coloración oscura posiblemente debido a la presencia de antocianinas en la cáscara (color rojo), además de los síntomas de DF. Durante la maduración, Ataulfo, Haden y Kent obtuvieron un incremento en b^* mientras que Keitt y Tommy Atkins permanecieron sin cambios significativos;

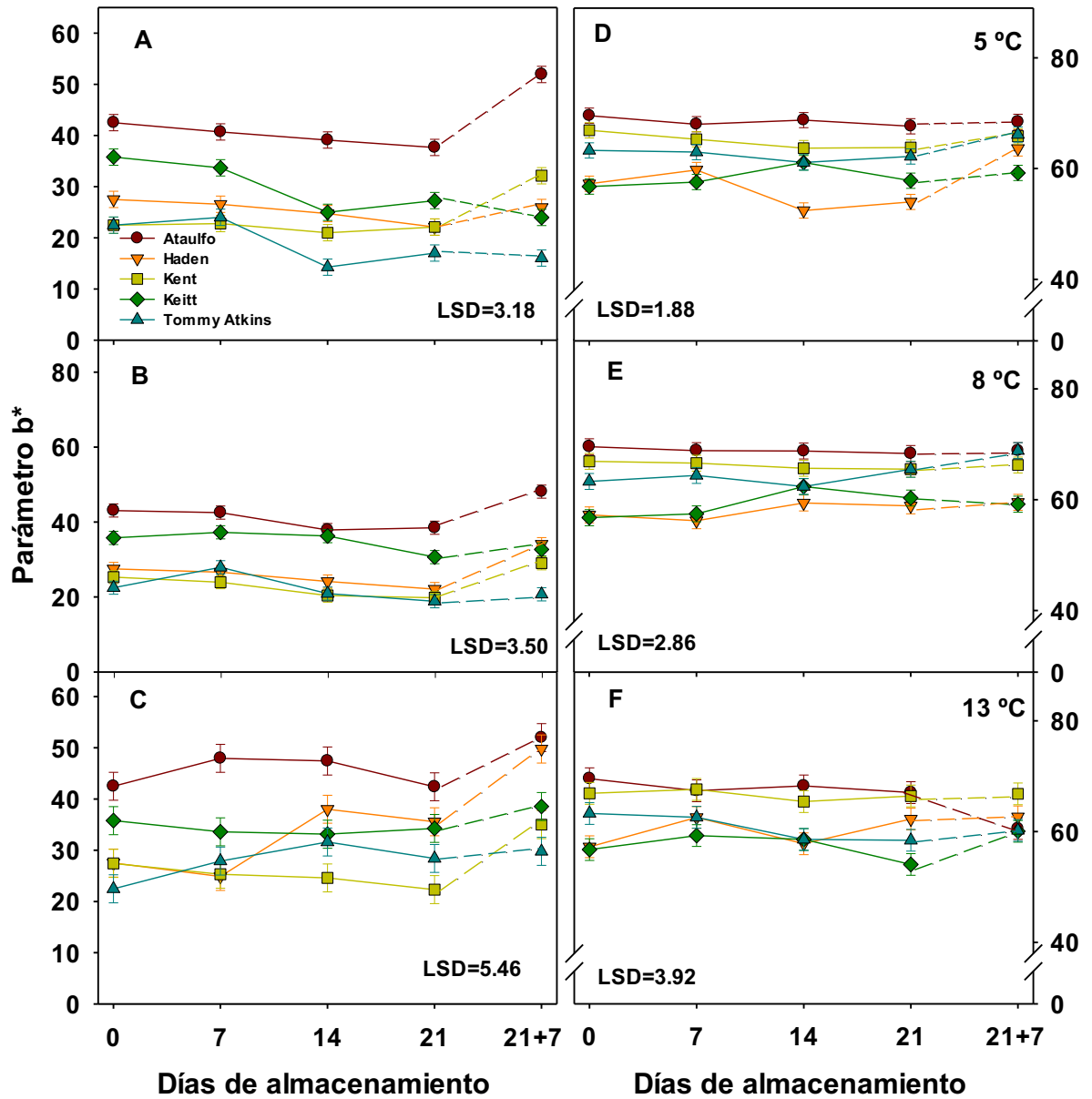


Fig. 10. Parámetro b* de cáscara (A, B, C) y pulpa de mango (D, E, F) durante el almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas). Los datos representan la media de 12 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

lo que puede ser consecuencia del DF en el tejido que impidió la degradación normal de la clorofila, además de la presencia de oscurecimiento de lenticelas y áreas necróticas.

El almacenamiento a 13 °C permitió un incremento de b^* para Haden y Tommy Atkins y una leve reducción para Kent. Ataulfo y Keitt se mantuvieron sin cambios significativos. En la pulpa de mango el parámetro b^* se mantuvo sin cambios significativos ($P>0.05$) para Ataulfo y Kent durante las diferentes temperaturas de almacenamiento (**Figs. 10D, 10E, 10F**). Keitt resultó con un incremento al día 14 a 5 y 8 °C, pero a 13 °C se presentó una reducción.

Haden manifestó una reducción a 5 °C y un incremento en las otras temperaturas (8 y 13 °C). Durante la maduración, Ataulfo y Keitt obtuvieron valores constantes de b^* con respecto al almacenamiento previo a 5 y 8 °C, mientras que a 13 °C mostraron una reducción e incremento respectivamente. El resto de los cultivares no mostraron cambios significativos ($P>0.05$). Diversos estudios coinciden con el comportamiento observado en nuestro caso para los diferentes cultivares a temperaturas bajas y de maduración, tanto para cáscara como para pulpa de mango (Shivashankara y col., 2004; Gil y col., 2006; Machado Rocha y col., 2007). Mientras que en otros casos difiere (McCollum y col., 1993; Ornelas-Paz y col., 2008; Zahara y Singh, 2011) ya que los valores de b^* incrementaron o disminuyeron durante el almacenamiento a temperaturas bajas. Brecht y col. (2012) reportaron que la falta de coloración en los frutos de mango puede ocurrir como consecuencia del rompimiento de las células del mesocarpio y exocarpio, así como por la inhibición de la síntesis de carotenoides debido a la exposición prolongada a temperaturas bajas.

3) Ángulo de matiz (°Hue)

En la **Fig. 11** se presentan los resultados de ángulo de matiz para los diferentes cultivares de mango durante el almacenamiento a temperaturas bajas más 7 días a 21 °C (maduración). Tommy Atkins obtuvo los valores menores de ángulo de matiz durante el almacenamiento independientemente de la

temperatura, asociándose los valores con la tonalidad roja (presencia de antocianinas), mostrando diferencia significativa ($P < 0.05$) con el resto de los cultivares.

Durante el almacenamiento a 5 °C, solo Keitt exhibió un incremento del ángulo de matiz al día 14, mientras que el resto de los cultivares permanecieron constantes (**Fig. 11A**). Keitt presentó una reducción durante los primeros 7 días a 8 °C, mientras que Ataulfo lo mostró hasta al día 21 (**Fig. 11B**). El resto de los cultivares permanecieron sin cambios significativos ($P > 0.05$). A 13 °C, Ataulfo, Haden y Tommy Atkins manifestaron una reducción, obteniendo una mayor proporción de cáscara amarilla. Kent y Keitt permanecieron sin cambios (**Fig. 11C**).

En maduración todos los cultivares con excepción de Tommy Atkins presentaron una reducción significativa en el ángulo de matiz obteniendo una coloración verde amarilla, lo que se puede apreciar en la **Fig.7**.

En pulpa de mango se observó mayor variabilidad en los resultados del ángulo de matiz. El cultivar Kent presentó los valores más bajos independientemente de la temperatura de almacenamiento, seguido por Ataulfo con tonos amarillo-naranja (**Figs. 11D, 11E, 11F**). Los cultivares Ataulfo y Haden se mantuvieron sin cambios durante el almacenamiento a 5 y 8 °C pero disminuyeron a 13 °C, obteniendo mayor tonalidad amarilla-anaranjada que el resto de los cultivares, lo que se aprecia en la **Fig. 9**. Keitt y Tommy Atkins no mostraron cambios significativos durante el almacenamiento a 5 °C (**Fig. 11D**), mientras que a 8 °C (**Fig. 11E**) Tommy Atkins exhibió una reducción (tono amarillo). A 13 °C, estos mismos cultivares obtuvieron un incremento al día 14 para disminuir al día 21 con valores por arriba de los obtenidos para Haden, Ataulfo y Kent (**Fig. 11F**).

Durante el periodo de maduración, Ataulfo presentó una reducción significativa en el ángulo de matiz especialmente para las temperaturas previas de 8 y 13 °C. Haden y Tommy Atkins obtuvieron esta reducción a 5 °C.

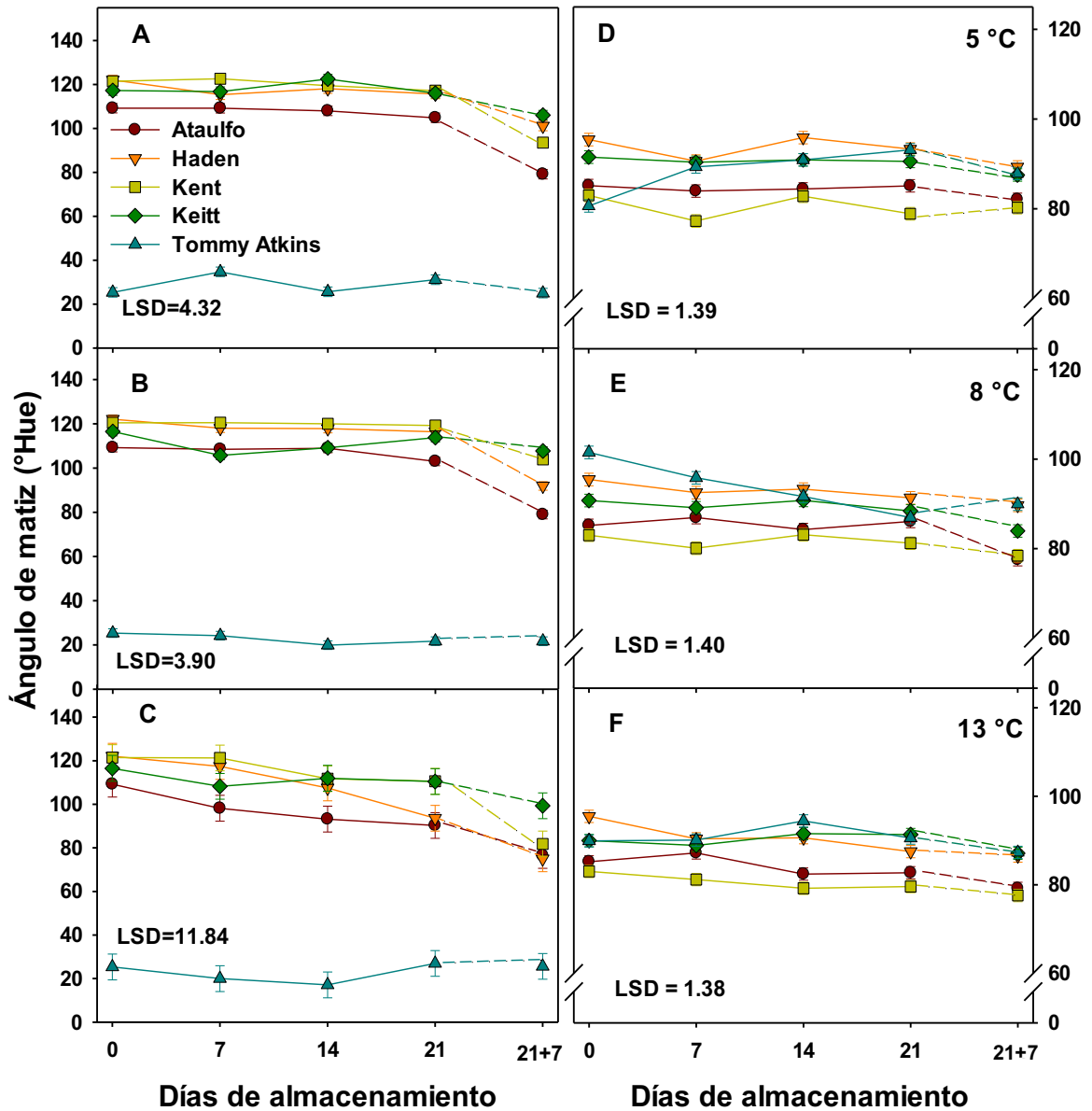


Fig. 11. Ángulo de matiz de cáscara (A, B, C) y pulpa de mango (D, E, F) durante el almacenamiento a 5, 8 y 13 °C (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas). Los datos representan la media de 12 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

El resto de los cultivares no obtuvieron cambios significativos ($P>0.05$) mostrando una coloración amarillo claro. Resultados similares fueron reportados previamente en mango Kensington (Dang y col., 2008; Zahara y Singh, 2011), Manila (Ornelas-Paz y col., 2008), Ataulfo (Robles-Sánchez y col., 2009; Palafox y col., 2012) y Nam Dok Mai (Junmatong y col., 2012) almacenados a temperaturas bajas y durante la maduración lo que fue relacionado con la degradación y síntesis de pigmentos y cambios en los parámetros a^* y b^* , favoreciendo una coloración verde-amarilla al final del almacenamiento a temperaturas bajas y una amarilla durante la maduración. Palafox-Carlos y col. (2012) reportaron que un valor alto de ángulo de matiz en frutos de mango se encuentra asociado con una porción pequeña (<20 % superficie del fruto) de color amarillo, mientras que cuando esta porción incrementa (>21% superficie del fruto) el ángulo de matiz disminuye considerablemente y la coloración en el fruto cambia. Este comportamiento ha sido atribuido a la biosíntesis de carotenoides que ocurre con el aumento climatérico del fruto iniciada por la acción del etileno.

b. Firmeza

En la **Fig. 12** se exhibe la firmeza de los cultivares de mango con respecto a los días de almacenamiento en frío más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Durante el almacenamiento a 5 °C se observó una disminución de la firmeza en todos los cultivares durante los primeros 7 días de almacenamiento (**Fig. 12A**). Ataulfo y Keitt permanecieron constantes el resto del almacenamiento, mientras que Kent continuó con una reducción en la firmeza. Haden y Tommy Atkins manifestaron un incremento con valores similares entre ellos ($P>0.05$). Durante la maduración (21 °C) posterior al almacenamiento en frío, todos los cultivares presentaron una reducción significativa de la firmeza, obteniendo Ataulfo y Haden los valores más bajos.

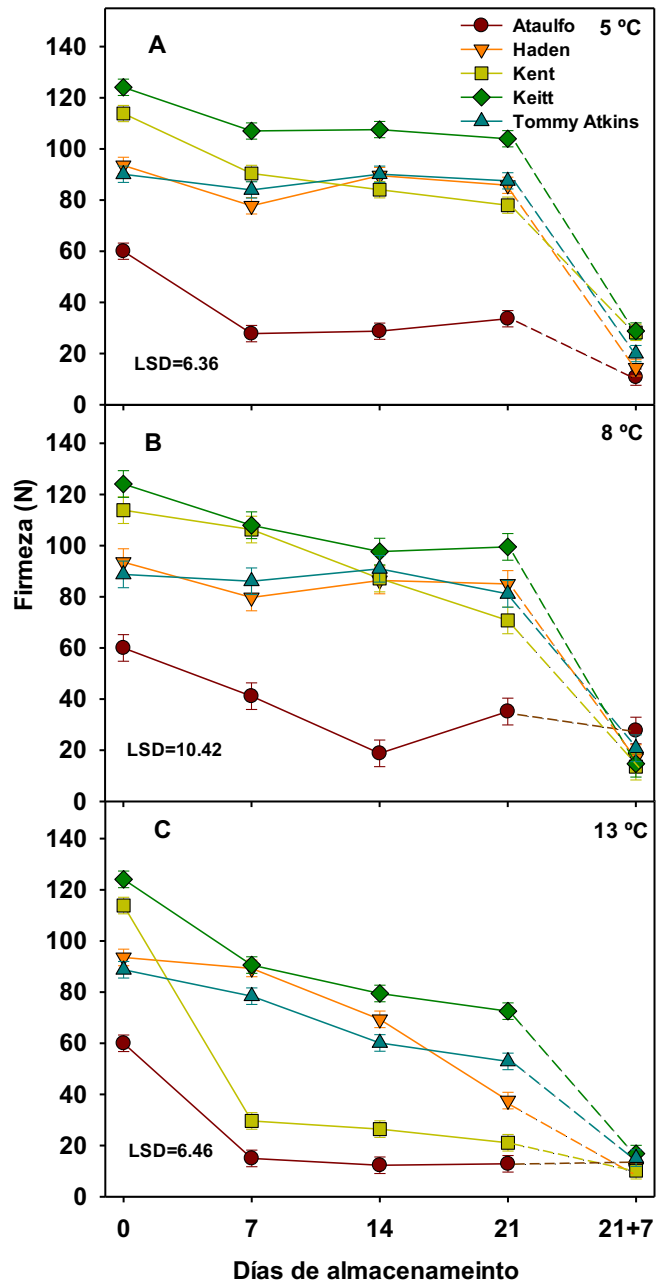


Fig. 12. Firmeza de mango durante el almacenamiento a 5 (A), 8 (B) y 13 °C (C) (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas). Los datos representan la media de nueve réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Cuando los frutos se almacenaron a 8 °C (**Fig. 12B**), Ataulfo y Keitt mostraron una reducción de la firmeza solo durante los primeros 14 días obteniendo los valores menores y mayores (19.74 y 104.52 N), respectivamente. Haden y Tommy Atkins se mantuvieron sin cambios significativos ($P>0.05$), mientras que Kent presentó una reducción durante todo el almacenamiento similar al almacenamiento a 5 °C.

En maduración después de ser almacenado a 8 °C, el cultivar Ataulfo permaneció constante con valores superiores al resto de los cultivares que exhibieron una reducción significativa en la firmeza. Durante el almacenamiento a 13 °C, Ataulfo y Haden mostraron una pérdida significativa de firmeza al día 7 (75.0% y 73.9%, respectivamente) (**Fig. 12C**). El resto de los cultivares obtuvieron una reducción constante, presentando Keitt los valores más altos al final del almacenamiento (73.2 N). Después de 7 días de maduración, los diferentes cultivares exhibieron una pérdida significativa de la firmeza a excepción de Ataulfo que permaneció constante. Sin embargo, los valores de este cultivar resultaron inferiores a los recomendados para la comercialización en fresco de mango (20 N) según Contreras-Martínez y col. (2003).

Dea y col. (2010a) relacionaron la pérdida de firmeza en mango con una disminución en la fluidez de los micro-dominios de la membrana y con el daño en las proteínas que en conjunto conducen a la rigidez de la membrana celular durante el DF, especialmente cuando los frutos fueron transferidos a maduración. Sayyari y col. (2011) relacionaron esta reducción en la firmeza con la pérdida en la integridad de la pared celular, ya que ocurre una descomposición de las sustancias pécticas que incrementa la solubilidad de las pectinas. Por otra parte, una retención mayor de la firmeza durante el almacenamiento a temperaturas bajas puede estar asociada con la pérdida de la capacidad del fruto de convertir ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) en etileno durante el almacenamiento, limitando la maduración normal del fruto como parte de los síntomas del DF (Lederman y col., 1997).

Resultados similares fueron previamente reportados en mango Nam Dok Mai (Ketsa y col., 2000), Kensington (Nair y Singh, 2003), Zill (Zheng y col., 2007) y Carabao (Cantre y col., 2013) durante el almacenamiento a temperaturas bajas, ya que los frutos mostraron una reducción de firmeza durante los primeros días de almacenamiento. Las temperaturas bajas provocaron un colapso estructural y un incremento en la permeabilidad celular que en conjunto provocaron el ablandamiento del tejido y el deterioro del fruto (Ketsa y col., 2000; Cantre y col., 2013). Por otra parte, en los cultivares Irwin (Shivashankara y col., 2004) y Nam Dok Mai (Junmatong y col., 2012) se observó una retención de la firmeza durante el almacenamiento a 5 °C y posterior almacenamiento a temperatura ambiente, lo que fue atribuido a la maduración irregular del fruto que provocó la rigidez celular (Junmatong y col., 2012).

c. Sólidos solubles totales (SST)

Los SST están relacionados con la madurez del fruto y un incremento se relaciona con el dulzor del mismo. En este estudio, el cultivar Ataulfo obtuvo los valores más altos de SST independientemente de la temperatura de almacenamiento, presentando diferencia estadística ($P < 0.05$) en relación al resto de los cultivares (**Fig. 13**). Lo que se puede atribuir a la hidrólisis del almidón y degradación de la pared celular del fruto que se observó previamente mediante la pérdida de firmeza (**Fig. 12**). La mayor síntesis de SST fue observada al final del almacenamiento (día 21) en los frutos almacenados a 13 °C (22.8 °Brix), seguido por el almacenamiento a 8 (21.26 °Brix) y 5 °C (21.13 °Brix). Por otro lado, el cultivar Keitt mostró el menor contenido de SST con respecto al resto de los cultivares, permaneciendo los SST sin cambios significativos a 5 °C (8.2 °Brix) (**Fig. 13A**), un incremento moderado al día 21 a 8 °C (9.9 °Brix) (**Fig. 13B**), y un incremento significativo a 13 °C (12.73 °Brix) (**Fig. 13C**), lo que puede ser consecuencia de la temperatura de almacenamiento.

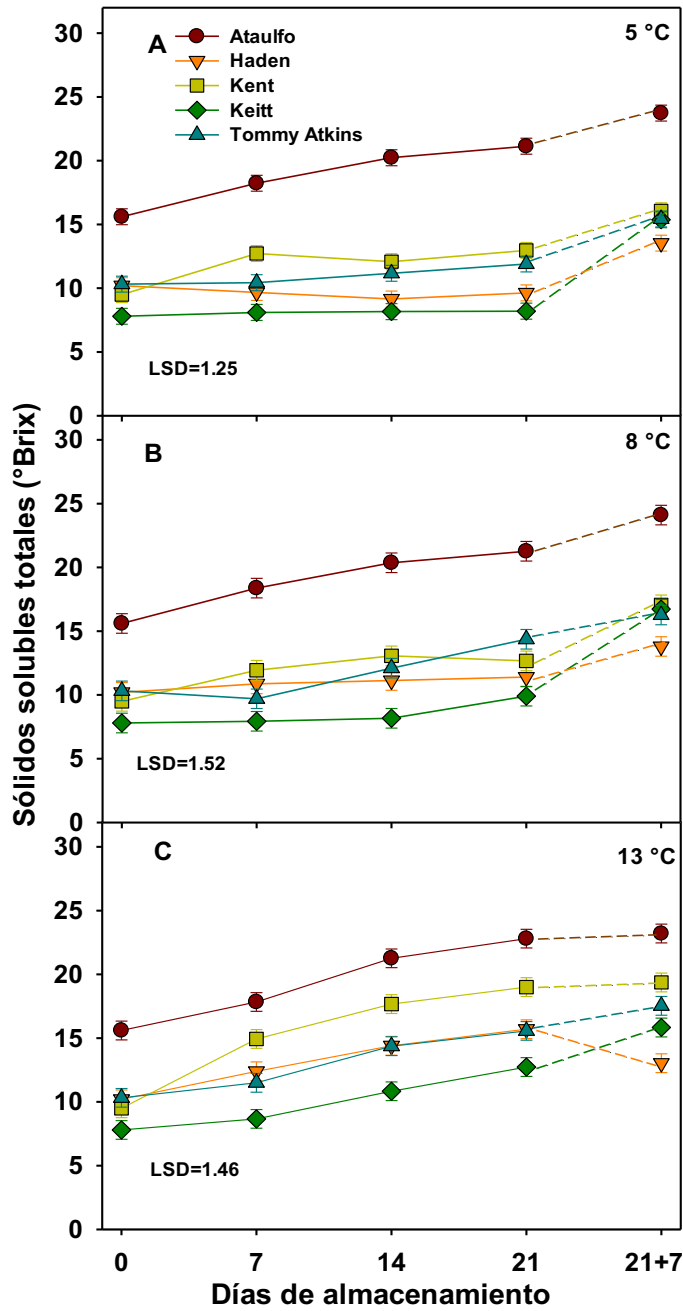


Fig. 13. Sólidos solubles totales (SST) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 (A), 8 (B) y 13 °C (C) (líneas continuas) más 7 días a 21 °C (líneas discontinuas). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Cuando los frutos fueron expuestos a maduración después del almacenamiento a 5 y 8 °C, todos los cultivares presentaron un incremento en los SST; mientras que a 13 °C, Keitt y Tommy Atkins obtuvieron un incremento (degradación de almidón y síntesis de azúcares simples), Ataulfo y Kent una retención (equilibrio en el consumo y producción de azúcares simples) y Haden una reducción (asociada con la senescencia del fruto y por lo tanto el gasto de energía). Es importante mencionar que el cultivar Ataulfo mantuvo los valores más altos de SST durante todo el almacenamiento.

Montalvo y col. (2009) mencionaron que una mayor acumulación de SST en los frutos puede permitir una mayor tolerancia al almacenamiento a temperaturas bajas debido a que los azúcares simples funcionan como osmoreguladores en la célula reduciendo su permeabilidad. Por lo que el contenido de SST presentados por el cultivar Ataulfo pudo contribuir a generar tolerancia al DF en el fruto.

Un cambio mínimo en los SST está relacionado con el daño en el metabolismo provocado por las temperaturas bajas que limitan la actividad de las enzimas hidrolíticas necesarias para la producción de azúcares simples (González-Aguilar y col., 2000; Shivashankara y col., 2004; Junmatong y col., 2012; Siddiq y col., 2013). Ding y col. (2007) reportaron que frutos de mango almacenados a 5 °C presentaron menor síntesis de SST con respecto a los frutos almacenados a 14 °C (8.8 a 12.5 °Brix), similar a lo observado en este estudio.

3. Compuestos bioactivos

De acuerdo a los resultados obtenidos previamente en IDF y calidad, el almacenamiento a 5 °C indujo el mayor IDF, así como las mayores diferencias entre los cultivares con respecto a los parámetros de calidad, por lo que se decidió analizar el comportamiento de algunos compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en la pulpa de mango como respuesta al DF.

a. Compuestos fenólicos totales (CFT)

Los cambios en el contenido de compuestos fenólicos en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C se muestran en la **Fig. 14A**. El cultivar Ataulfo obtuvo el mayor contenido de CFT durante el almacenamiento a 5 °C (52.5-109.9 mg EAG/100 g P.F.), mientras que Kent mostró la menor acumulación (16.6-21.07 mg EAG/100 g P.F.). Los cultivares Haden, Kent y Tommy Atkins no presentaron cambios significativos ($P>0.05$) durante el almacenamiento, mientras que Keitt por otra parte mostró un incremento moderado durante los primeros 7 días, pero con valores por debajo de los obtenidos para Ataulfo y Haden. Cuando los frutos fueron transferidos a 21 °C después del almacenamiento en frío, todos los cultivares obtuvieron una reducción en el CFT, manteniendo Ataulfo el mayor contenido. Resultados similares fueron observados cuando los frutos fueron almacenados a 13 °C (**Fig. 14B**). Ataulfo mantuvo el mayor CFT (105.5 mg EAG/100 g P.F.), mientras que el resto de los cultivares presentaron valores por debajo. Tommy Atkins obtuvo los menores valores de CFT de manera general (14.39 mg EAG/100 g P.F.). El periodo de maduración (día 21 + 7) provocó una reducción del CFT para Ataulfo, Keitt y Tommy Atkins, mientras que los cultivares Haden y Kent obtuvieron una retención e incremento, respectivamente.

Un incremento en el contenido de fenólicos totales en conjunto con la acumulación de los SST puede contribuir a reducir la susceptibilidad al DF en los frutos de mango Ataulfo. De acuerdo con Robles-Sánchez y col. (2009) y Ma y col. (2011), los fenólicos están involucrados en la reducción de reacciones deteriorativas ya que presentan propiedades de óxido-reducción, actuando como donadores de hidrógeno (H^+), inactivadores del 1O_2 y H_2O_2 .

Resultados similares a los obtenidos en el cv. Ataulfo fueron previamente reportados por Robles-Sánchez y col. (2009) y Manthey y Perkins-Veazie (2009), ya que dichos autores observaron que el incremento en el contenido de compuestos fenólicos durante el almacenamiento a temperaturas bajas

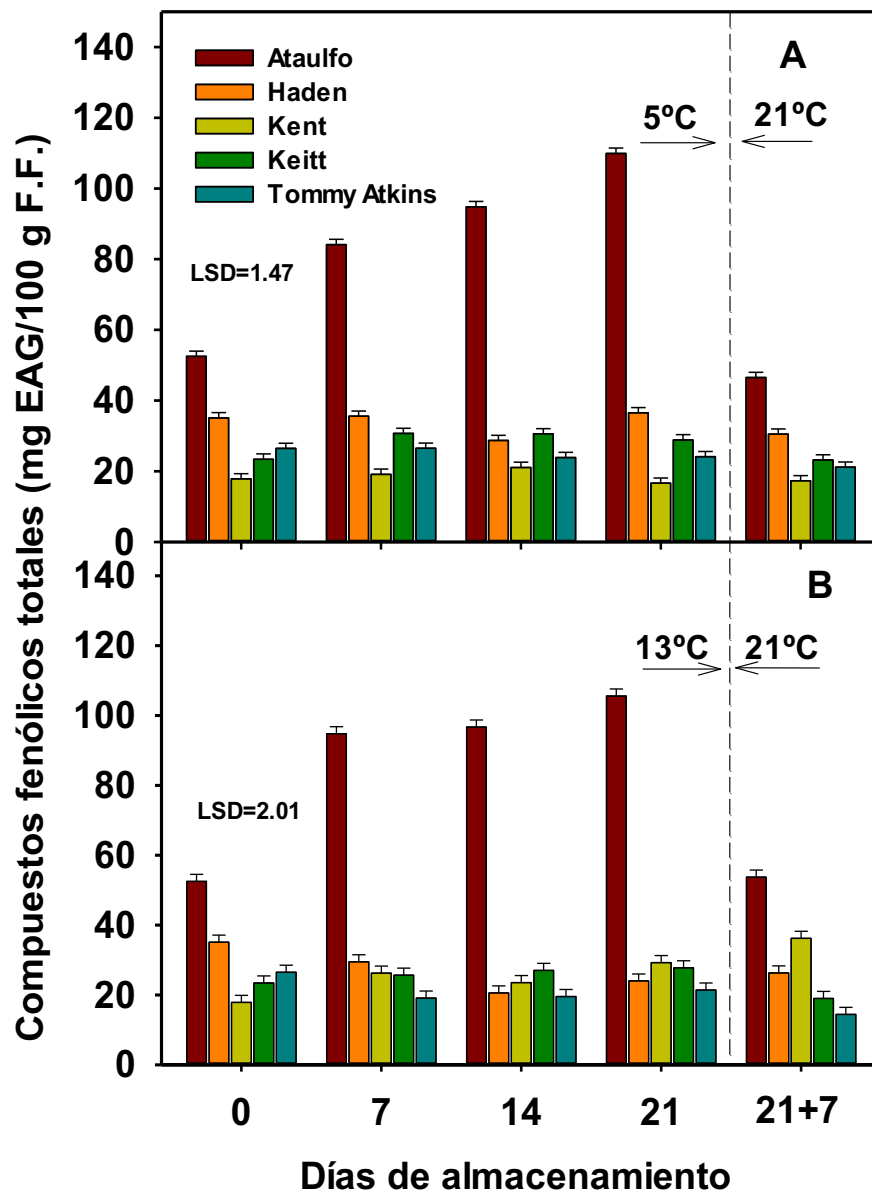


Fig. 14. Compuestos fenólicos totales (CFT) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 13 °C (B) más 7 días a 21 °C. Los resultados representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$

proporcionaron al tejido mayor tolerancia al daño por frío. Pero difiere de lo observado en mango Choke Anan (Kondo y col., 2005) y Wacheng (Zhao y col., 2006), ya que dichos autores observaron una reducción en los fenólicos totales durante el almacenamiento a temperaturas bajas, lo que relacionaron con el estado de madurez del fruto, además de la presencia de oscurecimiento en la pulpa debido a la oxidación de compuestos fenólicos ocasionado por la enzima PPO. Además, Siddiq y col. (2013) y Cantre y col. (2013) encontraron que el contenido de compuestos fenólicos en mango Tommy Atkins y Carabao incrementaba durante los primeros días de almacenamiento a temperaturas bajas contribuyendo a mejorar su actividad antioxidante, mientras que en nuestros resultados Tommy Atkins mostró una disminución de los fenólicos. Dicha reducción en los CFT podría ser influenciada por la senescencia del fruto la cual está asociada con menor y mayor actividad de FAL y catecol oxidasa, respectivamente, menor producción de etileno y acumulación de ERO's (González y col., 2007; Zhang y col., 2013).

b. Flavonoides totales

En la **Fig. 15A** se muestran los cambios en el contenido de flavonoides totales durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C. Al inicio del almacenamiento, el contenido de flavonoides fue mayor en Tommy Atkins (55.3 mg EQ/100 g P.F.) comparado con el resto de los cultivares. Sin embargo, Ataulfo fue el único cultivar que mostró un incremento ($P<0.05$) en el contenido de flavonoides durante el almacenamiento (40.6 a 80.4 mg EQ/100 g P.F.). El resto de los cultivares no mostraron cambios significativos ($P>0.05$) excepto por Kent que mostró una reducción después del día 14. En maduración posterior al almacenamiento en frío, no se observaron cambios significativos en el contenido de flavonoides. Durante el almacenamiento a 13 °C (**Fig. 15B**), la síntesis de flavonoides incrementó significativamente en Ataulfo, alcanzando 116.0 mg EQ/100 g P.F. al día 21, lo que representa 30.7% más que lo obtenido a 5 °C (**Fig. 15A**).

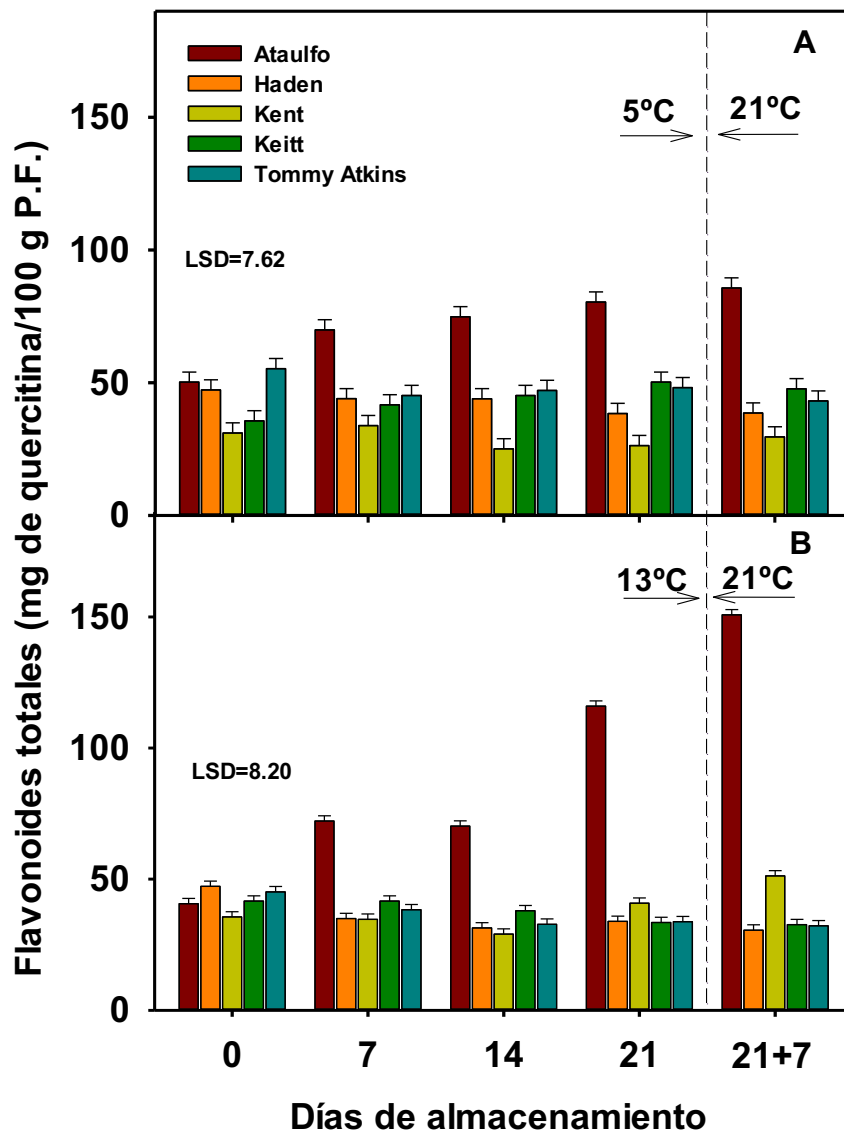


Fig. 15. Flavonoides totales en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 (A) y 13 °C (B) más 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

El resto de los cultivares no mostraron cambios en el contenido de los flavonoides después de 7 días con valores cercanos a 37.0 mg EQ/100 g P.F.

Durante el almacenamiento a 21 °C, el contenido de flavonoides incrementó significativamente en Aaulfo obteniendo en promedio 4.6 veces (150.7 mg EQ/100 g P.F.) más contenido que el observado en los otros cultivares. El mayor contenido de compuestos fenólicos observados en Aaulfo podría estar generando estabilidad a la membrana, pared celular y espacio extracelular, limitando la difusión de los radicales libres y reduciendo la susceptibilidad a temperaturas bajas.

Los compuestos fenólicos son sintetizados por la ruta del ácido shiquímico a partir de los precursores derivados del metabolismo de los carbohidratos por la glicólisis (fosfoenol piruvato y eritrosa-4-fosfato) (Tomás-Barberán y Espin, 2014). Los azúcares son convertidos a acetil-CoA y luego a malonil-CoA (ruta de poliacetato), los cuales en combinación con p-coumaril-CoA (fenilalanina y tirosina) (Hichri y col., 2011) y enzimas claves como la fenilalanina amonio liasa (FAL) o tirosina amonio liasa (TAL) pueden favorecer la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos, flavonoides y quinonas (Tomás-Barberán y Espin, 2014). En este sentido, una mayor acumulación de compuestos fenólicos y flavonoides en Aaulfo puede ser asociada con un mayor contenido de azúcares solubles observados durante la maduración de este cultivar.

4. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los alimentos es determinada por una mezcla de diferentes antioxidantes con diferentes mecanismos de acción (Moo-Huchin y col., 2014).

En la **Fig. 16** se muestra la actividad antioxidante por el método DPPH de los cinco cultivares de mango durante el almacenamiento a 5 y 13 °C más 7 días a 21 °C. El almacenamiento a 5 °C no generó cambios significativos en Haden, Kent, Keitt y Tommy Atkins durante el almacenamiento (**Fig. 16A**), mientras que Aaulfo mostró un incremento en la actividad antioxidante, siendo

en promedio 6.1 veces mayor que el resto de los cultivares al día 21. En maduración después del estrés por frío, todos los cultivares mostraron una reducción en la actividad antioxidante, manteniendo Ataulfo los valores más altos. En cuanto a la correlación del método DPPH con los compuestos fenólicos, Ataulfo mostró buena correlación con ambos compuestos (CFT, $r=0.63$, $P<0.05$; flavonoides, $r=0.82$, $P<0.00$), mientras que el resto de los cultivares solo mostraron asociaciones significativas con los CFT, especialmente Haden ($r=0.65$, $P<0.01$), Keitt ($r=0.76$, $P<0.001$) y Tommy Atkins ($r=0.77$, $P<0.001$). Durante el almacenamiento a 13 °C (**Fig. 16B**), Ataulfo mantuvo la mayor actividad antioxidante, obteniendo valores de 763.6 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g F.F.}$ al día 21 (mayor que a 5 °C). Haden mostró la menor actividad (10.0 veces menor que Ataulfo). El resto de los cultivares no presentaron cambios significativos ($P>0.05$) durante el almacenamiento. En cuanto a la correlación con los compuestos fenólicos, Ataulfo presentó buena correlación con CFT ($r=0.88$, $P<0.00$), pero no con flavonoides. Por otra parte, Haden solo mostró correlación con flavonoides ($r=0.81$; $P<0.00$). El almacenamiento a 21 °C redujo 2.1 veces la actividad antioxidante en Ataulfo, mientras que el resto de los cultivares no exhibieron cambios.

Por el método ABTS, los valores estuvieron en el rango de 203.3 a 1088.6 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g P.F.}$ durante el almacenamiento a 5 °C (**Fig. 16C**). Ataulfo nuevamente presentó los valores más altos después de 21 días de almacenamiento seguido por Tommy Atkins (500.8 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g P.F.}$), Haden (461.5 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g P.F.}$), Keitt (373.5 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g P.F.}$) y Kent (267.5 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g P.F.}$). Durante el almacenamiento a 21 °C posterior al DF, solo Haden y Tommy Atkins presentaron una reducción en la actividad antioxidante, ya que el resto de los cultivares no mostraron cambios significativos ($P>0.05$). Todos los cultivares presentaron buena correlación con los CFT y flavonoides totales. A 13 °C (**Fig 16D**), Ataulfo obtuvo la mayor actividad (3.3 veces) con respecto al resto de los cultivares.

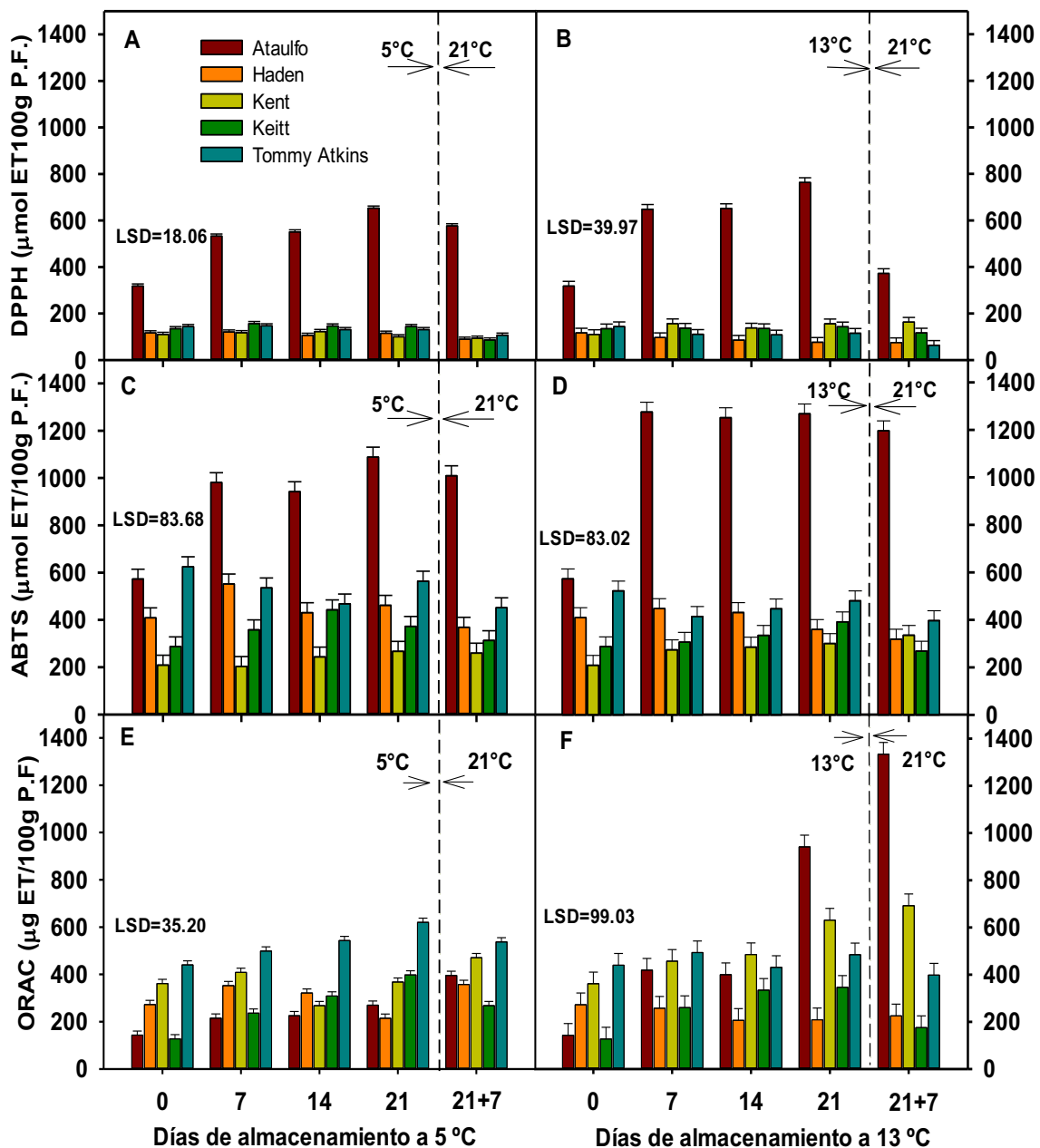


Fig. 16. Capacidad antioxidante por los métodos DPPH (A, B), ABTS (C, D) y ORAC (E, F) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 y 13 °C más 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Ataulfo y Keitt presentaron buena correlación entre los valores de ABTS y CFT ($r=0.71$ $P<0.01$ and 0.64 $P<0.01$, respectivamente), mientras que los cv. Kent y Tommy Atkins mostraron dicha correlación con flavonoides ($r=0.64$ $P<0.01$ and 0.83 $P<0.00$). Durante la maduración, todos los cultivares mantuvieron la actividad antioxidante con valores similares a los obtenidos en el almacenamiento previo (13 °C).

Al llevar a cabo el análisis por el método de ORAC se pudo observar que Tommy Atkins y Haden presentaron la mayor y menor actividad antioxidante, respectivamente (**Fig. 16E**). Después de 21 días a 5 °C más 7 días a 21 °C, Ataulfo, Haden y Kent presentaron un incremento en la actividad antioxidante, mientras que Tommy Atkins se mantuvo sin cambios con respecto al almacenamiento previo. A 13 °C, todos los cultivares presentaron un incremento en la actividad antioxidante especialmente para Ataulfo que obtuvo los valores más altos al día 21 (941.7 $\mu\text{mol ET}/100$ g P.F.) (**Fig. 16F**). Haden por otro lado, presentó la menor actividad, similar a lo observado con los métodos descritos previamente. Durante la maduración posterior al almacenamiento a temperaturas bajas, Ataulfo incrementó 1.4 veces la actividad antioxidante, pero el resto de los cultivares no obtuvieron cambios significativos ($P>0.05$). No se logró observar una correlación entre los valores del método de ORAC y los CFT para Ataulfo, Haden, Kent y Tommy Atkins, pero sí una moderada correlación en el caso de Keitt ($r=0.52$; $P<0.05$). Por otro lado, Ataulfo, Keitt y Tommy Atkins mostraron mejor correlación del método ORAC con flavonoides ($r=0.83$, $P<0.00$; $r=0.84$, $P<0.00$, $r=0.789$, $P<0.001$, respectivamente).

La acumulación de flavonoides o compuestos fenólicos totales está fuertemente asociada con el incremento de la actividad antioxidante y la reducción en la susceptibilidad a las temperaturas bajas en frutos de mango. Resultados similares fueron reportados por Shivashankara y col. (2004) quienes observaron que la actividad antioxidante en mango Irwin no tuvo ninguna correlación con los fenólicos totales, quercetina y β -caroteno. También coincide

con Robles-Sánchez y col. (2009) ya que encontraron que en mango Ataulfo la acumulación de compuestos fenólicos como ácido gálico, ácido dehidrobenzóico, ácido clorogénico, ácido ferúlico y ácido cafeico presenta un mayor poder reductor, incrementando la actividad antioxidante en el fruto. Ma y col. (2011) observaron que Ataulfo mostró la mayor actividad antioxidante comparado con el resto de los cultivares evaluados, atribuyendo esta diferencia a la presencia de vitamina C, polifenoles, flavonoides y flavonoles siendo los compuestos fenólicos ácidos y los flavonoides los principales fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante, lo cual corresponde con lo observado en el presente estudio.

Por otra parte, Robles-Sánchez y col. (2013) reportaron que el incremento en la actividad antioxidante en mango estuvo asociado con la acumulación de diferentes compuestos bioactivos (α -tocoferol, ácido ascórbico, fenólicos ácidos y β -caroteno), mostrando una mayor correlación con los compuestos fenólicos. Así mismo, la reducción en la actividad antioxidante presentada en mango Ataulfo se asoció con el estado de madurez debido a que en madurez avanzada el fruto presentó mayor actividad celular e incremento en la respiración, promoviendo la reducción de compuestos bioactivos utilizados para neutralizar la generación de radicales libres al final de la cadena transportadora de electrones (Palafox-Carlos y col., 2013). En este sentido, la reducción en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante puede ser responsable del incremento en la susceptibilidad al daño por frío en frutos de mango.

De esta primera etapa pudimos concluir que de los cinco cultivares analizados, el cultivar Keitt resultó ser el de mayor susceptibilidad a las temperaturas bajas, especialmente cuando se almacenaron a 5 °C, reduciendo los parámetros de calidad y la síntesis de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en el fruto. Por lo que fue seleccionado para los posteriores análisis.

B. SEGUNDA ETAPA: EFECTO DE LA COMBINACIÓN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO Y TRES DIFERENTES SALES DE CALCIO SOBRE LA TOLERANCIA AL DF EN MANGO KEITT

De los resultados del preliminar que se realizó sobre tres diferentes concentraciones de cada sal de calcio, se encontró que un 0.5% (p/v) proporcionaba la mayor retención de la firmeza y menor IDF, por lo que esta concentración se utilizó en esta etapa para seleccionar una de las tres: cloruro de calcio, citrato de calcio y lactato de calcio.

1. Porcentaje de pérdida de peso (%PP)

Mantener el peso inicial de los frutos es deseable para mantener su calidad, ya que la pérdida de peso está directamente asociada con la pérdida de agua y con la aparición de marchitamiento, que además se relaciona con una tasa metabólica alta (Vázquez-Celestino y col., 2016).

En la **Fig. 17** se muestra el comportamiento de los frutos en relación a la pérdida de peso durante el almacenamiento a 5 °C más un control a 13 °C. Todos los tratamientos presentaron una pérdida de peso significativa durante los días de almacenamiento pero con valores por debajo del 6% (promedio aceptable para comercializarse). El tratamiento control 13 °C presentó el menor %PP con respecto al resto de los tratamientos con diferencia significativa ($P < 0.05$) después de los 24 días. Los frutos con TH-CaCl₂ obtuvieron la mayor pérdida de peso a partir del día 12 con diferencia significativa ($P < 0.05$) con TH y control 13 °C, lo que puede estar relacionado con una mayor actividad metabólica, pérdida de humedad y un mayor daño en las lenticelas por la presencia del CaCl₂ debido a que los iones de cloro generan rompimiento celular lo que provoca la deformación de la lenticela. Martín-Diana y col. (2006) mencionaron que la presencia de cloro en lechuga provocaba una mayor pérdida de la turgencia celular, por lo que podía acelerar la pérdida de peso en el fruto. Los tratamientos TH, TH-LacCa y TH-CitCa no mostraron diferencia estadística ($P > 0.05$) entre ellos.

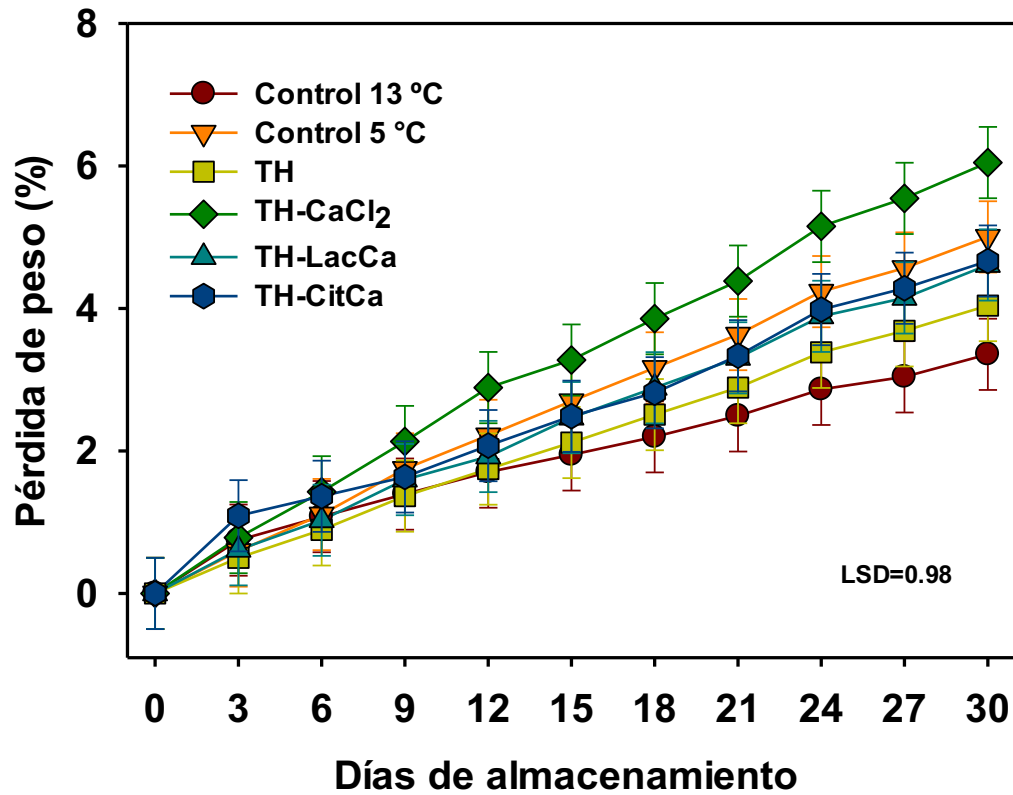


Fig. 17. Porcentaje de pérdida de peso (%PP) en frutos de mango durante el almacenamiento a temperaturas bajas (5 y 13 °C). Los datos representan la media de cinco réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

El mango Keitt se caracteriza por ser un fruto con una gran cantidad de lenticelas en la cutícula, lo que incrementa la permeabilidad y la liberación de agua. Además, con el tiempo de almacenamiento incrementa el porcentaje de la zona amorfa (desordenada) (74%) y reduce la cera epidérmica en el fruto (Petit-Jiménez y col., 2009). Petit-Jiménez y col. (2009) observaron que al aplicar un TH en mango Keitt el %PP se redujo comparado con el control. El TH generó un incremento en la formación de estructuras de cristales en transición con una distribución irregular en la cutícula, incrementando la presencia de estructuras cristalinas en transición u ordenadas, limitando la liberación de agua por las lenticelas.

Ramayya y col. (2012) reportaron que el uso de TH (40 °C) en mango Manila redujo la pérdida de peso respecto al control (25.9%), lo que relacionaron con una inhibición de las enzimas de síntesis del etileno ACC sintasa y ACC oxidasa ya que a temperaturas mayores de 40 °C se inactivan, reduciendo la respiración del fruto y la maduración. En diferentes vegetales donde se aplicó pre-enfriamiento y CaCl₂ se observó un menor %PP durante el almacenamiento a temperaturas bajas con respecto al control, pero la pérdida de peso aumentó conforme la concentración de calcio se incrementaba, por lo que el mayor %PP se observó a la concentración más alta evaluada (1.5% de CaCl₂) (Chepngeno y col., 2016). Este comportamiento lo atribuyeron los autores a la diferencia en el potencial osmótico que provoca la sal de calcio durante el hidro-enfriamiento

Diferentes cultivares de mango tratados con CaCl₂ por infiltración mostraron %PP similares a los del control (Joyce y col., 2001). Los autores observaron que el calcio penetraba por las lenticelas de la cáscara dándole mayor estabilidad a la pared celular y mayor vida poscosecha; sin embargo, concentraciones elevadas de calcio incrementaban el daño alrededor de la lenticela, pudiendo provocar una mayor respiración y pérdida de agua en el fruto. De acuerdo con Luna-Guzmán y col. (1999), la aplicación de CaCl₂ a

temperaturas altas por tiempos cortos mantiene la integridad del fruto, pero un efecto contrario sucede cuando la aplicación se hace por tiempos prolongados debido a un incremento en la producción de etileno y velocidad de respiración del fruto. En el presente estudio se observó que el 0.5% de CaCl₂ combinado con el TH provocaron una mayor pérdida de peso que el resto de las sales de calcio posiblemente debido al tiempo de inmersión y a la acción de los iones cloruro en la célula, concordando con los resultados de estudios previos.

2. Índice de daño por frío (IDF)

En la **Fig. 18A** se muestra el IDF durante el almacenamiento a 5 °C de mango Keitt tratado con tres sales de calcio en combinación con el TH. Durante los primeros 20 días de almacenamiento todos los tratamientos presentaron un IDF similar a las temperaturas bajas. Sin embargo, al día 30 la fruta del tratamiento control presentó un incremento significativo ($P < 0.05$) en el IDF (1.95) con síntomas como oscurecimiento de lenticelas, picaduras superficiales y áreas necróticas que condujeron a la pudrición del tejido, como se puede apreciar en la **Fig. 19**. Por su parte, los frutos del resto de los tratamientos solo exhibieron oscurecimiento de lenticelas y picaduras superficiales ligeras. Este comportamiento puede estar relacionado con el estrés moderado que ejerce el TH sobre el fruto, permitiendo la activación de proteínas chaperonas de bajo peso molecular (HSPs), la reducción en la expresión de genes de ACC y ACO productores de etileno, así como incremento en la actividad de enzimas responsables de reducir las ERO's (Florissen y col., 1996; Aghdam y col., 2012).

Asimismo, las sales de calcio actúan como molécula de señalización, regulando la expresión de proteínas de la estructura celular con el objetivo de fortalecer la pared celular del tejido (Aghdam y col., 2012). Resultados similares fueron observados previamente en mangos Keitt y Kensington tratados hidrotérmicamente y almacenados a 5 °C, ya que los frutos redujeron la susceptibilidad al DF mostrando oscurecimiento de lenticelas y un incremento

en la síntesis de proteínas de choque térmico y la activación de alfa-amilasas (McCollum y col., 1993; Jacobi y col., 2000). Ma y col. (2014) reportaron que la aplicación de un TH (45 °C) por 10 min fue suficiente para incrementar la tolerancia al DF en kiwi almacenado por 90 días a 0 °C, relacionándolo con el incremento observado en los genes activadores de la respuesta al DF. Así mismo, la aplicación de LacCa a 50 °C inhibió el oscurecimiento del tejido y preservó la firmeza en lechuga mínimamente procesada, reduciendo la pérdida de presión de turgencia e incrementando la actividad de Pectin Metil Esterasa (PME) (Martín Diana y col., 2007), resultado similar a lo observado en este estudio al combinar LacCa y TH.

Cuando los frutos fueron madurados por 7 días (**Fig. 18B**), se observó un incremento en los síntomas de DF, presentando diferencia entre los tratamientos solo al día 20, donde los tratamientos control y TH-CitCa mostraron valores similares de IDF con diferencia significativa ($P<0.05$) respecto a TH, TH-LacCa y TH-CaCl₂. Al transcurrir 30 días a 5 °C + 7 días a 21 °C, todos los tratamientos presentaron un incremento siendo el control el de mayor susceptibilidad con síntomas de picadura superficial, oscurecimiento de lenticelas, escaldado y áreas necróticas (Imágenes que se pueden apreciar en la **Fig. 20**). El estrés generado en el fruto podría haber provocado una disminución en la integridad de la membrana celular debido a una pérdida del empaquetamiento celular (pérdida del contacto célula-célula) y contracción del plasmalema hacia el centro de la célula, provocando picadura superficial como reportaron previamente Alandes y col. (2009). Khademi y col. (2014) reportaron que la aplicación de un TH (50 °C) por 30 min fue efectivo para reducir los síntomas de DF en frutos de caqui durante el almacenamiento a 1 °C más 7 días a 20 °C, lo que atribuyeron a una producción baja de etileno, así como a una reducción en la acumulación de acetaldehído.

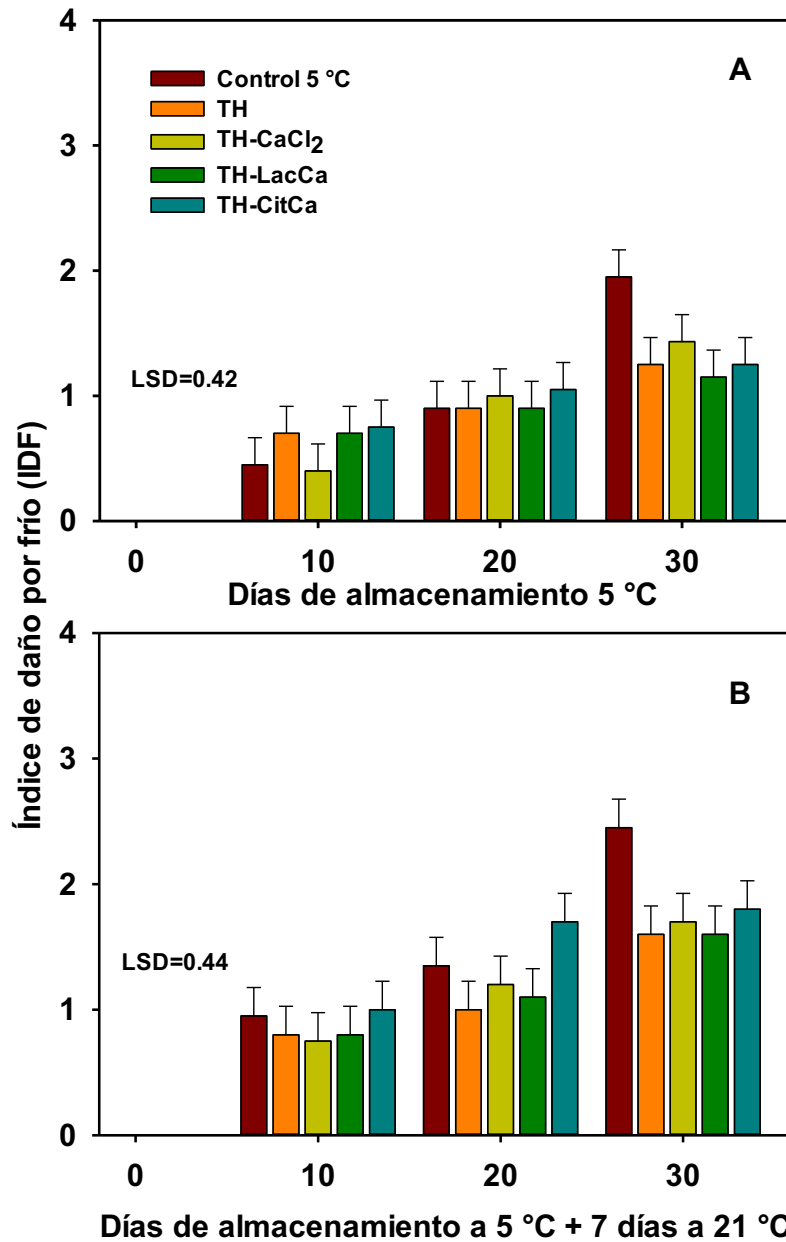


Fig. 18. Índice de daño por frío en frutos de mango Keitt durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días a 21°C (B). Los datos representan la media de cinco réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

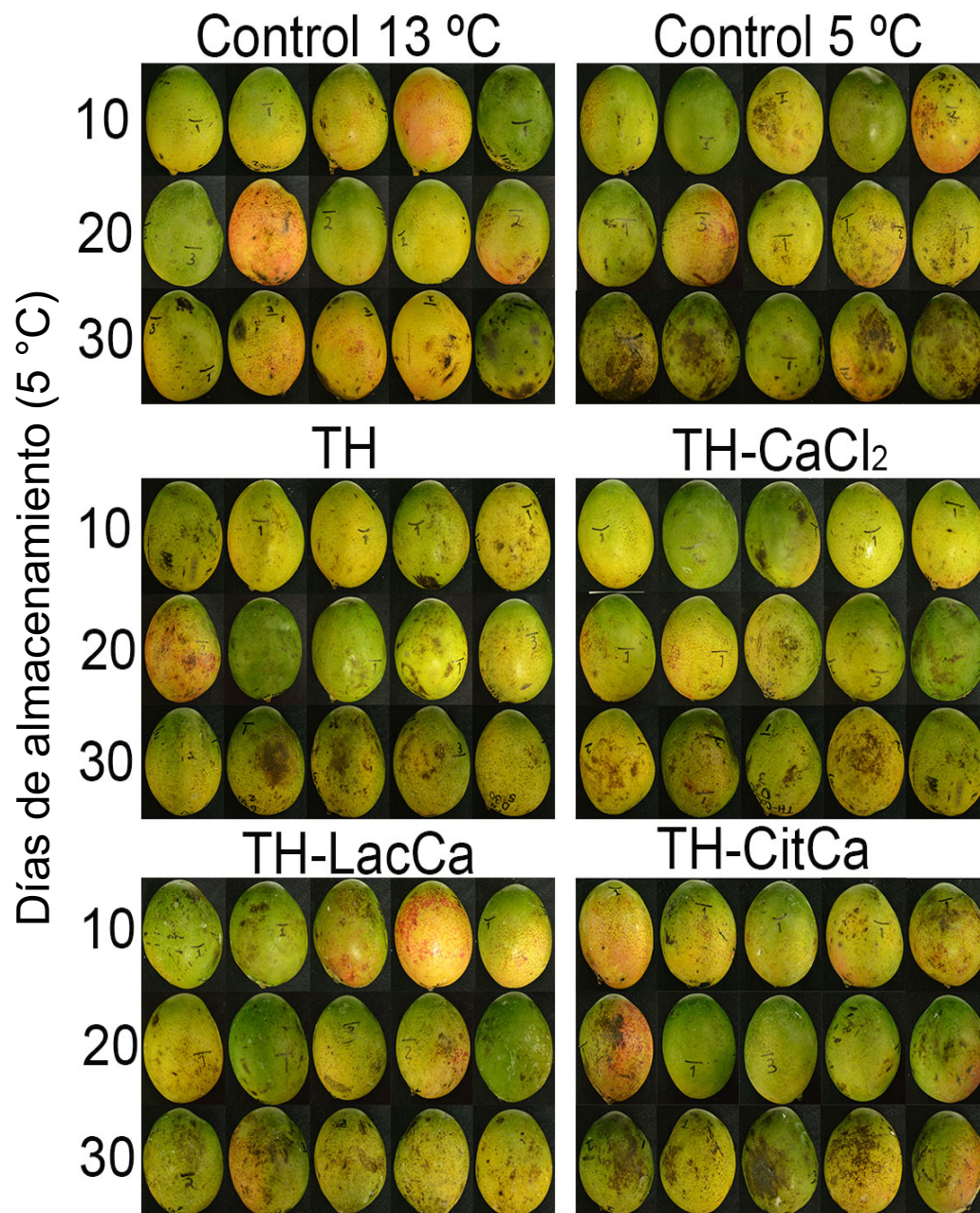


Fig. 19. Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango Keitt almacenados durante 30 días a 5 °C.

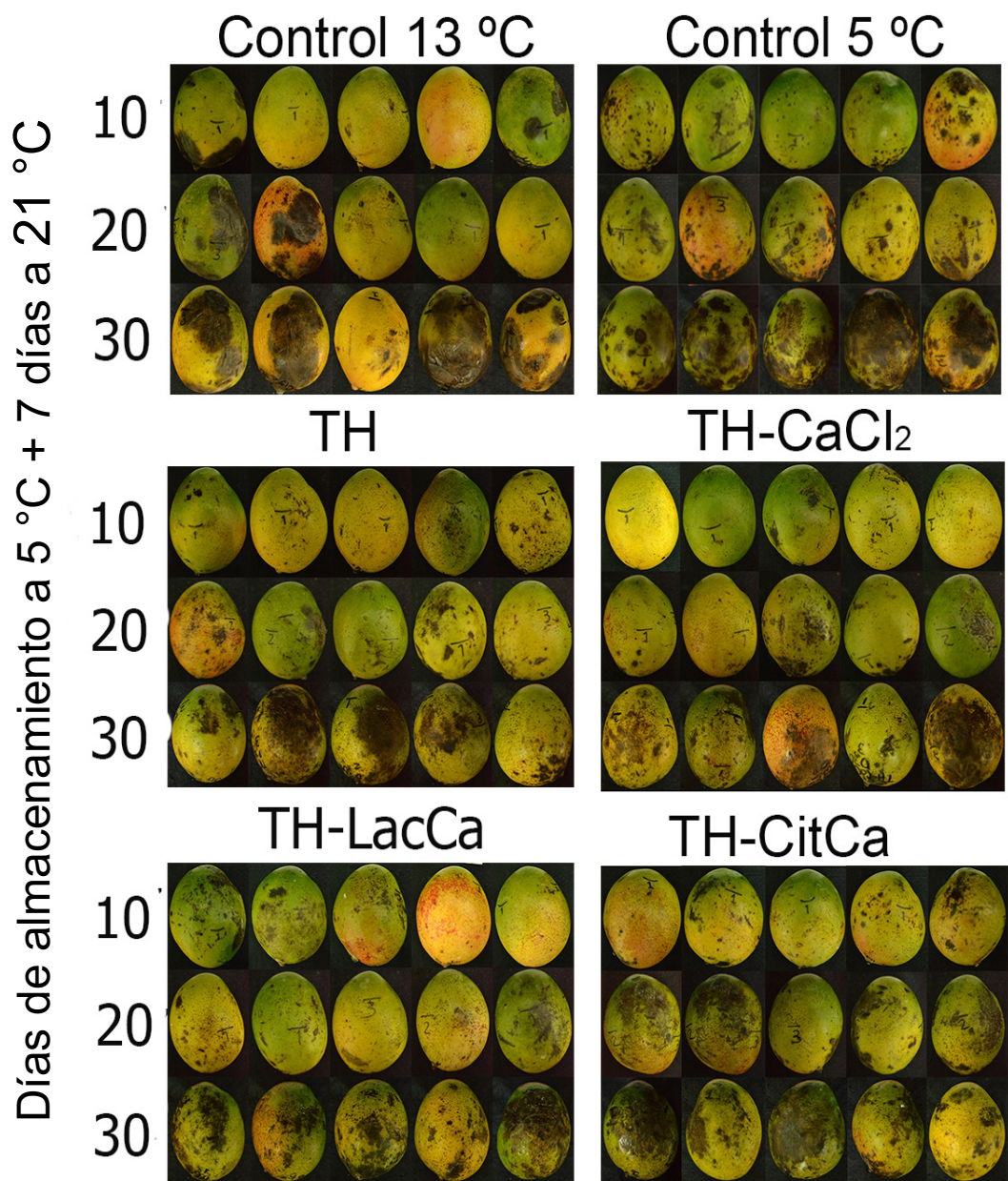


Fig. 20. Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenados a 5 °C más 7 días a 21 °C.

3. Índices fisiológicos

a. % de electrolitos lixiviados (%EL)

Los electrolitos lixiviados son un indicador de la pérdida de la integridad de la membrana atribuida a la maduración y a cualquier daño que pueda relacionarse con el estrés o daño mecánico (Dea y col., 2010). El estado de madurez del fruto, el tiempo y la temperatura de exposición al tratamiento térmico, así como la temperatura de almacenamiento y su interacción con los otros factores influyen en el nivel de EL (Nyanjage y col., 1999).

En este estudio, los frutos almacenados a 13 °C mostraron el mayor %EL durante los primeros 10 días de almacenamiento, debido posiblemente a una mayor velocidad de respiración y degradación de la membrana celular del fruto comparada con los frutos almacenados a 5 °C (**Fig. 21A**). El resto del almacenamiento, los tratamientos control y TH-CitCa promovieron un mayor nivel de lixiviación, mientras que el resto de las sales de calcio y el TH mantuvieron constantes los valores. Este resultado reafirma el comportamiento observado en IDF, ya que la lixiviación de electrolitos es un indicador del daño provocado en la membrana. Al final del almacenamiento (día 30) todos los tratamientos presentaron un incremento significativo ($P < 0.05$) en el %EL, sin diferencia ($P > 0.05$) entre ellos a excepción de TH y TH-LacCa, exhibiendo este último la menor lixiviación. Dicho comportamiento puede atribuirse a que el lactato de calcio participa en la regulación de muchos aspectos del metabolismo, que incluyen la integridad de la membrana y la permeabilidad celular, división celular, absorción de iones y retención de la integridad y unión entre las paredes celulares según lo reportado por Hewajulige y col. (2003).

En contraste a estos resultados, Nyanjage y col. (1999) encontraron que un TH de 46.1 °C por 120 min provocó un incremento significativo en el porcentaje de EL, mostrando además mayor oscurecimiento de lenticelas y oscurecimiento en la pulpa de mango, sin embargo al combinarse con concentraciones altas de calcio la lixiviación disminuyó.

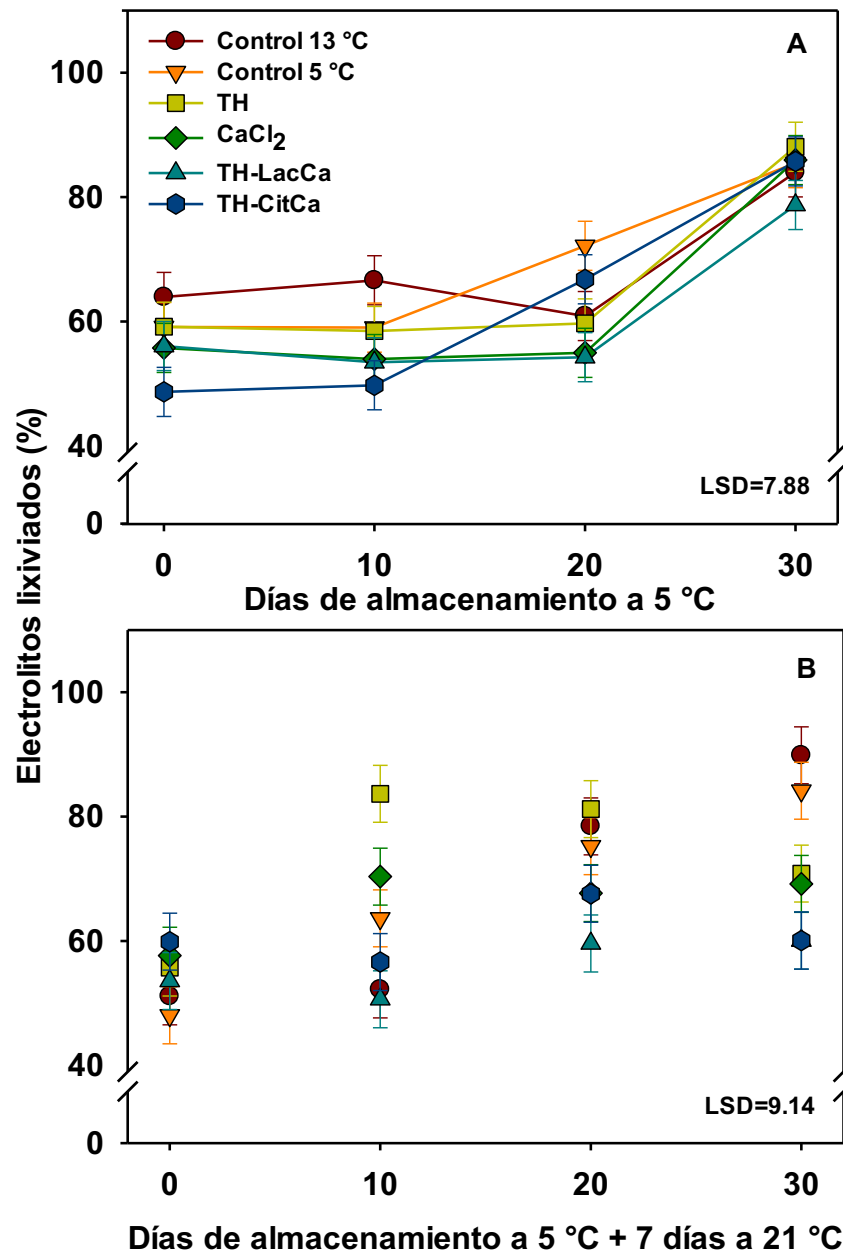


Fig. 21. Porcentaje de electrolitos lixiviados durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días de almacenamiento a 21 °C (B). Los datos representan la media de cuatro réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Por otro lado, resultados similares a los nuestros fueron observados por Alandes y col. (2009), quienes encontraron que la aplicación de LacCa en frutos de pera mínimamente procesada mantenía una mayor integridad celular, observando una pared celular bien definida, contacto célula-célula y la presencia del plasmalema unido a la pared celular. Además, los frutos tratados presentaron menor contenido de soluto extracelular debido a una mayor integridad de la membrana celular. Campos y col. (2003) mencionan que el estrés térmico genera cambios en la membrana celular que aceleran la lixiviación de electrolitos; estos cambios están asociados con un daño en los tilacoides y en la membrana plasmática, que son considerados los sitios principales que se afectan durante el DF. Como consecuencia de las temperaturas bajas, la membrana lipídica comúnmente sufre transiciones de fase, líquido-cristalino a sólido-gel, lo que temporalmente afecta la permeabilidad de la membrana durante el estrés térmico. Los cambios irreversibles de la permeabilidad de la membrana pueden ocurrir cuando ciertos lípidos se agregan para formar una estructura invertida con simetría de embalaje hexagonal (Hexil), la cual rompe la bicapa lipídica incrementando la permeabilidad de la membrana plasmática al agua y solutos al recalentarse (Campos y col., 2003).

Cuando los frutos fueron almacenados a 21 °C por 7 días, los tratamientos TH-CaCl₂, TH-LacCa, y TH-CitCa no presentaron cambios significativos ($P < 0.05$) en el %EL (**Fig. 21B**), ya que el resto de los tratamientos manifestaron un incremento significativo. Los frutos control de ambas temperaturas (5 y 13 °C) obtuvieron un incremento constante de la lixiviación, presentando los valores más altos al final del almacenamiento (89.8 y 84.1%, respectivamente) con diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos. Los tratamientos TH-LacCa y TH-CitCa exhibieron los valores menores (59.8%), sin embargo fueron ligeramente superiores al almacenamiento previo a 5 °C. Los tratamientos control, independientemente de la temperatura de

almacenamiento, presentaron mayor lixiviación por lo que la aplicación del TH solo o en combinación con las diferentes sales de calcio disminuyó el daño a la membrana celular reduciendo la liberación de electrolitos durante la maduración. Esto coincide con la baja presencia de síntomas de DF en los frutos de mango Keitt observada previamente (Fig. 18).

4. Parámetros de calidad

a. Color

1) Luminosidad (L*)

De manera general, los diferentes tratamientos no presentaron cambios significativos en la luminosidad con respecto al almacenamiento a 5 °C (**Fig. 22A**), pero si entre ellos ($P < 0.05$). Al final del almacenamiento, TH-LacCa mantuvo la menor luminosidad con diferencia estadística con los tratamientos control 13 °C, TH-CaCl₂ y TH-CitCa. Estudios previos demostraron que el almacenamiento a 5 °C promovió un incremento de L* en mango control (Gil y col., 2006) así como en mango tratados con CaCl₂-ácido ascórbico (González-Aguilar y col., 2008). En ambos trabajos estos resultados se relacionaron con el cambio de coloración de verde a amarillo, además de que el ácido ascórbico disminuyó el oscurecimiento en el tejido manteniendo valores de L* superiores a los del control (González-Aguilar y col., 2008). Dichos resultados difieren de lo observado en este estudio para el cultivar Keitt, debido a que los frutos mantuvieron la coloración verde-amarillo, lo que impidió un incremento en L* (**Fig. 19**). Por otro lado, en mango Manila almacenado a 5 °C se observó una reducción de la luminosidad debida a la presencia de oscurecimiento en el tejido por la susceptibilidad al DF (Wang y col., 2013), así como a la inhibición de la síntesis de carotenoides (Palafox y col., 2012). Shafiee y col. (2010) observaron que la aplicación de un TH redujo los valores de L* en fresa durante el almacenamiento a -1 °C, presentando oscurecimiento en el tejido, mientras que cuando se combinó con CaCl₂ (TH-CaCl₂) esto no ocurrió. Madani y col. (2014) reportaron que la aplicación pre-cosecha de calcio en papaya provocó

una pérdida de L^* en poscosecha que incrementó conforme aumentaba la concentración de calcio en la pared celular, lo cual atribuyeron a la opacidad que genera la sal de calcio en el exocarpio.

Durante la maduración (21 °C) (**Fig. 22B**), los tratamientos control 13 °C y TH-CitCa presentaron un incremento en la luminosidad con respecto al almacenamiento previo, lo que se puede relacionar con la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides (**Fig. 20**). El control mostró una reducción significativa ($P<0.05$) de L^* durante los diferentes días, lo que coincide con la presencia de síntomas de DF que provocaron el oscurecimiento de la cáscara y pérdida del brillo.

Resultados similares al tratamiento control 5 °C fueron observados por Ketsa y col. (2000) y Ornelas-Paz y Yahia (2014), ya que los frutos de mango control presentaron una reducción de L^* durante el almacenamiento a temperaturas de DF más un periodo de maduración, lo que atribuyeron al DF provocado en el fruto. Pero difiere de lo reportado por Junmantong y col. (2012) y Chongchatuporn y col. (2013) en mango Nam Dok Mai y Choke Anan, respectivamente, debido a que los frutos control presentaron un incremento de L^* y ángulo de matiz durante el almacenamiento a temperatura ambiente posterior del almacenamiento a temperaturas bajas.

2) Parámetro b^*

El comportamiento del parámetro b^* durante el almacenamiento a temperaturas bajas se presenta en la **Fig. 22C**. El tratamiento control 13 °C mostró un incremento en b^* conforme avanzó el almacenamiento, mientras que control 5 °C y TH-LacCa solo lo hicieron durante los primeros 20 días a 5 °C. El resto de los tratamientos no mostraron cambios significativos ($P>0.05$) obteniendo valores similares al final del almacenamiento. Dicho comportamiento puede deberse a que el cultivar Keitt mantiene una coloración verde-amarillo al final de la maduración, limitando la degradación de la clorofila y aparición de

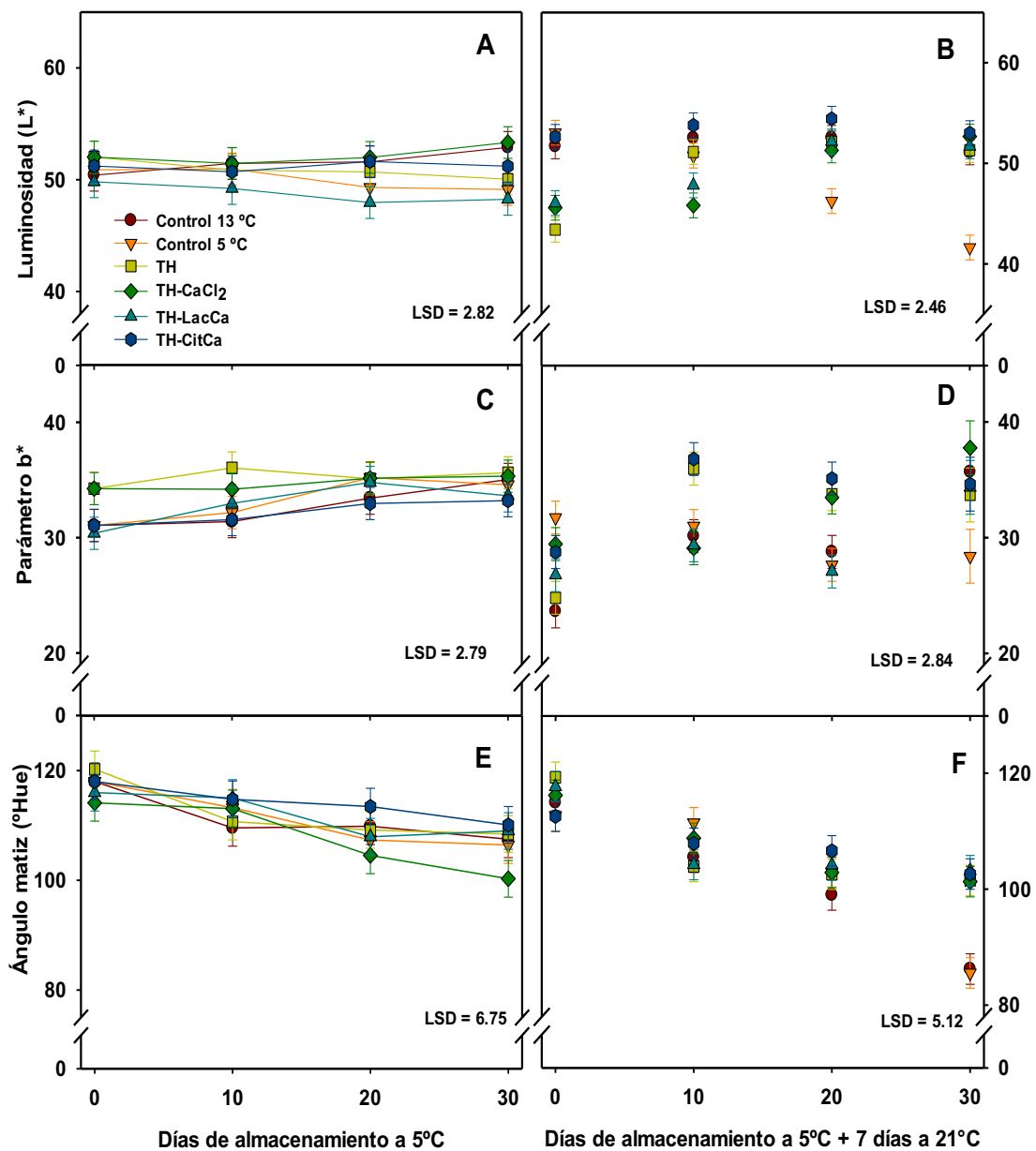


Fig. 22. Luminosidad (A, B), parámetro b* (C y D) y ángulo de matiz (E y F) en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de 12 réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

β -carotenos y violaxantinas, pigmentos responsables de la coloración amarilla en el mango.

Cuando los frutos fueron almacenados 7 días a 21 °C (**Fig. 22D**), los tratamientos control 5 °C y TH-CaCl₂ permanecieron constantes durante los primeros 10 días, mientras que el resto de los tratamientos presentaron un incremento, especialmente en los tratamientos TH y TH-CitCa que obtuvieron los valores más altos y sin cambios el resto del almacenamiento. Por otra parte, TH-CaCl₂ presentó un incremento en b* obteniendo valores similares a TH y TH-CitCa al día 20. El control 5 °C mostró los valores más bajos de b* asociados a un color oscuro, ya que el resto de los tratamientos presentaron valores similares al control 13 °C (maduración regular). Resultados similares al tratamiento TH fueron reportados por McCollum y col. (1993) en mango almacenado a 5 °C más 9 días a 21 °C, es decir, presentaron un incremento en el parámetro b* permitiendo un mejor desarrollo de la coloración que el tratamiento control. Asimismo, Ketsa y col. (2000) reportaron que la aplicación de un TH en mango generó valores más altos del parámetro b* durante los primeros días de almacenamiento a 4 °C más un periodo a 25 °C, permaneciendo constantes y sin diferencia significativa con respecto al control el resto del almacenamiento. Ornelas-Paz y col. (2008) y Ornelas-Paz y Yahia (2014) observaron un incremento en el parámetro b* de mangos tratados con aire caliente y humedad relativa alta durante el almacenamiento a 20 °C, lo cual relacionaron con un incremento en la síntesis de carotenos (todos los trans β -caroteno, trans- β -violaxantinas, y 9-cis-violaxantinas) y xantofilas.

3) Ángulo de matiz (°Hue)

En la **Fig. 22E** se puede observar que de manera general todos los tratamientos presentaron una reducción del ángulo de matiz. Los tratamientos control 13 °C, TH y TH-CitCa mostraron una reducción durante los primeros 10 días, permaneciendo constantes el resto del almacenamiento. Por otra parte, TH-CaCl₂ observó una retención del ángulo de matiz durante los primeros 10

días reduciendo el resto del almacenamiento, obteniendo los valores más bajos y diferencia significativa con el resto de los tratamientos (excepto con el control 5 °C). Es importante mencionar que los valores obtenidos del ángulo de matiz están por arriba de los 100 grados que corresponden a una coloración verde-amarillo en la cáscara del fruto. Estos resultados difieren de lo reportado por Junmantong y col. (2012) en mango Nam Dok Mai almacenado a 5 °C, quienes observaron un incremento en los valores de ángulo de matiz conforme transcurrió el almacenamiento.

Por otra parte, cuando los frutos se transfirieron a maduración a 21 °C (**Fig. 22F**), aquellos de los controles (5 y 13 °C) mostraron una reducción significativa en el ángulo de matiz, presentando al final diferencia significativa ($P<0.05$) con los frutos tratados quienes se mantuvieron constantes a partir del día 10. Esto coincide con los resultados observados previamente en L^* y b^* , ya que los frutos obtuvieron una mayor coloración verde y menor presencia de tejido con síntomas de DF; lo que pudo deberse a que los diferentes tratamientos ejercieron un efecto positivo en el metabolismo del fruto reduciendo la activación de las enzimas degradativas.

b. Firmeza (N)

Al día inicial, los diferentes tratamientos presentaron valores de firmeza cercanos a 100 N, excepto por TH que obtuvo valores cercanos a los 60 N (**Fig. 23A**). Durante los primeros 10 días de almacenamiento los tratamientos control 13 °C y TH- CaCl_2 obtuvieron la mayor pérdida de firmeza (70.8% y 56.5%, respectivamente), mientras que TH mostró la menor reducción (14.0%) con respecto a los otros tratamientos. El tratamiento control 5 °C presentó una reducción constante y significativa en la firmeza durante los primeros 20 días de almacenamiento (74.7%) para luego permanecer sin cambios hasta el día 30. El almacenamiento a temperaturas de DF genera cambios en la estructura celular del fruto acumulando ácidos oligogalacturónidos (AOGs) producidos por el rompimiento de homogalacturanos dominantes, provocando la expresión de

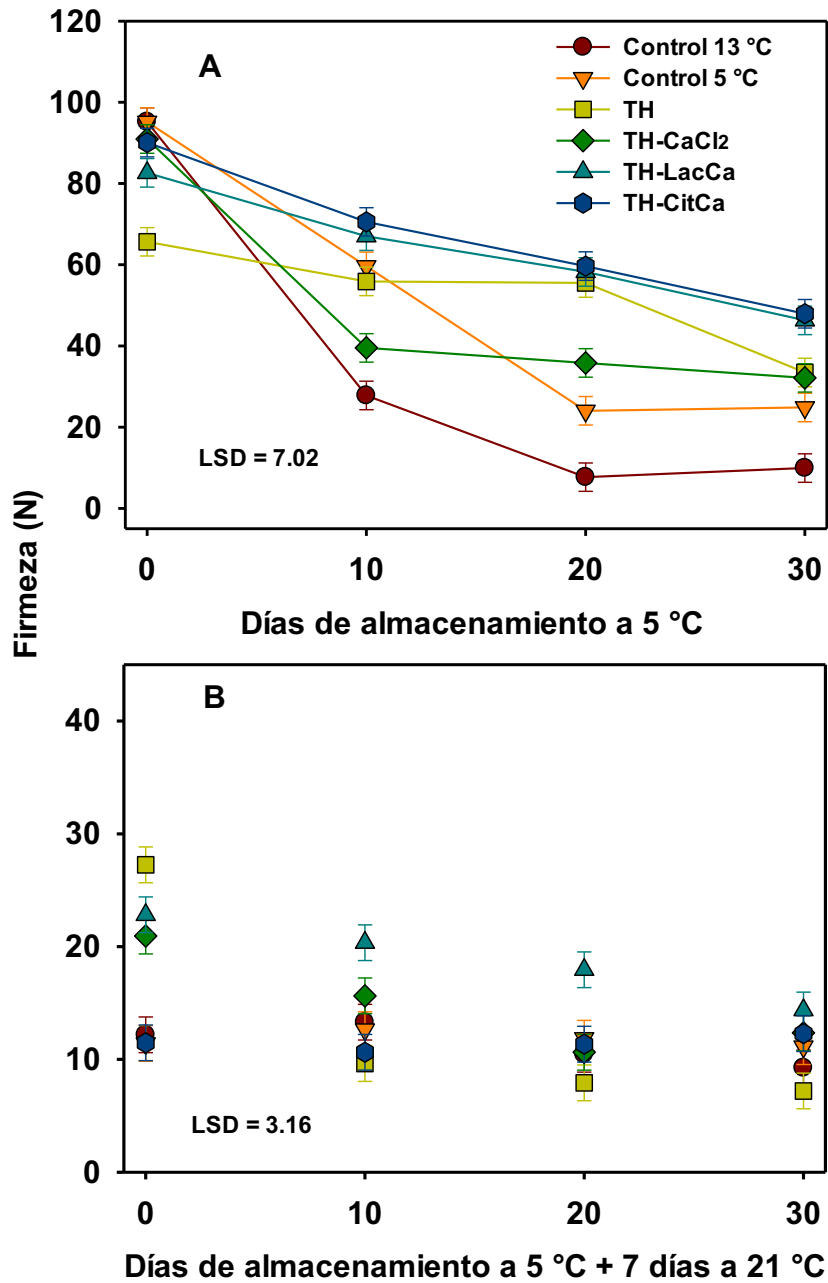


Fig. 23. Firmeza (N) en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

diversos genes, cierre de estomas, producción de etileno y deterioro de la pared celular, así como la acumulación de ERO's (Aghdam y col., 2012). Al final del almacenamiento (30 días) el tratamiento TH-CaCl₂ no tuvo cambios significativos, concluyendo con valores de firmeza similares al TH (33.5 N) que se mantuvo por arriba de TH-CaCl₂ los días previos. Los tratamientos TH-LacCa y TH-CitCa mostraron una pequeña reducción durante todo el almacenamiento sin diferencia entre ellos, pero sí con respecto al resto de los tratamientos (excepto TH al día 20) manteniendo los valores más altos de firmeza.

Este comportamiento puede ser consecuencia de la formación de pectatos de calcio que permiten mantener la integridad de la lámina media y la pared celular por más tiempo, además las sales LacCa y CitCa tienen una mayor capacidad para la formación de pectatos de calcio, debido a que algunos autores mencionan que los iones de cloro pueden interferir en la formación de los pectatos y además dañar la estructura celular (Martin-Diana y col., 2006).

Resultados similares a los encontrados para TH fueron reportados por Ma y col. (2012) en kiwi, ya que los frutos presentaron una menor pérdida de firmeza comparada con el control durante el almacenamiento por 90 días a 0 °C. Al respecto, Aghdam y col. (2012) mencionaron que el TH provoca una reducción metabólica del fruto, una menor producción de etileno, así como la activación de proteínas chaperonas. Así mismo, coincide con lo observado en zanahoria tratada con TH (50 °C)-LacCa, ya que los frutos mostraron una mayor retención de la firmeza lo que se debió a una mayor compactación de las células así como al mantenimiento de su estructura, lo que fue relacionado con una mayor difusión de los iones de calcio a través de los poros apoplásticos (Rico y col., 2007). Glenn y Poovaiah (1990) encontraron que los frutos de manzana tratados con calcio y almacenados a 2 °C lograron retener la integridad de la lámina media por más tiempo permitiendo proteger la interacción célula-célula. Además, Luna-Guzmán y Barrett (2000) reportaron

que el uso de TH-CaCl₂ y TH-LacCa en melón mínimamente procesado (MMP) ayudó a conservar la firmeza del fruto durante los primeros días de almacenamiento sobresaliendo el tratamiento TH-LacCa al final del almacenamiento.

Durante la maduración (**Fig. 23B**), se observó una considerable pérdida de firmeza en todos los tratamientos con respecto al almacenamiento en frío. El TH mantuvo la mayor firmeza al inicio, sin embargo el resto del almacenamiento presentó los valores más bajos (incluso por debajo de lo deseado comercialmente, 20 N). Los frutos de los tratamientos control (5 y 13 °C) y TH-CitCa permanecieron sin cambios ($P>0.05$) durante la maduración con valores apenas por arriba de los 10 N. TH-LacCa fue el tratamiento que mantuvo los valores más altos de firmeza (14.37-22.82 N), excepto al final donde presentó valores similares a los del resto de las sales. Dicho comportamiento podría ser consecuencia de la senescencia del fruto que genera la degradación de compuestos orgánicos para la producción de energía y agua, provocando una reducción en la firmeza y turgencia de la célula.

Gerasopoulos y Richardson (1997) reportaron que una concentración baja de CaCl₂ en peras con madurez fisiológica logró mantener la firmeza de los frutos. De la misma manera, Manganaris y col. (2007) reportaron que la aplicación de LacCa o propionato de calcio en concentraciones altas en durazno incrementaron considerablemente el contenido de calcio en el fruto, pero al mismo tiempo, aceleraron el proceso de ablandamiento lo que atribuyeron a la presencia de daño en la superficie debido al exceso de calcio. A concentraciones altas y dependiendo del tipo de sal de calcio existe un riesgo de daño en el tejido del fruto debido al efecto osmótico que puede provocar la sal, además de la posibilidad de una mayor velocidad de respiración.

c. Sólidos solubles totales (SST)

Los SST en los frutos de mango incrementan conforme se desarrolla la maduración del fruto. El almidón presente en el tejido es hidrolizado hasta

obtener azúcares simples que le permiten al fruto continuar con su proceso metabólico normal. Sin embargo, la exposición a temperaturas bajas induce que la hidrólisis del almidón y el gasto de algunos ácidos orgánicos ocurran de una manera más lenta permitiendo así alargar la vida de anaquel del fruto.

El tratamiento control 13 °C resultó en un incremento significativo de los SST durante el almacenamiento concluyendo con valores de 20.1 °Brix al día 30 (**Fig. 24A**), presentando diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos. Este comportamiento pudo ser consecuencia de la hidrólisis del almidón presente en el mesocarpio del fruto, así como de la degradación de los componentes de la pared celular ya que coincide con el ablandamiento observado previamente (**Fig. 23A**). Por otro lado, los frutos almacenados a 5 °C manifestaron cambios mínimos en los SST, mientras que los frutos tratados con las tres combinaciones TH-sal de calcio mostraron un incremento significativo en la síntesis de SST durante los primeros 10 días a 5 °C, para permanecer sin cambios significativos el resto del almacenamiento. El tratamiento TH manifestó un incremento significativo a partir del día 20, obteniendo valores por arriba del resto de los tratamientos. Este comportamiento pudo deberse al efecto que el TH y los iones de calcio ejercen sobre la estabilidad de la pared celular ya que funcionan como cementantes evitando su degradación. Los pectatos de calcio mantienen la integridad de la pared celular reduciendo la degradación de los ácidos urónicos y la liberación de azúcares de las pectinas (ácido galacturónico, galactosa, arabinosa y rabinosa), hemicelulosa (glucosa y xilosa) y celulosa (glucosa) que en conjunto incrementan la producción de los azúcares neutros (Figuerola y col., 2012). En contraste, en frutos de kiwi tratados con TH se observó una reducción en los SST, debido al incremento metabólico provocado por el calor (40 °C) (Beirão-da-Costa y col., 2006).

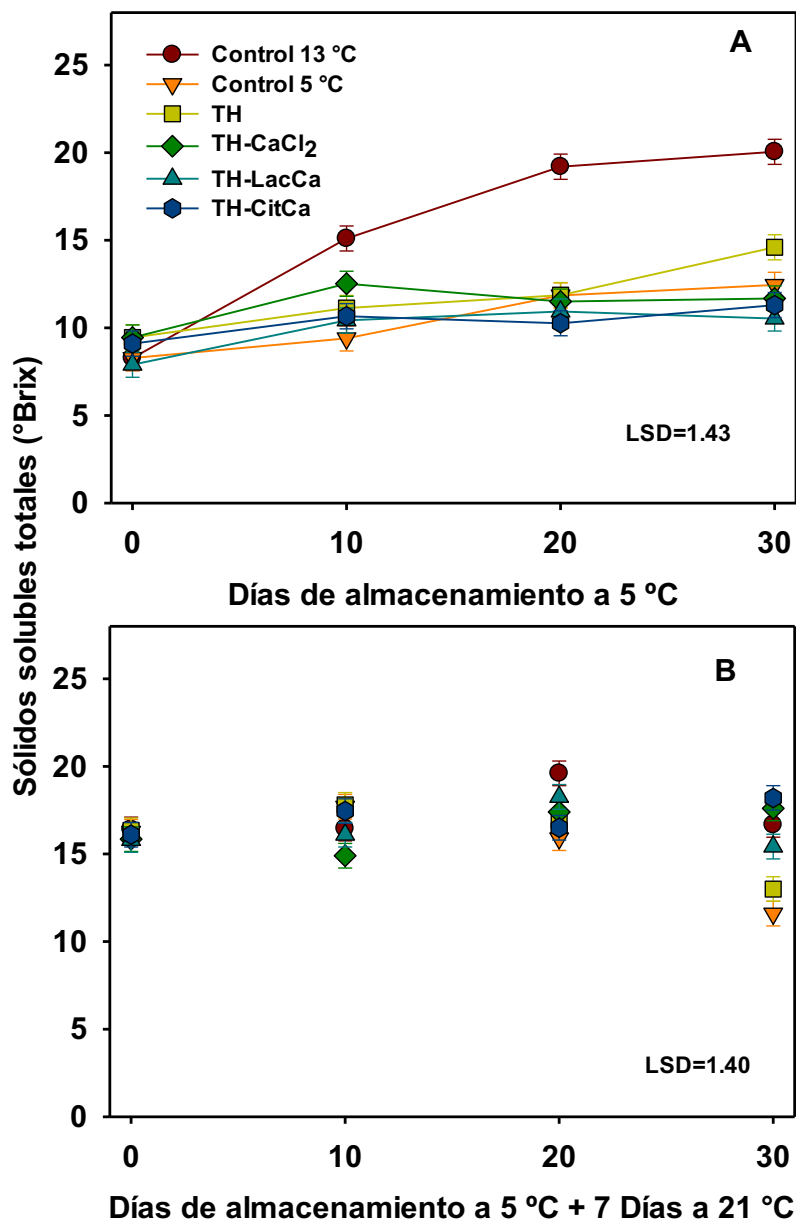


Fig. 24. Sólidos solubles totales en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Los resultados de este estudio coinciden con lo observado en fresas tratadas con TH-CaCl₂ almacenadas a -1 °C, ya que la combinación no generó un cambio significativo de los SST en los frutos debido a una reducción en el metabolismo (Shafiee y col., 2010). Asimismo, Madani y col. (2014) reportaron valores bajos de SST en papaya tratada con calcio en diferentes concentraciones y almacenada en frío, lo que relacionaron con la poca transformación de polisacáridos a monosacáridos comparados con los frutos control. Al transcurrir los primeros 10 días de maduración (**Fig. 24B**), los frutos de los tratamientos control 5 °C, TH y TH-CitCa incrementaron su contenido de SST; sin embargo, los primeros dos obtuvieron los valores más bajos (11.47 y 12.98 °Brix, respectivamente) al final del almacenamiento. El resto de los tratamientos presentaron variabilidad en los resultados obteniendo TH-CitCa y TH-CaCl₂ los contenidos más altos sin diferencia significativa entre ellos. Los tratamientos control 13 °C y TH-LacCa redujeron sus contenidos de SST después de 20 días. Este comportamiento pudo deberse a un incremento en el contenido de monosacáridos producidos en la hidrólisis de sacarosa que posteriormente fueron utilizados en el proceso de respiración debido al gasto de energía. Aguayo y col. (2008) mencionan que la cantidad de sacarosa que es hidrolizada para la conversión de azúcares simples depende del tipo de sal de calcio aplicada, así como del periodo de almacenamiento. Manganaris y col. (2007) reportaron que la aplicación de sales de calcio (lactato y propionato) tuvo un mínimo efecto en la acumulación de azúcares neutros y desdoblamiento de la celulosa durante el almacenamiento a temperaturas de DF y el posterior almacenamiento a temperatura ambiente en melón. Debido a que las sales de calcio impidieron la degradación de la pared celular e hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa.

d. pH

El pH de los frutos de mango puede variar dependiendo de la variedad y el estado de madurez. De manera general, los diferentes tratamientos no presentaron cambios estadísticos ($P>0.05$) en los valores de pH, excepto para TH-CitCa que manifestó una reducción al día 20 que incrementó al día 30 (**Fig. 25A**). Entre los tratamientos solo el control 5 °C presentó diferencia con control 13 °C y TH al día 10, donde el primero obtuvo los valores más altos de pH. Durante la maduración, el pH del tratamiento control 5 °C se mantuvo constante con respecto al almacenamiento previo, mientras que el resto de los tratamientos revelaron un incremento (**Fig. 25B**). Los tratamientos control 13 °C, TH y TH-CaCl₂ incrementaron su pH al día 10, permaneciendo constantes el resto del almacenamiento. TH-LacCa mostró este mismo comportamiento con excepción del día 30 donde manifestó una reducción. El tratamiento control 13 °C presentó el mayor pH al final del almacenamiento mostrando diferencia ($P<0.05$) con los tratamientos control 5 °C, TH y TH-LacCa (menor pH).

e. Acidez titulable (AT)

La AT presentó cambios de acuerdo al tratamiento aplicado (**Fig. 26A**). Para los frutos control 13 °C se presentó una reducción en la AT durante los primeros 10 días, para permanecer sin cambios el resto del almacenamiento. Esto corresponde con el incremento en los SST (**Fig. 24A**), pH (**Fig. 25A**) y pérdida de firmeza (**Fig. 23A**) observados previamente, como parte de la maduración normal del fruto. Mientras que el control 5 °C permaneció sin cambios significativos, exhibiendo diferencia con el control 13 °C solo al día 20. Los frutos que fueron tratados con TH-calcio, mostraron variabilidad en la AT debido a que TH-LacCa obtuvo los valores más altos al día inicial, mientras que TH-CitCa presentó un incremento en AT al día 20, y una reducción posterior (0.44%) lo que puede ser consecuencia de la acumulación de CO₂ en el tejido que provoca la acidificación del fruto (Aghdam y col., 2012).

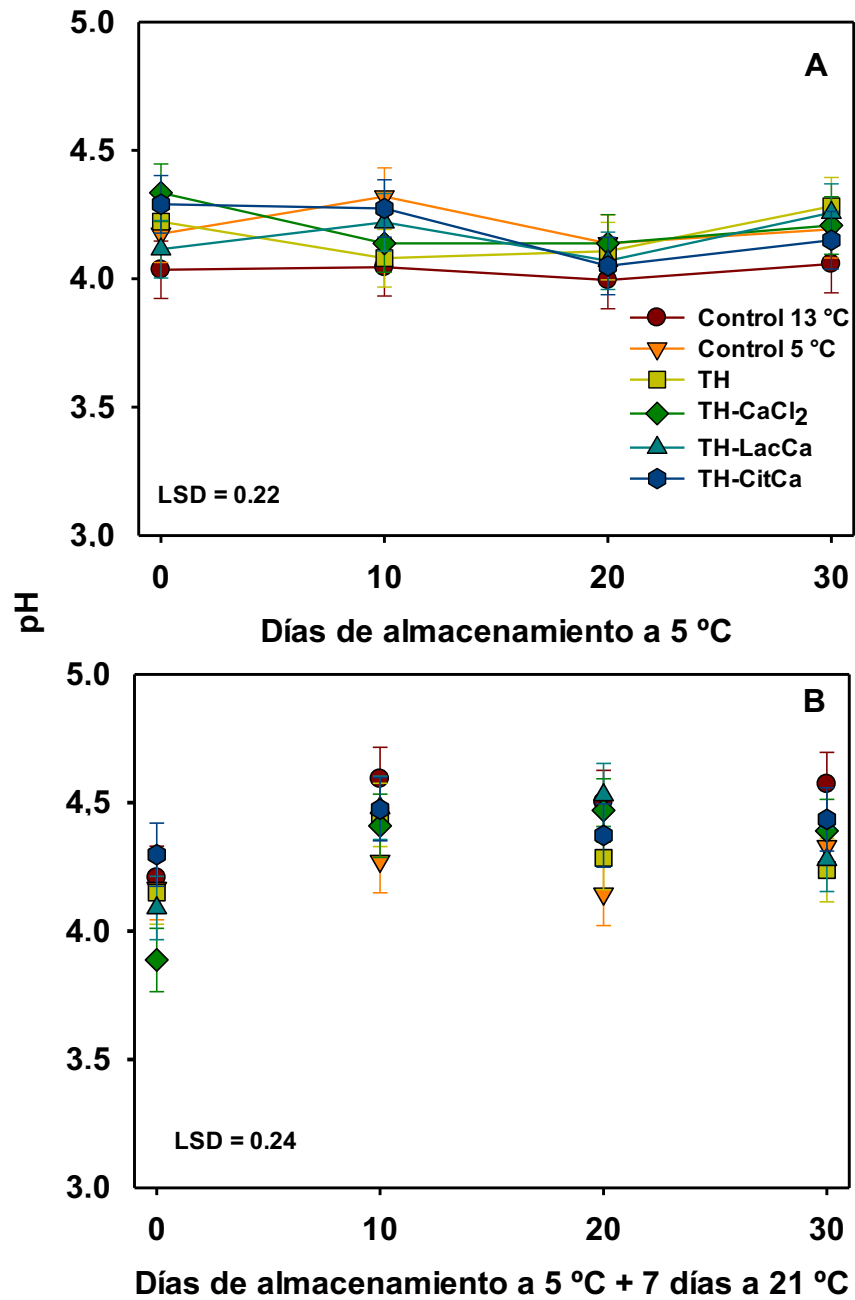


Fig. 25. pH en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C(A) más 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

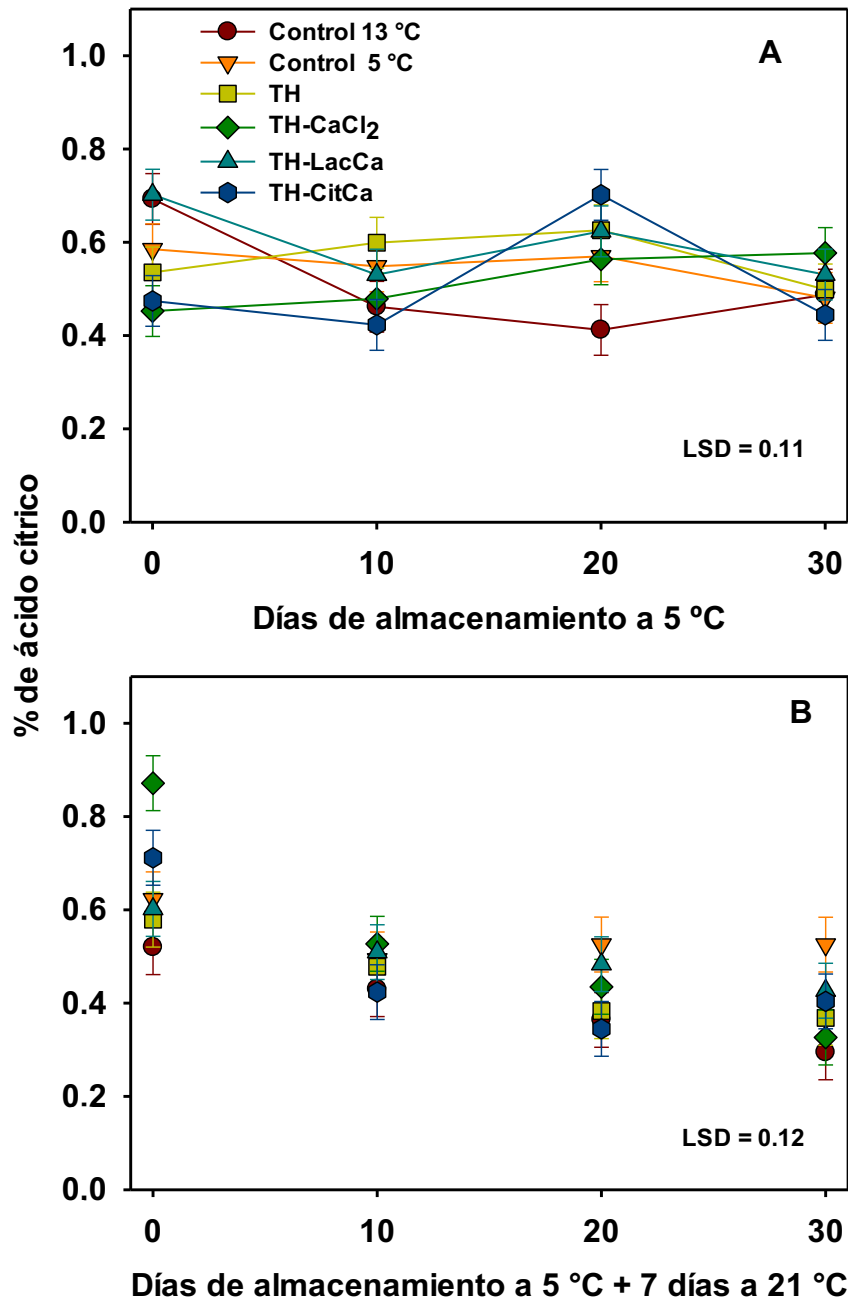


Fig. 26. Acidez titulable en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Figuroa y col. (2012) reportaron una retención en la AT en fresas almacenadas a 2 °C y tratadas previamente con CaCl₂ lo cual atribuyeron a una reducción en el metabolismo así como a una retención de la integridad celular, similar a lo observado en este estudio.

En la **Fig. 26B** se presenta el comportamiento de la AT para los 6 tratamientos durante la etapa de maduración. El tratamiento TH-CaCl₂ presentó los valores más altos de acidez al día inicial (sin daño por frío), seguido por TH-CitCa. Ambos tratamientos presentaron una reducción significativa al día 10, mientras que los demás se mantuvieron sin cambios significativos ($P>0.05$). El resto del almacenamiento los tratamientos mostraron una disminución en la AT, manteniendo el control 5 °C los valores más altos y diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos (excepto TH-LacCa) al final. Este comportamiento pudo ser consecuencia del gasto de energía provocado por el metabolismo del fruto debido a la senescencia, coincidiendo así con la degradación de los SST y el ablandamiento observados previamente. Resultados similares fueron reportados por Figuroa y col. (2012) cuando aplicaron CaCl₂ en fresas, ya que el calcio no generó cambios en la AT, pH y SST durante el almacenamiento a temperaturas bajas pero sí durante el almacenamiento por 48 h a temperatura ambiente debido a la reducción en la degradación de pectinas quelantes solubles durante el almacenamiento a 2 °C.

En esta segunda etapa los resultados totales indican que el TH combinado con LacCa (0.5%) resultó ser la combinación más efectiva para reducir la susceptibilidad al DF en mango Keitt manteniendo la menor lixiviación de electrolitos y conservando los parámetros de calidad; especialmente la firmeza, que es uno de los principales parámetros que se pierde con la aplicación del TH.

C. TERCERA ETAPA: EFECTO DEL TH CUARENTENARIO Y LACTATO DE CALCIO (LacCa) SOBRE LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE MANGO CULTIVAR KEITT

1. Índice de daño por frío (IDF)

El almacenamiento a 5 °C indujo daño por frío (DF) en los frutos de mango, evidenciado por un incremento en el valor del IDF (**Fig. 27A**). Durante el almacenamiento a 5 °C los frutos tratados hidrotérmicamente (TH y TH-LacCa) manifestaron menor incidencia de síntomas de daño por frío en la cáscara de mango con respecto a los frutos tratados con LacCa, mientras que el tratamiento control obtuvo en general la mayor presencia de síntomas como oscurecimiento de lenticelas, picadura superficial, escaldado y maduración irregular, resultando en un valor mayor de IDF, lo que se puede apreciar en la **Fig. 28**. Cuando los frutos fueron expuestos a temperatura de maduración todos los tratamientos presentaron un incremento significativo en el IDF con valores superiores a los encontrados en el almacenamiento previo (5 °C) (**Fig. 27B**). Nuevamente los frutos tratados hidrotérmicamente (TH y TH-LacCa) expresaron menor IDF que los frutos del resto de los tratamientos ($P>0.05$) siendo los del control y los de LacCa aquellos que obtuvieron los valores mayores con la presencia de oscurecimiento de lenticelas, picaduras superficiales y aparición de áreas necróticas (**Fig. 29**). Como se mencionó previamente, el tratamiento térmico puede inducir la expresión de genes evasivos y barredores de ERO's, síntesis de HSPs así como incrementar el tránsito del Ca^{+2} citosólico que permiten la supervivencia de la célula cuando se somete a un estrés mayor (Erkan y col., 2005; Safizadeh y col., 2007; Barman y Asrey, 2014).

Resultados similares al tratamiento térmico fueron reportados previamente en mangos Keitt (McCollum y col., 1993) y Nam Dok Mai (Ketsa y col., 2000) tratados con aire caliente (38 °C), así como en mangos Zihua (Zhu y col., 2003), Kent (Dea y col., 2010) y Tommy Atkins (Almeida Miguel y col., 2016) tratados hidrotérmicamente.

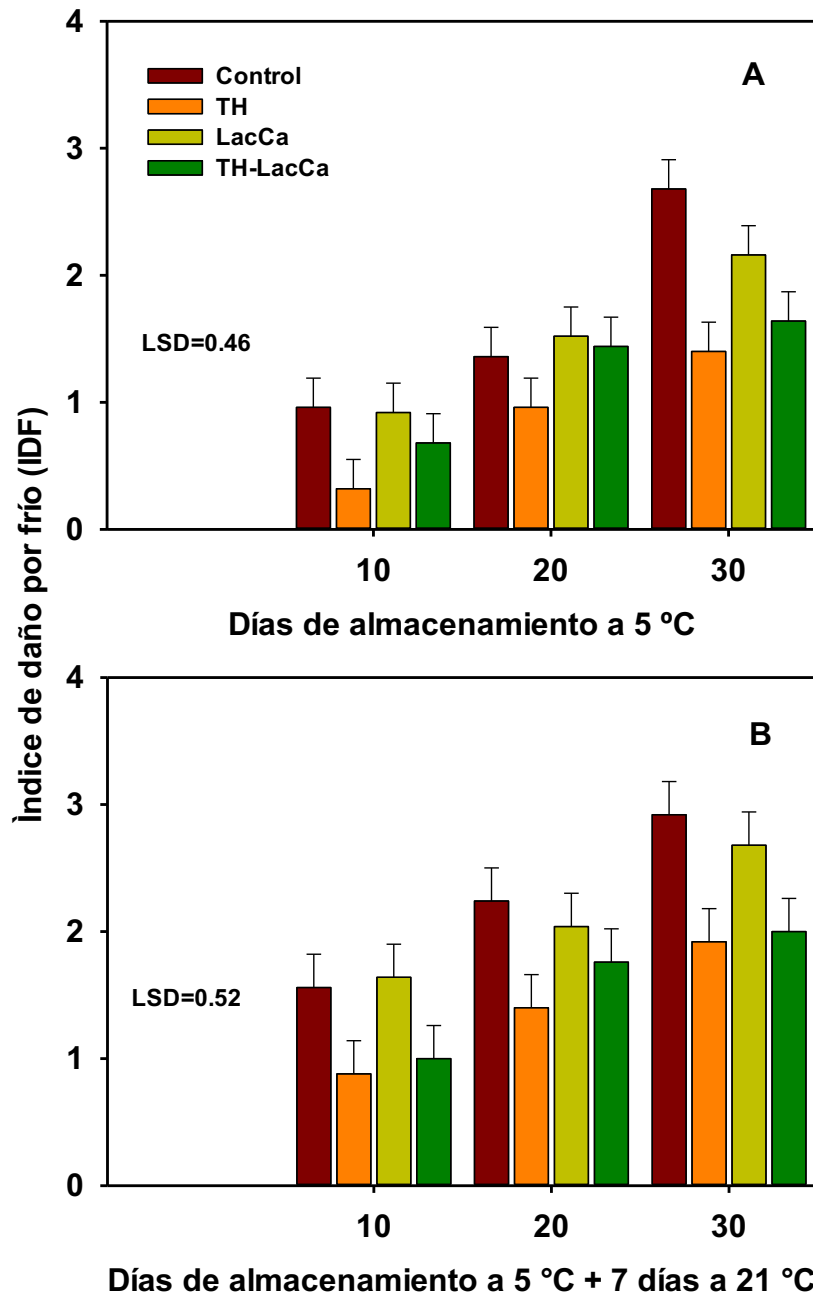


Fig. 27. Índice de daño por frío (IDF) en frutos de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de cinco frutos y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha = 0.05$.

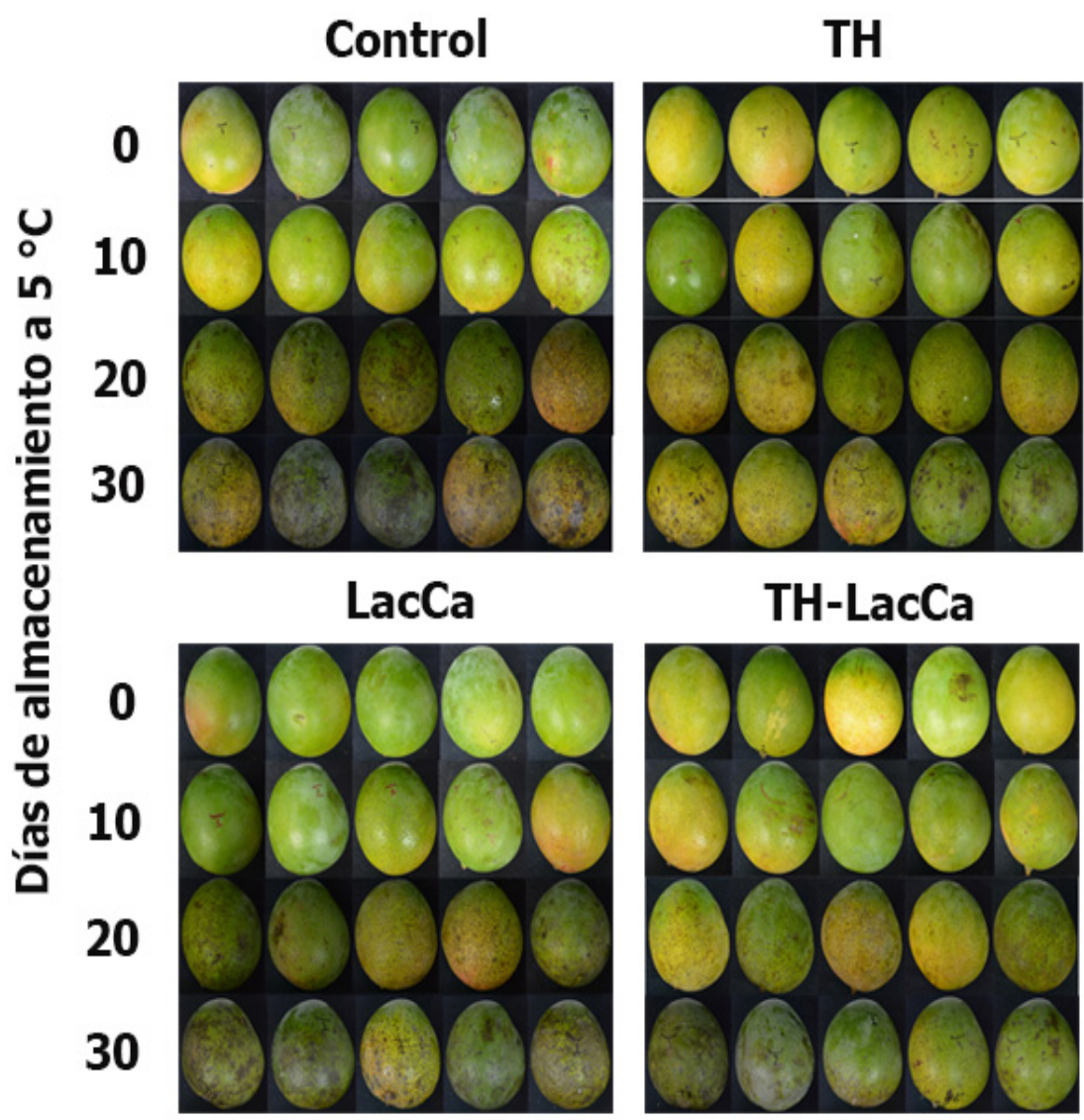


Fig. 28. Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenado a 5 °C. Se indican los diferentes tratamientos (control, TH, LacCa y TH-LacCa).

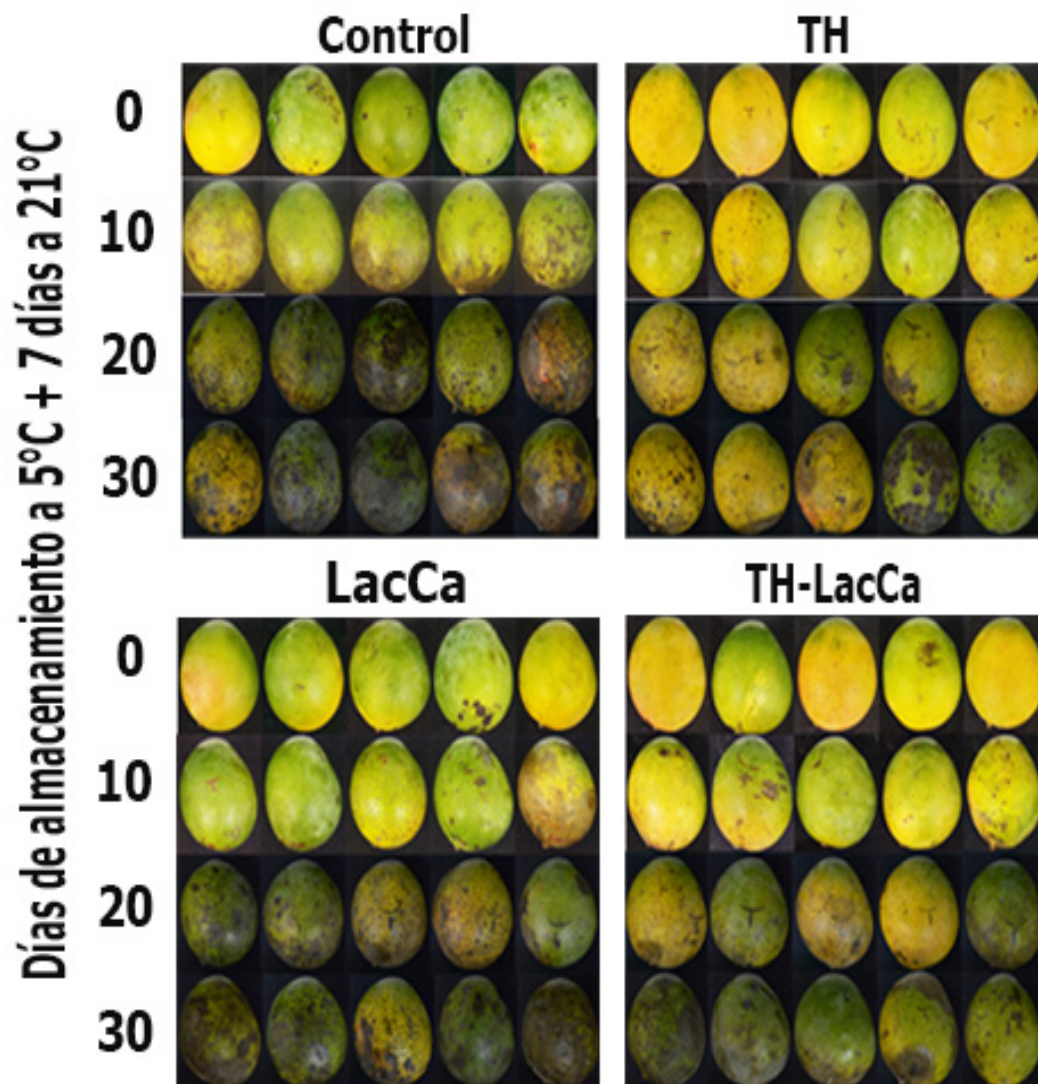


Fig. 29. Síntomas de DF en cáscara de frutos de mango almacenado a 5 °C más 7 días a 21 °C. Se indican los tratamientos (control, TH, LacCa y TH-LacCa) en la parte superior de las imágenes.

Yimyong y col. (2011) reportaron que el uso de un TH (50 °C, 10 min) en mango 'Okrong' generó cambios en el proceso metabólico que redujeron el daño en la pared celular y favorecieron un incremento en la estabilidad de proteínas y actividad de enzimas antioxidantes durante el almacenamiento a temperaturas bajas y maduración. Por otra parte, nuestros resultados difieren en cuanto al comportamiento de los frutos cuando se aplicó calcio según lo observado en aguacate (Chaplin y col., 1980), mandarina (El-hilali y col., 2003), melón (Lamikanra y Watson, 2004) y granada (Ramezanián y col., 2010) tratados con este mineral ya que se observó un menor IDF que el control durante el almacenamiento a temperaturas bajas, lo cual fue atribuido, a que el calcio mantuvo la fluidez de la membrana por regulación de la saturación y actividad de diferentes enzimas (SOD, CAT y POD) (El-hilali y col., 2003; Gao y col., 2004).

Además, de acuerdo a los autores, el calcio indujo una menor pérdida de peso, lixiviación de K^+ y actividad de PPO junto con un mayor contenido de ácido ascórbico y fenólicos totales, así como una mayor capacidad de eliminación del radical DPPH (Ramezanián y col., 2010). Los iones de calcio otorgan estabilidad a los componentes del tejido celular y permiten la formación de un gel que funciona como una capa protectora en la célula durante el almacenamiento, debido a que el calcio incrementa el entrecruzamiento intermolecular, reduce su velocidad de respiración y disminuye la actividad de la enzima lipasa (Lamikanra y Watson 2004). La aplicación de la combinación TH y $CaCl_2$ en lechuga y kiwi redujo la sensibilidad al estrés por frío, reduciendo el índice de oscurecimiento y el ablandamiento del tejido (Martin-Diana y col., 2006; Shahkoomahally and Ramezanián, 2015), además de disminuir la respiración, reducir la producción de etileno y retrasar el proceso de maduración (Joyce y col., 2001). Con respecto al mango, no se encontraron estudios sobre el efecto de la combinación, es por ello que estos resultados proporcionan

información importante sobre el efecto benéfico obtenido al aplicar combinadamente ambos tratamientos.

2. Índice fisiológico

a. % de electrolitos lixiviados (%EL)

La permeabilidad de la membrana celular en los frutos de mango tratados y no tratados incrementó progresivamente durante el almacenamiento a 5 °C y durante el subsecuente periodo de maduración (**Fig. 30**). En cáscara de mango después de 10 días de almacenamiento el tratamiento LacCa presentó la mayor lixiviación en contraste con el resto de los tratamientos (**Fig. 30A**). Este parámetro se incrementó significativamente para todos los tratamientos al día 20, observándose diferencia entre control (77.0%) y LacCa (67.7%). Al final del almacenamiento el tratamiento TH-LacCa obtuvo los valores menores de lixiviación, mostrando diferencia significativa ($P<0.05$) solo con los tratamientos control y TH. Durante la maduración (21 °C), los frutos tratados con lactato de calcio (LacCa y TH-LacCa) manifestaron un incremento en la lixiviación de electrolitos durante los primeros 10+7 días (**Fig. 30B**), el resto de los tratamientos (control y TH) presentaron una reducción significativa. Por otra parte, al final del almacenamiento, el TH obtuvo la menor lixiviación mostrando diferencia significativa con el control y LacCa. Lo que coincide con el resultado obtenido previamente en IDF.

Con respecto a la lixiviación de electrolitos en pulpa de mango (**Figs. 30C y 30D**), los valores de EL incrementaron con el tiempo de almacenamiento a 5 °C, obteniendo los frutos tratados valores significativamente menores que el control, lo que sugiere una mayor integridad de la membrana celular (**Fig. 30C**). TH-LacCa logró mantener una lixiviación menor durante los primeros 20 días a 5 °C, seguido por el tratamiento LacCa, comportamiento que contrasta con lo observado en cáscara. Los frutos tratados con TH no presentaron cambios significativos en lixiviación, sin embargo los valores del %EL estuvieron por encima de los de los tratamientos LacCa y TH-LacCa.

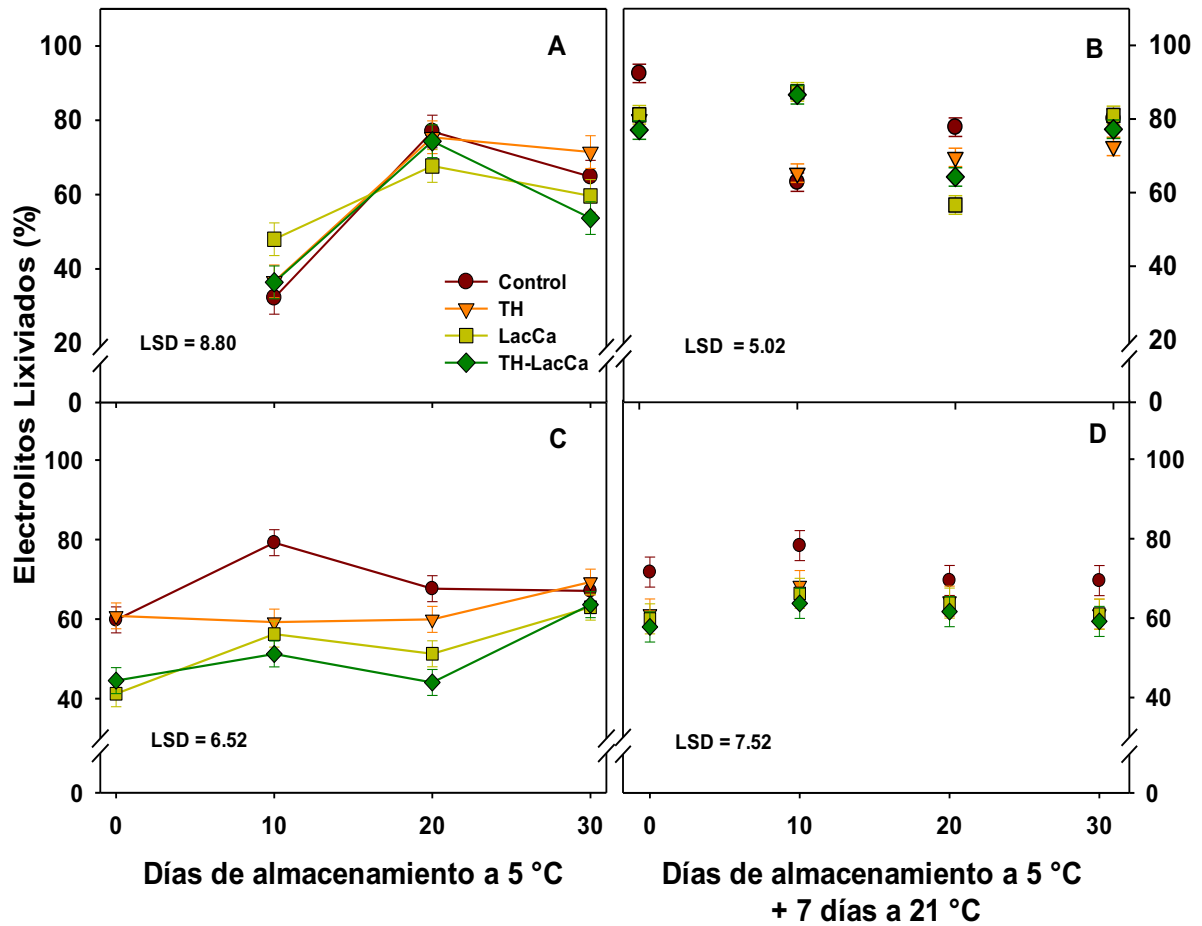


Fig. 30. Lixiviación de electrolitos en cáscara (A, B) y pulpa (C, D) de mango durante el almacenamiento a 5 °C y 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Al final del almacenamiento, los frutos tratados mostraron un incremento en el %EL con valores similares al control.

Durante la maduración (**Fig. 30D**), los diferentes tratamientos mostraron un incremento en la lixiviación con respecto al almacenamiento a 5 °C, con excepción del TH que permaneció sin cambios significativos, lo que se relaciona con una mayor integridad de la membrana y una mayor tolerancia al DF. El tratamiento control mantuvo el mayor porcentaje de EL con diferencia estadística ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos. Este incremento en los electrolitos es el resultado de la disfunción de la membrana celular debido al daño provocado por el tiempo prolongado a temperaturas de DF y además como consecuencia de la madurez y senescencia del fruto.

Durante la madurez del fruto se presenta la degradación de pectinas y hemicelulosa de la pared celular, lo cual desprotege a la membrana celular volviéndola más vulnerable a su deterioración. El daño por frío en frutas y vegetales ha sido asociado con la oxidación de la membrana lipídica y un incremento en la permeabilidad de la membrana (Zhao y col., 2006), fenómeno que podría explicar la alta lixiviación de electrolitos producida en los frutos sobre todo en la cáscara, ya que se encuentra en contacto directo con las temperaturas bajas acelerando su deterioro.

Nuestros resultados son consistentes con otros reportados previamente para mango en los que se ha demostrado que los tratamientos de choque térmico (frío o calor) en cultivares diferentes reducen el efecto del DF con una menor lixiviación (Nyanjage y col., 1999; Zhao y col., 2006; Dea y col., 2010). Nyanjage y col. (1999) y Dea y col. (2010) relacionaron este comportamiento con un incremento en el contenido de sólidos solubles durante la maduración del fruto que induce un potencial osmótico mayor en la membrana y una reducción de los iones lixiviados; mientras que Sayyari y col. (2011) reportaron que el choque térmico incrementa la síntesis de poliaminas endógenas que

mantienen una relación de ácidos grasos insaturados/saturados mayor en la membrana, lo que impide el paso de los electrolitos. Así mismo, en plátano (Wang y col., 2008) y papaya (Shadmani y col., 2015) la aplicación de un TH generó una menor lixiviación que el tratamiento control.

El efecto protector del calcio sobre la membrana celular en pulpa fue observado previamente en frutos de mango Choke Anan (Khaliq y col., 2016), Tommy Atkins y Kent (Ngamchuachit y col., 2014), así como en kiwi (Hopkirk y col., 1990), tomate (Aghdam, 2013) y limón (Safizadeh y col., 2007) almacenados bajo condiciones de estrés por frío. Los autores atribuyeron este resultado a que la sal de calcio permite mantener una estabilidad mayor de la membrana celular evitando el desbalance en la composición de ácidos grasos insaturados/saturados que provoca cambios de fase en la membrana (líquido/cristalino a sólido/gel) incrementando la permeabilidad (Sayyari y col., 2011; Khaliq y col., 2016). Asimismo, Ngamchuachit y col., (2014) observaron que los iones de calcio tienen la capacidad de interactuar con los sitios de enlaces en la pared celular y membrana plasmática manteniendo la integridad de ésta, sobre todo cuando los tiempos de inmersión en la solución de calcio son cortos.

b. Nivel de malondialdehído (MDA)

El MDA es un marcador de estrés debido a que es originado como un producto final de la peroxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en la membrana celular (Sun y col., 2011). La degradación de los lípidos provoca cambios en la estructura de la membrana y consecuentemente cambios en la función celular, por lo que evaluar el MDA es un buen indicador de la integridad de la estructura de la membrana y refleja la deterioración oxidativa durante el estrés (Khaliq y col., 2016; Sheng y col., 2016).

En la **Fig. 31** se presentan los resultados de la peroxidación de lípidos en cáscara y pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C. En cáscara de mango se pudo observar que los frutos que fueron tratados

presentaron menor MDA que el control durante todo el almacenamiento a 5 °C (**Fig. 31A**). El TH-LacCa manifestó la menor producción de MDA a partir del día 20, mostrando diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos. Al final del almacenamiento, dicho tratamiento presentó 1.8 veces menor peroxidación de lípidos que el control y 1.5 veces menor MDA que TH y LacCa. Durante el periodo de maduración a 21 °C, de manera general el control mantuvo la mayor peroxidación y por lo tanto el mayor daño en la membrana celular (**Fig. 31B**), mostrando diferencia significativa ($P<0.05$) con respecto a los frutos tratados a partir del día 10+7. Por otro lado, TH-LacCa se mantuvo sin cambios estadísticos al día 20+7 (21 °C) con un incremento al final del almacenamiento, posiblemente como parte del DF observado previamente y a la senescencia del fruto. El tratamiento LacCa presentó un incremento ligero en los valores de MDA con respecto al almacenamiento a 5 °C, obteniendo al final valores similares a la combinación pero inferiores al TH.

En la **Fig. 31** podemos observar que el uso de un tratamiento previo al almacenamiento de estrés por frío logró reducir la peroxidación lipídica en la membrana celular reduciendo además la lixiviación de electrolitos y el DF. El incremento en el contenido de MDA durante el almacenamiento a temperatura baja generalmente es paralelo a la aparición visual de síntomas de DF que se intensifican durante la maduración (Ma y col., 2014). Estudios previos muestran que el estrés provocado por las temperaturas bajas provoca la sobreproducción de ERO's generando el rompimiento de los ácidos grasos poliinsaturados, dando lugar a productos tóxicos que dañan la estructura y función de la membrana celular que en consecuencia finaliza en la muerte celular (Imahori y col., 2008; Khaliq y col., 2016).

En pulpa de mango (**Figs. 31C y 31D**) se observó una menor peroxidación que en la cáscara al igual que en la lixiviación. Los frutos de los tratamientos control y TH-LacCa incrementaron su contenido de MDA durante los primeros 10 días para permanecer sin cambios el resto del almacenamiento (**Fig. 31C**).

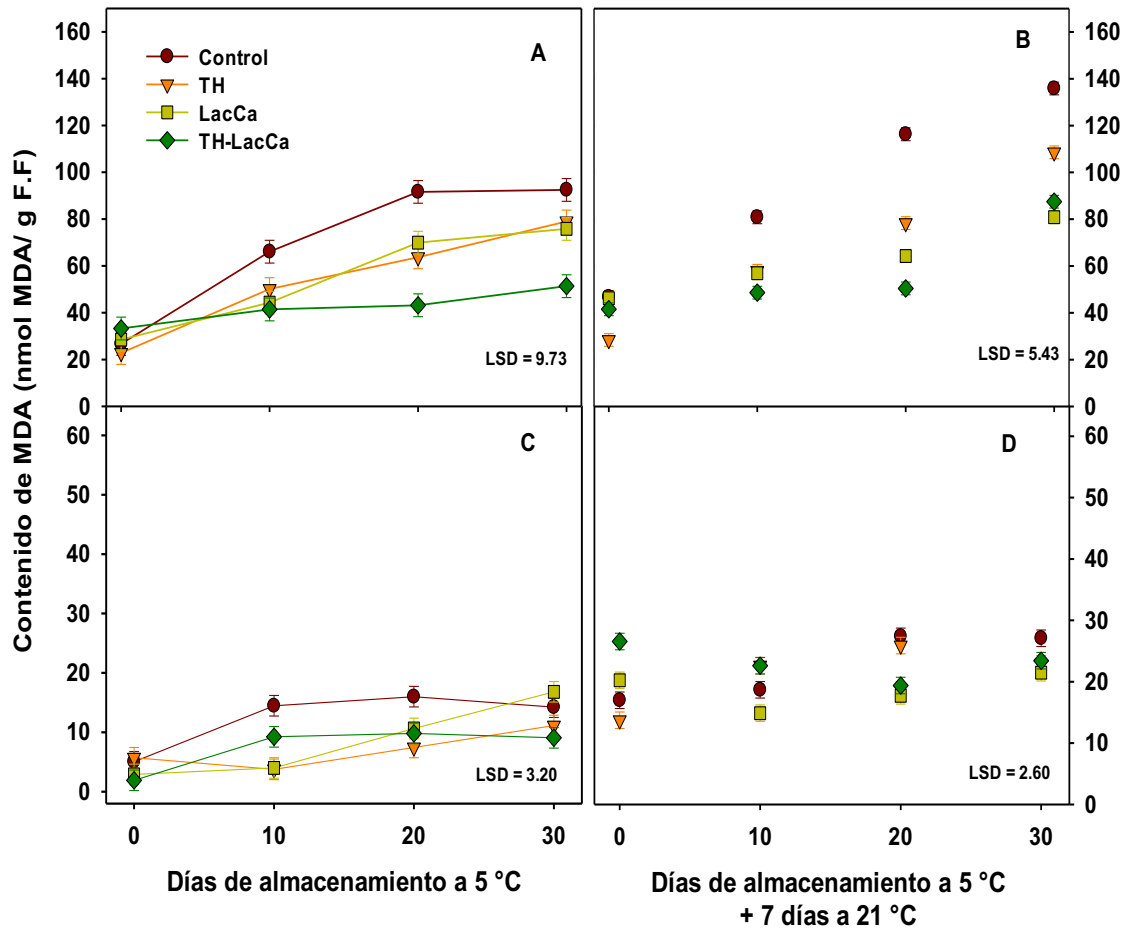


Fig. 31. Efecto de diferentes tratamientos en el contenido de MDA en cáscara (A y B) y pulpa (C y D) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

El tratamiento control mantuvo la mayor peroxidación durante los primeros 20 días de almacenamiento a 5 °C, permaneciendo sin cambios significativos después de 10 días. Un comportamiento similar fue observado en TH-LacCa pero con valores menores de MDA. TH y LacCa por separado presentaron una acumulación significativa durante el almacenamiento, obteniendo el tratamiento LacCa valores similares ($P>0.05$) al control al día 30. Cuando los frutos fueron transferidos a 21 °C por 7 días (**Fig. 31D**) se observó un incremento en la producción de MDA, especialmente para el control, que presentó la mayor peroxidación al día 30+7. El resto de los tratamientos, aun cuando presentaron una acumulación con respecto al estrés por frío, obtuvieron menor MDA al final del almacenamiento, lo cual puede ser consecuencia de los cambios metabólicos provocados en el fruto por el estrés térmico y la búsqueda de estabilidad celular por los cambios de temperatura. La reducción en MDA ha sido relacionada con el efecto del estrés térmico, ya que dicho tratamiento logró mantener un gradiente de protones (Ca^{+2} , H^+) encargados de conservar la estabilidad en la membrana mediante la acción con los fosfolípidos, ya que las temperaturas bajas indujeron una disfunción en el gradiente de Ca^{+2} y H^+ provocando un impacto diferencial en la actividad catabólica de las enzimas lipídicas contribuyendo a la susceptibilidad al DF (Mao y col., 2007).

Resultados similares a los nuestros fueron reportados en frutos de mango Zill (Ding y col., 2007) y Tainong (Wang y col., 2008), ya que el almacenamiento a temperaturas bajas contribuyó con un incremento significativo en la peroxidación de lípidos, generando una pérdida de la integridad de la membrana celular y una acumulación de sustancias tóxicas que incluyen al H_2O_2 . Con respecto a los resultados obtenidos cuando se aplicó el TH, éstos concuerdan con Nyanjage y col. (1999), Zhao y col. (2006) y Ruan y col. (2015) quienes observaron que la aplicación de un estrés térmico en frutos de mango generó una menor peroxidación de lípidos manteniendo una mayor integridad de la membrana con respecto al control. También coinciden con otros reportes

para diferentes frutos: kiwi (Ma y col., 2014), plátano (Ummarat y col., 2011) y ciruela (Sun y col., 2010) tratados térmicamente. Mientras que difieren con lo observado en mango tratado a 46 y 50 °C por 75 min, ya que el estrés térmico por largos periodos generó una mayor peroxidación en la membrana produciendo la senescencia del fruto (Djioua y col., 2009).

Con respecto al uso de calcio, se ha reportado que la aplicación de sus sales previo al almacenamiento logra reducir la acumulación de MDA en la célula, reduciendo así el daño a la membrana y la susceptibilidad al DF (Safizadeh y col., 2007, Siddiq y col., 2012; Wang y col., 2014); sin embargo, en este estudio aun cuando se observó menor MDA que el control, los síntomas de DF no se redujeron, lo que se puede atribuir al tiempo de inmersión ya que el calcio puede generar daños en las lenticelas. Khaliq y col. (2016) reportaron que la aplicación de CaCl_2 por 30 min en frutos de mango almacenados a 6 °C tuvo menor producción de MDA que el control, comportamiento que atribuyeron a que el calcio redujo la sobreproducción de ERO's durante el estrés por frío, disminuyendo así la peroxidación de lípidos y el DF en los frutos. Así mismo, en mango (Ngamchuachit y col., 2014), tomate (Aghdam, 2013) y limón (Safizadeh y col., 2007) el calcio fue capaz de reducir o disminuir el colapso de la pared celular ya que controla la estructura y función de la membrana por la unión de los fosfolípidos que estabilizan la bicapa lipídica y proveen integridad estructural a la membrana celular (Safizadeh y col., 2007).

c. Actividad de la enzima lipoxigenasa (LOX)

La enzima LOX es responsable de la degradación de la membrana debido a que cataliza la dioxigenación de ácidos grasos poliinsaturados produciendo ácidos grasos hidroperoxidados que son tóxicos a la célula (Ali y col., 2005), por lo que es considerada como una de las principales enzimas que generan estrés en la célula y provocan la senescencia (Mao y col., 2007).

En este estudio la actividad de la enzima LOX estuvo fuertemente influenciada por el tratamiento y la temperatura de almacenamiento (**Fig. 32**).

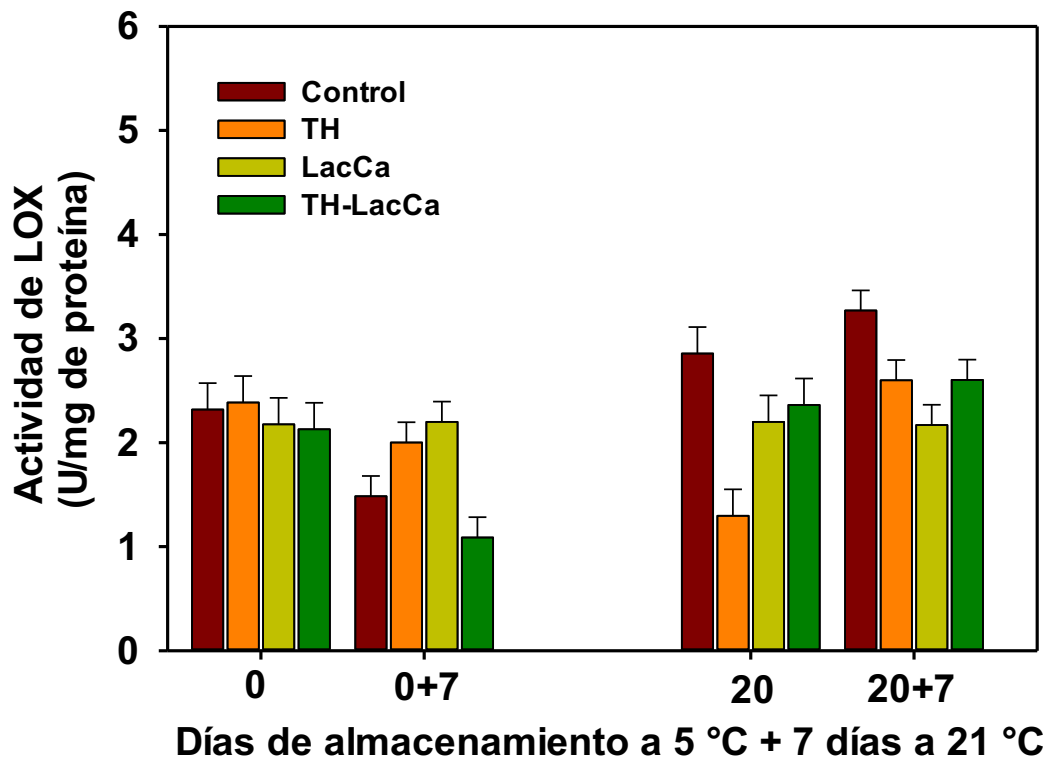


Fig. 32. Actividad de LOX en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Los valores iniciales de actividad se encontraron en un rango de 2.12 a 2.38 U/mg de proteína en cáscara de mango sin mostrar diferencia estadística significativa ($P>0.05$) entre los tratamientos. Sin embargo, cuando los frutos se almacenaron por 20 días a 5 °C el tratamiento control presentó un incremento en la actividad de LOX obteniendo los valores más altos (2.85 U/mg de proteína), mientras que LacCa y TH-LacCa conservaron la actividad de LOX, sin mostrar diferencia estadística entre ellos pero sí con el resto de los tratamientos. Por el contrario, los frutos tratados con TH mostraron una reducción en la actividad enzimática obteniendo valores bajos. Este comportamiento puede deberse a que el tratamiento térmico induce la desnaturalización de las enzimas y/o supresión de genes, limitando la actividad enzimática mientras que el lactato de calcio pudiera estar activando la enzima debido al incremento en los iones de Ca^{+2} en el citosol de la célula (Mao y col., 2007).

Cuando los frutos fueron transferidos a temperatura de maduración, tanto el tratamiento control como el TH mostraron un incremento en la actividad de LOX debido al incremento en la actividad metabólica del fruto, mientras que los frutos tratados con LacCa y TH-LacCa permanecieron constantes. Todos los frutos sometidos a un tratamiento presentaron menor actividad con respecto al control. Similares resultados fueron obtenidos por Mao y col. (2007), quienes observaron que frutos de pepino sometidos a 37 °C por 24 h mostraron menor actividad de la enzima LOX con respecto al control, mitigando la producción de MDA y DF. Asimismo, coincide con Riu y col. (2010), ya que reportaron que el aire caliente (38 °C, por 5 h) mitigó el DF en frutos de níspero mostrando una reducción en las enzimas PLD y LOX responsables de la peroxidación de los ácidos grasos insaturados; lo que atribuyeron a que el tratamiento térmico mantuvo la fluidez de la membrana e integridad de los frutos incrementando la resistencia al DF. También coincide con la reducción en la actividad de LOX observada en plátano (Promyou y col., 2008) y kiwi (Ma y col., 2014) tratados

hidrotérmicamente (45 °C, 15 min; 35-45 °C, 10 min) y almacenados a temperaturas bajas, lo que se debió a la acumulación de proteínas HSP70 que generaron menor síntesis de ARNm de LOX (Promyou y col., 2008), manteniendo una mayor integridad de la membrana celular (Ma y col., 2014). El uso de UV-C en mango Haden promovió la actividad de LOX, lipasa y otras enzimas que juegan un papel importante en el control del estrés oxidativo y la inducción de la muerte celular programada (González-Aguilar y col., 2007). El efecto que presenta el uso de LacCa solo o combinado con TH-LacCa sobre la actividad de LOX no ha sido previamente reportado, por lo que este trabajo aporta información interesante al respecto.

3. Parámetros de calidad

a. Color

1) Luminosidad (L*)

Los frutos de mango presentaron valores de L* en un rango de 47.3 y 50.1 al día inicial, sin presentar diferencia ($P>0.05$) entre los tratamientos (**Fig. 33A**). Los primeros días de almacenamiento a 5 °C, los tratamientos TH y LacCa exhibieron una reducción de L* mientras que los tratamientos control y TH-LacCa se mantuvieron sin cambios significativos. El resto del almacenamiento, el tratamiento control presentó una pérdida significativa de luminosidad y los frutos tratados con TH y TH-LacCa se mantuvieron constantes. Al final del almacenamiento (día 30), los frutos tratados con TH, LacCa o su combinación obtuvieron valores de L* superiores al control ($L^*=39$) que presentó una pérdida del 18.3% con respecto al valor inicial. Dicha reducción puede asociarse con el rompimiento celular provocado como respuesta al estrés por frío, ya que la cáscara de los frutos control presentó oscurecimiento de lenticelas, maduración irregular y picadura superficial, lo que generó la pérdida de luminosidad (**Fig. 28**).

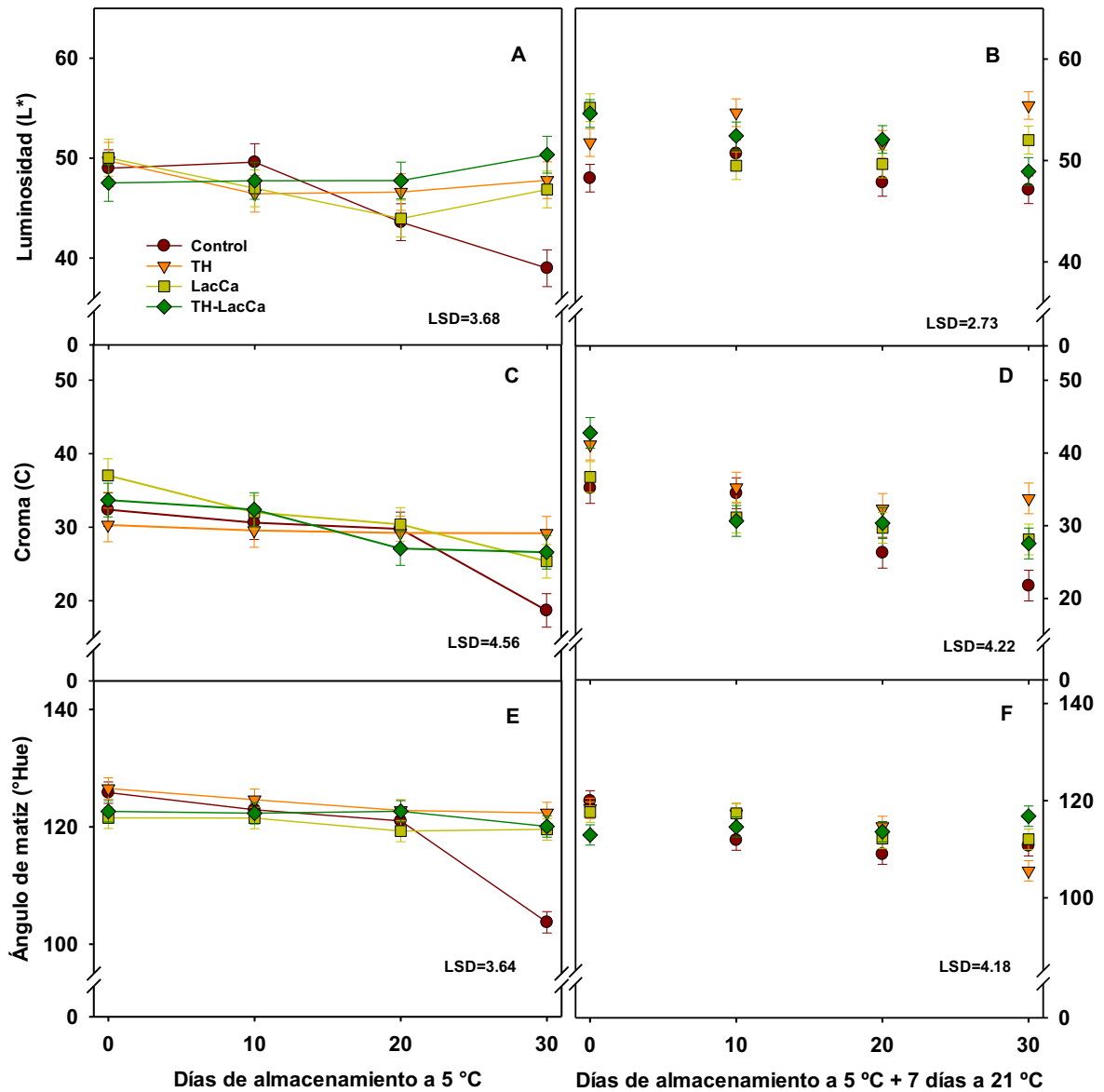


Fig. 33. Parámetro de luminosidad (A, B), cromaticidad (C, D) y ángulo de matiz (E, F) en cáscara de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los valores representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia estadística significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

De manera general, durante la maduración (**Fig. 33B**) los frutos mostraron un incremento en L^* , excepto al final del almacenamiento donde se observó una reducción para los tratamientos control y TH-LacCa, que no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos. TH mantuvo la mayor luminosidad, lo que se puede relacionar con la la aceleración en la maduración provocada por el tratamiento térmico que permite una mejor degradación de clorofila y síntesis de carotenoides (Plotto y col., 2004). Djioua y col. (2009) reportaron que al aplicar un TH (46-50 °C, 30-75 min) en mango Keitt los frutos mostraron un incremento en L^* durante el almacenamiento a 6 °C, pero con valores inferiores al control, lo cual atribuyeron al incremento en el índice de oscurecimiento. Con respecto al efecto de la sal de calcio; en mangos Kensington y Sensation se observó una pérdida de L^* , debido a que el CaCl_2 provocó daños en las lenticelas de la cáscara generando un oscurecimiento leve y la opacidad en el tejido (Joyce y col., 2001). Por otro lado, Khaliq y col. (2015) reportaron que el uso de CaCl_2 (3%) sólo o en combinación con goma arábica mantuvo los valores de L^* sin cambios significativos en frutos de mango Choke Anan almacenados a 6 °C más 5 días a 25 °C. Esto puede estar relacionado con la reducción en la actividad metabólica del fruto, que retrasó la síntesis de carotenoides y antocianinas, así como la degradación de la clorofila.

2) Croma (C)

En las **Figs. 33C** y **33D** se muestran los resultados en la intensidad de color (Croma) para los 4 tratamientos durante el almacenamiento a 5 y 21 °C, respectivamente. Los valores de croma disminuyeron de manera general para todos los tratamientos a excepción del tratamiento TH que se mantuvo sin cambios significativos ($P>0.05$) durante los primeros días de almacenamiento. Al día 30, el tratamiento control manifestó la mayor reducción, mientras que el resto de los tratamientos presentaron valores similares ($P>0.05$) (**Fig. 33C**). Durante la maduración los valores de croma fueron mayores para todos los tratamientos (**Fig. 33D**), coincidiendo con el incremento en L^* y la degradación

de clorofila. El TH mostró los valores más altos seguido por los tratamientos con calcio (LacCa y TH-LacCa). El control mantuvo los valores menores, pero por arriba del almacenamiento a 5 °C, obteniendo al día 30+7 valores similares a TH-LacCa.

Resultados parecidos fueron reportados previamente en mangos Kensington tratados (Jacobi y Giles 1997) y sin tratar térmicamente (Zaharah y Zingh, 2011) durante su almacenamiento ya que mostraron una reducción en croma que se intensificó durante la maduración. Woolf y col. (1997) reportaron que una reducción significativa en croma en frutos almacenados a temperaturas bajas está asociada con el desarrollo de síntomas de DF, misma que se logra aminorar con el uso de un TH. En el caso de kiwi tratado con TH-CaCl₂ se observó un valor mayor de croma con respecto al control; lo que fue atribuido a que el TH interrumpió la actividad normal de las proteínas y la síntesis de clorofila (Shahkoomahally y Ramezani 2015). Khaliq y col. (2015) mencionaron que los valores de croma en los mangos control incrementaron rápidamente con respecto al tiempo de almacenamiento (6 °C), por otro lado los frutos tratados con CaCl₂ (3%) solos o en combinación con goma arábica no presentaron cambios significativos.

3) Ángulo de matiz (°Hue)

El ángulo de matiz para los frutos tratados se mantuvo sin cambios significativos durante el almacenamiento a 5 °C, mientras que para el tratamiento control se observó una reducción al día 30, presentando diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos (**Fig. 33E**). En la maduración, los frutos tratados con TH-LacCa no observaron cambios significativos en los valores de ángulo de matiz, obteniendo los valores más altos y diferencia significativa con el resto de los tratamientos al día 30+7. La aplicación individual de TH y LacCa favoreció una reducción siendo más significativa para TH (**Fig. 33F**), lo que coincide con el decremento observado en L* y croma. Este comportamiento es congruente con un cambio en el color,

como consecuencia de la degradación de pigmentos y la pérdida de éstos durante el almacenamiento. González Aguilar y col. (2008) reportaron que los cambios en el ángulo de matiz están determinados por la temperatura de almacenamiento y el tipo de cultivar. Así mismo, Salinas-Hernández y col. (2010) observaron que una retención del ángulo de matiz durante el almacenamiento a temperaturas bajas se encuentra relacionada principalmente con una reducción en la actividad enzimática sobre todo de PPO, el contenido de azúcares, ácidos orgánicos, vitamina C, carotenoides y polifenoles que determinan la susceptibilidad al oscurecimiento en el tejido.

En mango Choke Anan se reportó una reducción en los valores de matiz para todos los tratamientos con respecto al almacenamiento, especialmente para los frutos control después de 7 días a 6 °C; dicho comportamiento fue atribuido a la degradación del color verde en la cáscara del fruto. Con respecto al efecto del TH-LacCa, en un estudio en kiwi tratado con TH-CaCl₂ se observó una retención en el color durante el almacenamiento a 0 °C, impidiendo la degradación de la clorofila y manteniendo por mayor tiempo la calidad, similar a lo observado en este estudio a pesar de usar una sal de calcio diferente (Shahkoomahally y Ramezani, 2015).

b. Firmeza (N)

El calcio es uno de los aditivos químicos más utilizados para la retención de la firmeza en los frutos. Sin embargo, durante el almacenamiento a 5 °C los frutos de mango Keitt con y sin calcio presentaron una reducción significativa de la firmeza (**Fig. 34A**). El tratamiento control presentó la mayor pérdida, especialmente al día 30 donde mostró los menores valores con respecto a los frutos tratados (18.2 N). TH, LacCa y TH-LacCa no mostraron diferencia entre ellos, lo que se puede deber a una menor concentración de pectinas solubles en agua que aceleran el ablandamiento (Ketsa y col., 1999). Las temperaturas bajas por tiempos prolongados provocan un incremento en la solubilización y despolimerización de las pectinas de la pared celular permitiendo que la pared

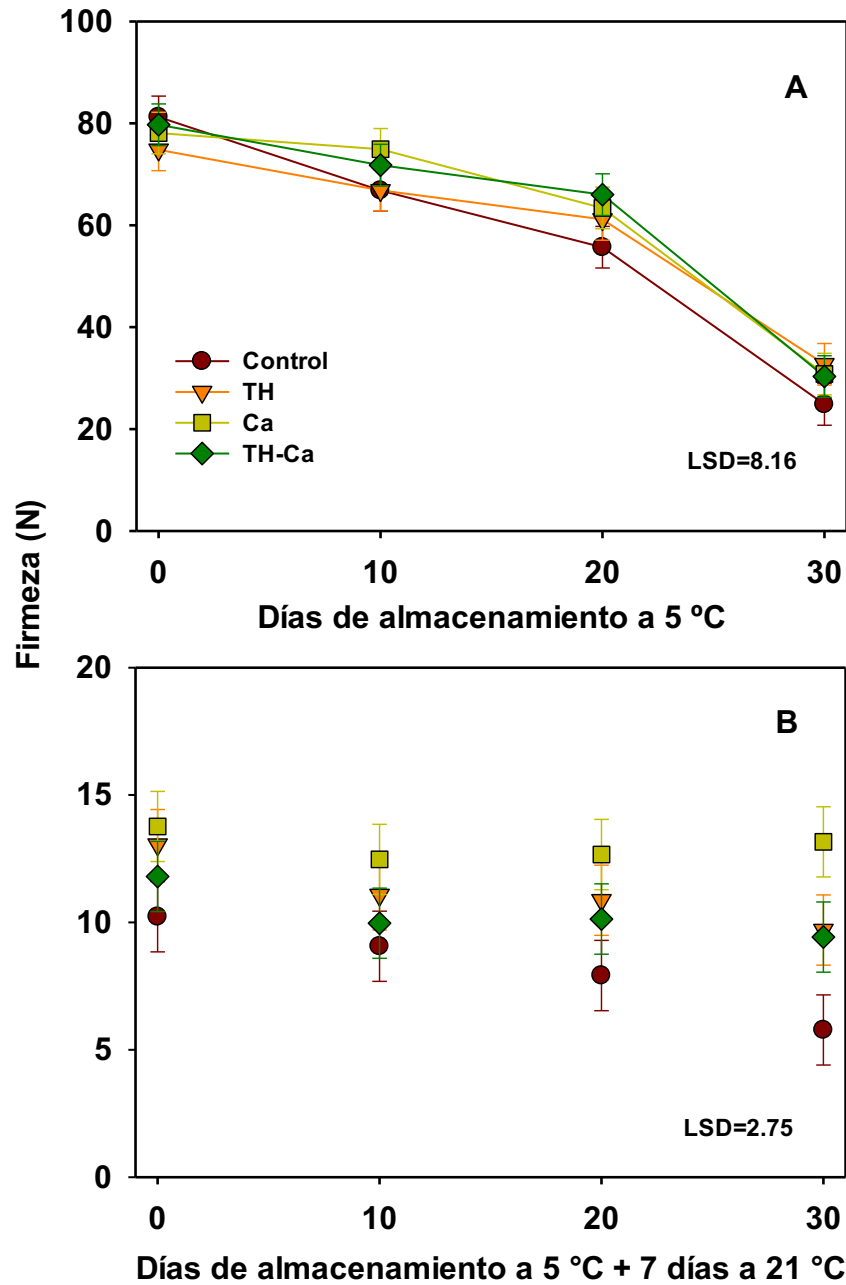


Fig. 34. Firmeza de la pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los valores representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia estadística significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

celular se suavice y se dé el ablandamiento colapsando la célula e induciendo la pérdida de firmeza (Carvajal y col., 2015).

Cuando los frutos se almacenaron por 7 días a 21 °C posterior al DF, todos los tratamientos presentaron una reducción significativa en la firmeza (**Fig. 34B**). Esto sugiere que durante la maduración de los frutos de mango el ablandamiento podría resultar de un incremento en la degradación y polimerización de las pectinas de la pared celular debido a la activación significativa de las enzimas degradativas PME, PG y β -Gal (Roe y Bruemmer, 1981; Ketsa y col., 1999). Los frutos tratados con LacCa presentaron la mayor firmeza al final del almacenamiento mostrando valores inclusive por arriba de la combinación TH-LacCa ($P < 0.05$). Se ha comprobado que un pre-acondicionamiento a temperaturas bajas disminuye la solubilización de las pectinas unidas no covalentemente a la pared celular permitiendo mantener por más tiempo la firmeza en el fruto. Como prueba de ello, Djioua y col. (2009) observaron que al aplicar un tratamiento hidrotérmico (46-50 °C, 30-75 min) en mango los frutos mantenían por más tiempo la firmeza con respecto al control, lo que coincide con lo observado en este estudio. Dicho comportamiento fue relacionado con una reducción en la solubilización de la fracción péctica que es uno de los principales factores que contribuyen a la retención de la firmeza, así como a una reducción en la actividad de las enzimas antes descritas. Por otra parte, Jacobi y Giles (1997) reportaron que el uso de tratamiento hidrotérmico en mango generaba frutos menos firmes que el control durante el almacenamiento a temperaturas bajas manteniéndose este comportamiento cuando los frutos eran expuestos a maduración, los autores atribuyeron este comportamiento a que los frutos tratados mostraban una mayor velocidad de respiración que los frutos control.

En mango MMP se observó que el uso de CaCl_2 generó una mayor retención de la firmeza que el uso de LacCa sobre todo cuando se aplicaba a altas concentraciones, similar a lo observado en este estudio. Esto se relaciona

con la capacidad que presentan los iones de calcio para estabilizar el plasma de la membrana uniendo los fosfolípidos y proteínas de la superficie, contribuyendo a un incremento en la integridad de la membrana y retención de la presión de turgencia (Ngamchuachit y col., 2004). Khaliq y col., (2015) reportaron que la aplicación de CaCl_2 en mango almacenado a 6 °C generó una mayor retención de la firmeza que los frutos control, gracias a la reducción en la actividad de las enzimas degradativas de la pared celular, lo que concuerda con lo observado en este estudio. Sirijariyawat y col. (2012) reportaron que los mangos MMP tratados con CaCl_2 -PME (pectinmetil esterasa) (10 g/L, 0.001 U/mL) también presentaron mayor retención de firmeza con respecto al control. Nuestros resultados también coincide con lo observado en frutos como durazno (Manganaris y col., 2007, Alandes y col., 2009), kiwi (Beirao-da-Costa y col., 2008) y fresas (Abd-Elhady 2014) tratadas con diferentes soluciones de calcio. La retención de la firmeza en los frutos de mango por la combinación TH-Ca fue observado previamente en manzana (López-López y col., 2013) y papaya (Ayón-Reyna y col., 2015) MMP pero no en fruto entero. El TH ejerció un efecto desnaturalizante en las enzimas degradativas limitando su función, mientras que el calcio permitió un incremento en la rigidez de la membrana celular, bloqueando el intercambio de gases y disminuyendo la velocidad de respiración del fruto, retrasando así el ablandamiento (Beirão-da-Costa y col., 2013; Shahkoomahally y col., 2015).

c. Sólidos solubles totales (SST)

En la **Fig. 35A** se presentan los resultados de SST en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C. Los cuatro tratamientos presentaron un incremento significativo en los SST durante los primeros 10 días, obteniendo LacCa y TH-LacCa el mayor contenido y diferencia significativa ($P < 0.05$) con los otros tratamientos al final del almacenamiento.

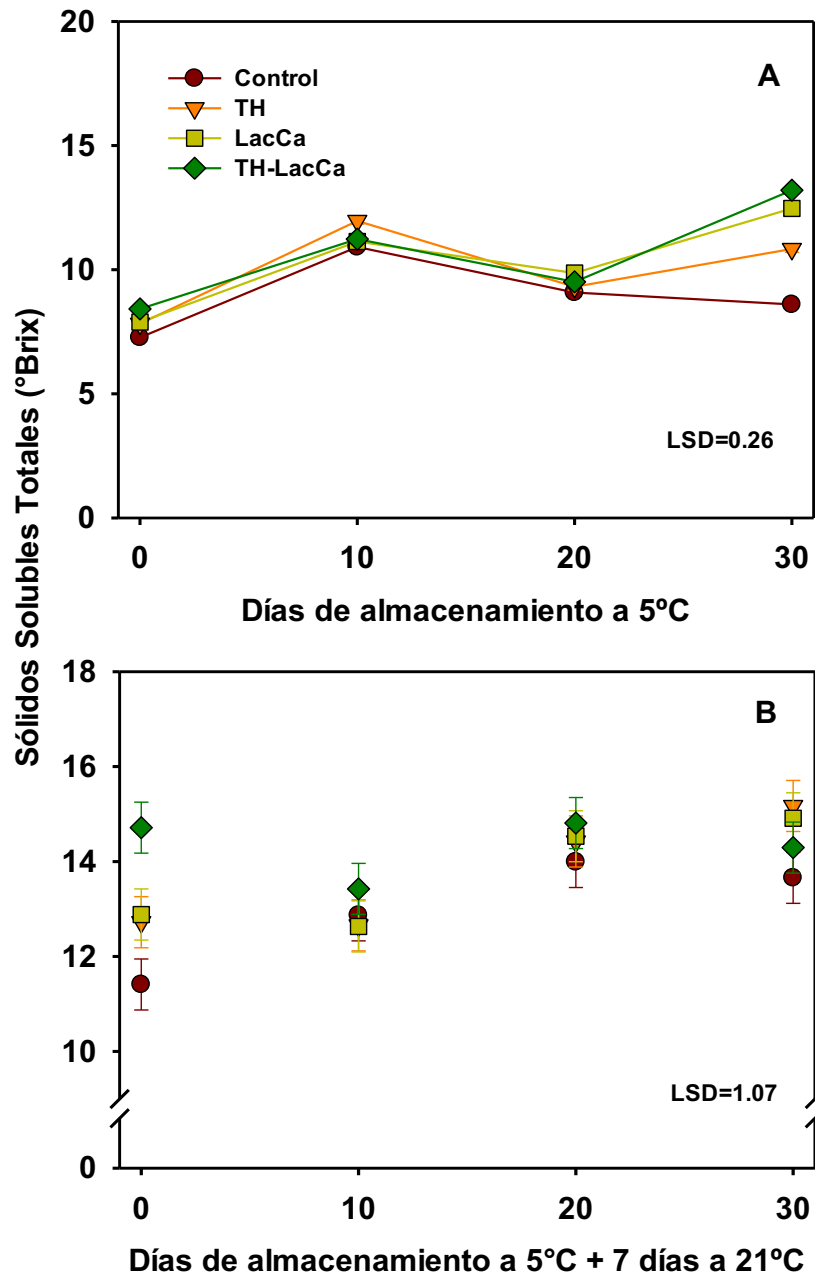


Fig. 35. Sólidos Solubles Totales de pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia estadística significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Durante la maduración todos los tratamientos presentaron un incremento en los SST especialmente durante los primeros 20 días (**Fig. 35B**). Al final del almacenamiento a 21 °C, todos los tratamientos permanecieron sin cambios significativos. Ma y col. (2014) encontraron que el incremento en los SST durante el estrés por frío puede estar asociado con la búsqueda de aclimatación del fruto a las temperaturas bajas, debido a que los SST funcionan como osmoreguladores en las células de las plantas pudiendo incrementar las concentraciones de soluto intracelular, reduciendo el punto de congelación dando como resultado un incremento en la tolerancia a las temperaturas bajas. Mientras que un incremento en los azúcares durante la senescencia puede ser relacionado con la pérdida de agua a través de los días de almacenamiento o debido a la solubilización de los polisacáridos de la pared celular de la fruta madura (Oz y Ulukanli 2014). Estudios previos en mango Keitt revelaron que la aplicación de aire caliente (38 °C, 24 h) y agua caliente (40 °C, 8 h) indujo una mayor síntesis de SST, sobre todo cuando se almacenó a temperatura ambiente posterior al almacenamiento a temperaturas bajas (McCollum y col., 1993; Jacobi y col., 2000). Jabbar y col. (2011) observaron que los tratamientos y la temperatura de almacenamiento son claves para la hidrólisis de los gránulos de almidón en el cloroplasto ya que los mangos Sufaid Chaunsa tratados hidrotérmicamente (48 °C, 60 min) presentaron una mayor acumulación de los SST durante el almacenamiento a 10-12 °C.

En relación a la aplicación de sales de calcio, diferentes autores concuerdan en que este mineral reduce la actividad metabólica del fruto retrasando la maduración y acumulación de azúcares simples durante el almacenamiento ya que se incorpora a la pared celular retardando la degradación de la cadena de pectina soluble (Manganaris y col., 2007; Figueroa y col., 2012). Khaliq y col. (2015) observaron que el uso de calcio en mango almacenado a 6 °C redujo la acumulación de sólidos solubles, mientras que

durante la maduración permitió un incremento, lo que coincide con los resultados encontrados en este trabajo.

d. pH

El comportamiento de pH para los frutos almacenados a 5 °C y 7 días a 21 °C se muestra en la **Fig. 36**. Se puede observar que el tratamiento TH-LacCa fue el único que mostró un incremento durante los primeros 10 días de almacenamiento obteniendo valores similares al tratamiento LacCa que se mantuvo sin cambios significativos ($P>0.05$) durante todo el periodo a 5 °C (**Fig. 36A**). El control presentó un incremento de pH al final del almacenamiento obteniendo valores similares al resto de los frutos tratados. Por otro lado cuando los frutos se llevaron 7 días a maduración (21 °C), manifestaron un incremento en el pH obteniendo TH los valores mayores al día 30 con diferencia significativa con el resto de los tratamientos (**Fig. 36B**).

De acuerdo a lo reportado por Djoua y col. (2009) un pH de 4 en mango está relacionado con una madurez regular durante el estrés por frío, por lo que se puede considerar que los diferentes tratamientos generaron un cambio mayor en el metabolismo del fruto permitiendo que maduraran de manera regular comparado con el control, debido a que un incremento en el pH en los frutos de mango se relaciona con una madurez adecuada y menor daño por frío en el tejido. El incremento en el pH fue atribuido a la conversión de ácido cítrico y ácido ascórbico a azúcares y otros productos en el proceso de maduración cuya tasa de conversión fue incrementada con la temperatura (Baloch y col., 2012). Resultados similares fueron reportados previamente por González-Aguilar y col. (2000) en mango Tommy Atkins durante el periodo de maduración (5 días a 20 °C) posterior al almacenamiento a 7 °C, lo que relacionaron con un incremento en la susceptibilidad al DF.

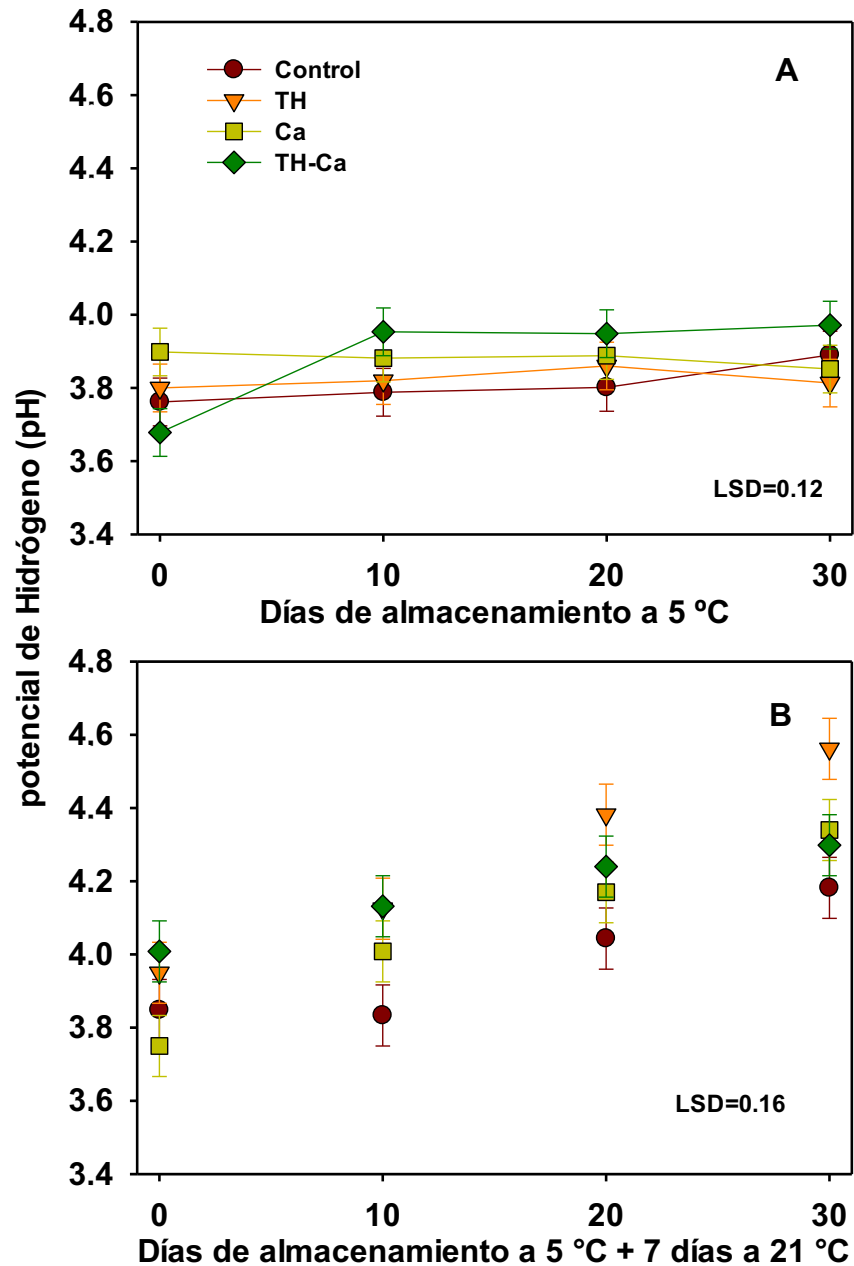


Fig. 36. Parámetro de pH en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia estadística significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

e. Acidez titulable (AT)

La acidez titulable medida como ácido cítrico en los frutos de mango durante el almacenamiento a 5 °C osciló entre 0.35 y 0.63% al inicio del almacenamiento (**Fig. 37A**). Los frutos tratados presentaron un incremento no significativo con respecto a los días de almacenamiento, obteniendo al final valores similares entre ellos ($P>0.05$), mientras que el tratamiento control mostró una reducción con diferencia estadística a partir del día 20 con TH y LacCa. Durante la maduración, todos los tratamientos redujeron la acidez con respecto al almacenamiento previo, obteniendo TH los valores más bajos (0.28%) con diferencia significativa ($P<0.05$) únicamente con TH-LacCa (0.48%) que mantuvo valores por arriba (**Fig. 37B**), lo que coincide con el incremento y retención de los SST observados previamente.

Leyva-López y col. (2011) reportaron que un descenso en la AT se relacionaba con la utilización de los mismos como reserva de energía durante el metabolismo primario del fruto. Baloch y col. (2012) observaron que la acidez titulable tenía una correlación negativa con los SST y los carotenoides que son compuestos propios de la maduración; mientras que Jabbar y col. (2011) reportaron que una mayor acidez en frutos de mango TH comparado con el control se debía al contenido de taninos ácidos que llegaban a ser insolubles. Los ácidos orgánicos dentro de la fruta sirven como sustratos primarios para la reacción enzimática de la respiración (Oz y Ulukanli, 2014). El efecto de la combinación fue reportado previamente en mangos Tommy Atkins y Kent, donde los frutos mantuvieron mayor acidez titulable que el resto de los tratamientos, mostrando además menor relación SST/AT (Ngamchuachit y col., 2014).

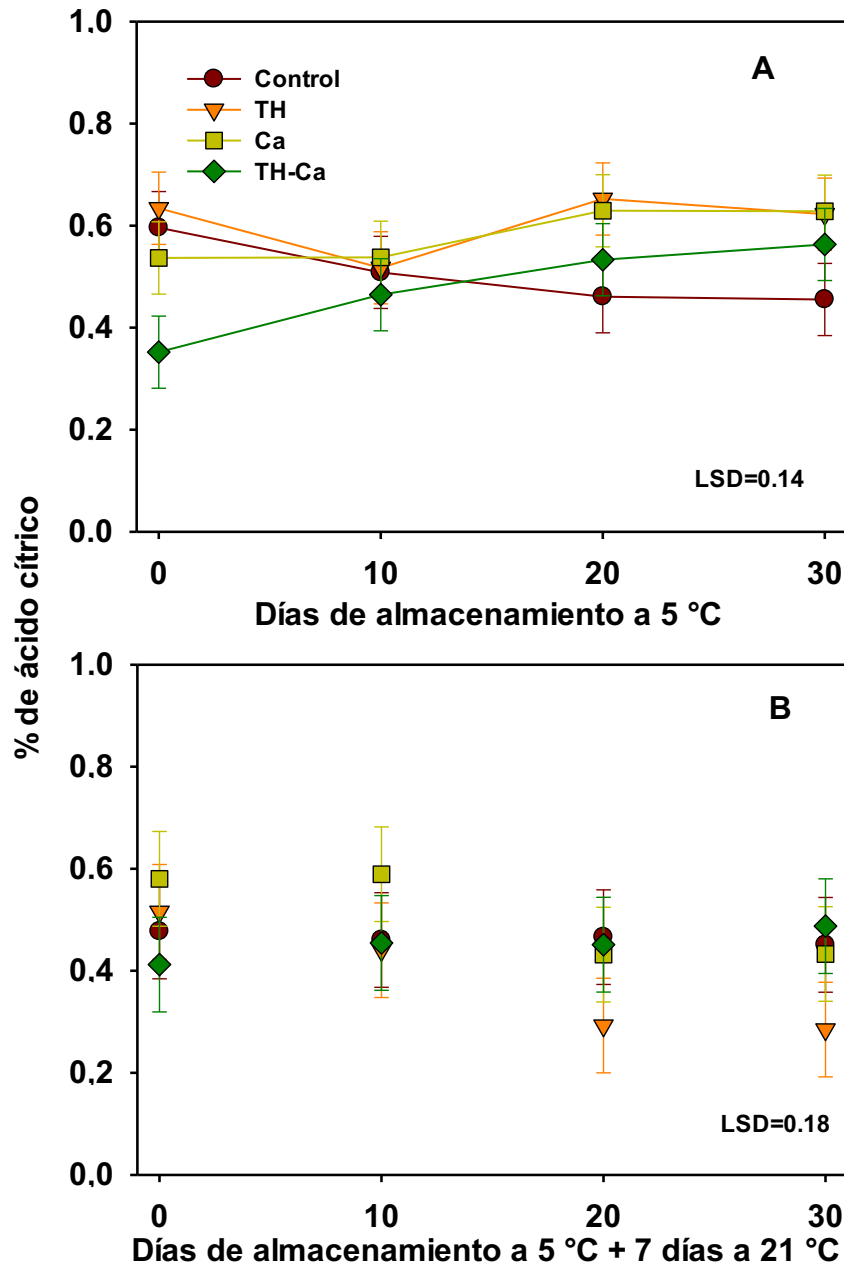


Fig. 37. Acidez titulable en pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C (A) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C (B). Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia estadística significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

4. Respuesta del sistema antioxidante no enzimático al estrés por frío en cáscara y pulpa de mango

Las plantas involucran eficientemente un sistema de defensa antioxidante (enzimático y no enzimático) que puede prevenir la acumulación de ERO's y reparar el daño oxidativo cuando son expuestas a estrés por temperaturas bajas (Junmatong y col., 2015). Los cambios en la síntesis de compuestos bioactivos están fuertemente relacionados con la capacidad que presentan los frutos para activar la ruta del fenilpropanoide, sobre todo cuando presentan susceptibilidad al DF.

a. Fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en cáscara de mango varió desde 63.5 hasta 104.3 mg EAG/g P.S. durante el almacenamiento a 5 °C (**Cuadro 5**). Al inicio (día 0), el tratamiento control manifestó el contenido mayor de CFT seguido por LacCa y TH-LacCa ($P<0.05$). El resto del almacenamiento, estos últimos tratamientos presentaron una reducción significativa en el contenido de fenólicos. Por otro lado, el tratamiento TH indujo un incremento durante los primeros 20 días a 5 °C obteniendo el valor más alto de CFT con respecto al resto de los tratamientos (88.0 mg EAG/g P.S.). Al final del almacenamiento todos los tratamientos exhibieron una disminución en los CFT, manteniendo los frutos con TH el valor mayor. En el periodo de maduración el contenido de CFT continuó disminuyendo para todos los tratamientos, siendo de nuevo los frutos con TH los que presentaron el mayor contenido de fenólicos con valores que oscilaron entre 62.8 y 86.4 mg EAG/g P.S., mientras que el control presentó el menor contenido (46.6 a 69.6 mg EAG/g P.S.).

Por otra parte, en pulpa de mango se observó un contenido menor de CFT con respecto a cáscara (**Cuadro 6**). Los tratamientos control, TH y LacCa presentaron una reducción en los fenólicos totales durante los primeros 20 días de almacenamiento a 5 °C, mientras que en los frutos tratados con TH-LacCa se observó un incremento (61.9 mg EAG/100 g P.F.). Al final del

almacenamiento, TH-LacCa obtuvo valores superiores de CFT con respecto al resto de los tratamientos ($P < 0.05$) obteniendo el control el menor contenido (20.1 mg). Durante la maduración, los tratamientos TH, LacCa y TH-LacCa exhibieron un incremento en el CFT, mostrando LacCa el mayor contenido al día 30 (67.6 mg), mientras que el control en general presentó una reducción obteniendo los menores valores (26.6 mg). Esto sugiere que la aplicación de un tratamiento térmico sólo o en combinación con lactato de calcio puede contribuir potencialmente a sintetizar o mantener el contenido de compuestos fenólicos tanto en cáscara como en pulpa de mango Keitt, reduciendo su susceptibilidad al DF.

Aghdam y col. (2015) sugieren que el tratamiento hidrotérmico produce un estrés moderado en el tejido que está asociado con la síntesis de compuestos antioxidantes involucrados en la neutralización del exceso de ERO's, mientras que el calcio estabiliza la pared y membrana celular reduciendo la interacción enzima/sustrato. Estudios previos confirman que la acumulación de compuestos fenólicos confiere protección a los frutos contra el daño por frío ya que éstos compuestos neutralizan los radicales libres producidos por el estrés oxidativo en conjunto con las enzimas antioxidantes, disminuyendo la oxidación de la membrana de ácidos grasos insaturados (Kondo y col., 2005; Zhao y col., 2008; Soleimani Aghdam y col., 2016). Un comportamiento similar al de cáscara fue observado previamente en los cvs. Nam Dok Mai y Choke Anan almacenados a 4 °C (30 días) y durante su maduración (27-28 °C, 6 días), ya que los compuestos fenólicos disminuyeron en cáscara con respecto al tiempo de almacenamiento, pero se mantuvieron en pulpa. La disminución en el CFT fue relacionada con la presencia de oscurecimiento en el tejido debido a los síntomas de DF (Chidtragool y col., 2011).

Cuadro 5. Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y maduración por 7 días a 21 °C sobre el contenido de compuestos bioactivos en cáscara de mango Keitt.

Días a 5 °C	Muestras sin madurar				Muestras maduras por 7 días a 21 °C			
	Control	TH	LacCa	TH-LacCa	Control	TH	LacCa	TH-LacCa
Fenólicos totales (mg EAG/g P.S.)								
0	96.16±1.40 ^{b,A}	86.27±1.17 ^{b,C}	92.03±6.29 ^{a,B}	93.72±.064 ^{a,AB}	69.56±3.17 ^{a,E}	86.38±2.54 ^{a,C}	87.77±2.61 ^{a,C}	81.51±2.06 ^{a,D}
10	104.25±2.15 ^{a,A}	86.73±1.32 ^{b,C}	91.46±2.08 ^{a,B}	78.37±2.76 ^{b,D}	57.25±4.28 ^{b,F}	76.99±2.58 ^{b,D}	54.20±1.67 ^{c,G}	60.67±1.38 ^{b,E}
20	74.82±0.68 ^{c,C}	88.02±0.37 ^{ab,A}	76.32±.06 ^{b,BC}	77.79±3.27 ^{b,B}	47.10±4.60 ^{c,F}	60.92±1.29 ^{c,D}	49.71±2.76 ^{d,E}	30.75±1.63 ^{d,G}
30	63.53±2.20 ^{d,B}	73.29±1.18 ^{c,A}	65.44±1.39 ^{c,B}	73.12±3.73 ^{c,A}	46.62±2.09 ^{c,F}	62.82±1.52 ^{c,C}	59.98±4.32 ^{b,D}	56.79±1.64 ^{c,E}
Flavonoides totales (mg EQ/g P.S.)								
0	50.10±1.14 ^{a,B}	43.32±0.96 ^{a,C}	41.67±3.88 ^{b,D}	55.47±0.84 ^{a,B}	53.21±2.58 ^{a,B}	48.37±1.29 ^{a,C}	67.31±1.48 ^{a,A}	51.47±2.01 ^{a,B}
10	49.77±1.67 ^{a,B}	47.56±0.44 ^{a,C}	52.43±2.51 ^{a,A}	33.80±0.70 ^{b,F}	40.23±2.16 ^{b,D}	45.56±0.39 ^{b,C}	35.83±1.13 ^{b,E}	45.93±2.07 ^{b,C}
20	24.47±1.27 ^{b,C}	27.64±1.05 ^{b,CD}	26.09±2.07 ^{c,D}	31.95±2.38 ^{b,B}	38.25±1.84 ^{b,A}	37.46±2.99 ^{d,A}	32.08±0.67 ^{c,B}	38.433±1.88 ^{c,A}
30	20.91±2.63 ^{c,DE}	25.00±2.20 ^{c,C}	17.86±0.62 ^{d,D}	17.41±1.32 ^{c,E}	35.50±2.60 ^{c,B}	40.75±3.15 ^{c,A}	35.96±0.22 ^{b,B}	40.52±1.84 ^{c,A}
Carotenoides totales (mg β-caroteno/g P.S.)								
0	0.85±0.04 ^{b,C}	0.75±0.00 ^{b,E}	0.92±0.04 ^{c,B}	0.93±0.08 ^{b,A}	0.80±0.04 ^{a,D}	0.82±0.02 ^{a,D}	0.69±0.02 ^{c,F}	0.76±0.01 ^{b,E}
10	0.86±0.04 ^{b,C}	1.11±0.03 ^{a,B}	1.20±0.04 ^{a,A}	0.70±0.09 ^{c,E}	0.49±0.02 ^{b,F}	0.81±0.03 ^{a,D}	0.82±0.02 ^{a,CD}	0.86±0.01 ^{a,C}
20	0.91±0.04 ^{a,D}	1.11±0.00 ^{a,B}	0.97±0.02 ^{b,C}	1.14±0.02 ^{a,A}	0.46±0.01 ^{b,G}	0.51±0.06 ^{c,FG}	0.58±0.03 ^{d,E}	0.51±0.00 ^{d,F}
30	0.38±0.05 ^{c,F}	0.63±0.04 ^{c,C}	0.76±0.01 ^{d,A}	0.79±0.03 ^{c,A}	0.49±0.04 ^{b,E}	0.60±0.05 ^{b,D}	0.73±0.01 ^{b,B}	0.66±0.02 ^{c,C}

Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia estadística significativa entre días de almacenamiento por parámetro. Letras mayúsculas diferentes (A, B, C, etc.) indican diferencia significativa entre tratamientos al mismo día de acuerdo a la prueba de LSD ($p < 0.05$) de Fisher. Los datos representan la media de nueve réplicas

Cuadro 6. Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y maduración por 7 días a 21 °C sobre el contenido de compuestos bioactivos en pulpa de mango Keitt.

Días a 5 °C	Muestras sin madurar				Muestras maduras por 7 días a 21 °C			
	Control	TH	LacCa	TH-LacCa	Control	TH	LacCa	TH-LacCa
Fenólicos totales (mg EAG/100 g P.F.)								
0	54.88±2.89 ^{b,C}	52.74±0.69 ^{a,D}	49.16±0.53 ^{a,E}	44.44±2.06 ^{c,F}	44.86±1.19 ^{b,F}	71.41±1.05 ^{a,A}	53.79±1.12 ^{c,CD}	57.55±1.65 ^{b,B}
10	58.37±0.43 ^{a,B}	48.84±1.19 ^{b,E}	44.19±2.38 ^{b,F}	50.90±1.23 ^{b,E}	45.00±0.77 ^{b,F}	62.05±1.36 ^{b,A}	57.03±1.51 ^{b,BD}	55.77±1.96 ^{b,D}
20	31.75±0.57 ^{c,F}	33.64±1.38 ^{d,E}	43.27±0.82 ^{b,D}	61.92±2.38 ^{a,A}	46.12±0.61 ^{a,C}	54.20±1.33 ^{c,B}	56.18±2.32 ^{b,B}	48.04±4.83 ^{c,C}
30	20.09±0.46 ^{d,H}	42.85±0.47 ^{c,F}	51.64±2.20 ^{a,E}	63.89±2.26 ^{a,D}	26.56±0.60 ^{c,G}	65.50±1.22 ^{b,BC}	67.63±2.52 ^{a,A}	66.73±1.71 ^{a,B}
Flavonoides totales (mg EQ/100 g P.F.)								
0	64.38±1.01 ^{a,B}	58.72±1.54 ^{b,E}	60.49±1.44 ^{b,C}	45.76±0.81 ^{c,E}	64.50±1.53 ^{a,B}	45.54±0.90 ^{c,E}	67.07±1.13 ^{c,A}	63.89±1.33 ^{a,A}
10	58.80±1.71 ^{b,C}	66.11±2.79 ^{a,B}	40.61±0.65 ^{c,D}	70.17±1.82 ^{a,A}	65.31±2.32 ^{a,B}	56.68±1.83 ^{b,C}	60.75±1.97 ^{d,C}	59.07±1.91 ^{b,B}
20	46.66±1.04 ^{c,E}	39.17±3.61 ^{c,F}	68.53±2.21 ^{a,AB}	68.30±2.20 ^{a,ABC}	65.79±1.54 ^{a,BC}	65.54±0.80 ^{a,C}	70.85±0.32 ^{a,A}	60.02±3.41 ^{b,D}
30	55.78±1.62 ^{b,D}	68.35±2.04 ^{a,A}	61.83±2.30 ^{b,BC}	62.04±2.89 ^{b,BC}	61.18±2.58 ^{b,C}	63.89±0.94 ^{a,C}	62.34±0.46 ^{b,C}	64.57±2.56 ^{a,B}
Ácido ascórbico (mg AA/100 g P.F.)								
0	15.00±0.32 ^{a,A}	16.44±1.52 ^{a,A}	11.27±0.99 ^{b,B}	16.14±1.68 ^{a,A}	7.91±0.37 ^{b,D}	9.53±0.99 ^{a,C}	10.97±1.84 ^{a,B}	8.59±1.67 ^{b,CD}
10	6.65±1.17 ^{c,E}	18.91±0.39 ^{a,A}	14.87±1.90 ^{a,B}	8.27±3.33 ^{b,DE}	9.18±0.34 ^{a,CD}	9.21±0.53 ^{a,CD}	7.57±1.32 ^{b,DE}	10.90±1.20 ^{a,C}
20	14.02±1.75 ^{a,B}	19.58±4.99 ^{a,A}	14.68±1.41 ^{a,B}	10.40±3.43 ^{b,C}	7.43±1.10 ^{b,D}	6.05±1.09 ^{c,D}	6.68±1.22 ^{b,D}	5.87±1.04 ^{d,D}
30	8.90±0.89 ^{b,AB}	6.53±1.71 ^{b,CD}	10.16±2.43 ^{b,A}	6.38±1.16 ^{c,CD}	5.02±0.50 ^{d,D}	8.34±1.73 ^{b,B}	7.31±0.92 ^{b,BC}	7.84±1.11 ^{c,BC}
Carotenoides totales (mg β-caroteno/100 g P.F.)								
0	7.76±0.09 ^{b,F}	8.72±0.08 ^{c,DE}	8.54±0.15 ^{c,E}	8.55±0.25 ^{c,E}	10.91±0.34 ^{a,C}	12.83±0.42 ^{a,A}	8.83±0.19 ^{b,D}	11.43±0.10 ^{a,B}
10	8.93±0.10 ^{a,E}	11.50±1.02 ^{a,B}	10.23±0.19 ^{b,C}	12.02±0.09 ^{a,A}	9.34±0.19 ^{c,DE}	11.14±0.29 ^{b,B}	9.44±0.16 ^{a,D}	10.54±0.10 ^{b,C}
20	7.15±0.03 ^{c,F}	9.97±0.65 ^{b,B}	11.21±0.06 ^{a,A}	10.96±0.04 ^{b,A}	7.75±0.15 ^{d,E}	9.25±0.14 ^{c,D}	9.70±0.38 ^{a,B}	9.95±0.15 ^{c,B}
30	8.54±0.15 ^{f,F}	8.83±0.04 ^{c,E}	9.72±0.09 ^{b,B}	9.06±0.05 ^{c,D}	10.09±0.17 ^{b,A}	10.02±0.12 ^{b,A}	9.24±0.09 ^{a,C}	9.95±0.29 ^{c,A}

Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia estadística significativa entre días de almacenamiento por parámetro. Letras mayúsculas diferentes (A, B, C, etc.) indican diferencia significativa entre tratamientos al mismo día de acuerdo a la prueba de LSD ($p < 0.05$) de Fisher. Los datos representan la media de nueve réplicas.

Este comportamiento fue observado en pera almacenada a 4 °C, ya que un incremento de los compuestos fenólicos durante los primeros días lo relacionaron con una deshidratación en el tejido por el DF, mientras que la reducción fue consecuencia del mecanismo de defensa para limitar la oxidación del ácido ascórbico y mantener la actividad antioxidante en los frutos (Ochoa-Velasco y col., 2014).

Con respecto al tratamiento hidrotérmico, la aplicación de agua caliente en mango resultó en la acumulación o retención de diferentes compuestos fenólicos durante el almacenamiento en frío (Talcott y col., 2005). Chidtragool y col. (2011) indicaron que un contenido mayor de compuestos fenólicos durante el almacenamiento en frío está asociado con un incremento en la actividad de la fenilalanina amonio liasa (FAL) y una reducción de catecol oxidasa, así como con la inhibición de las enzimas involucradas en la degradación de la pared celular, induciendo mayor tolerancia al DF.

En relación con la aplicación de calcio, Khaliq y col. (2016) reportaron una menor reducción de los compuestos fenólicos durante el estrés por frío y posterior maduración en frutos de mango tratados con calcio, debido a que éste protegió al tejido del estrés oxidativo provocado por el DF, reduciendo la pérdida de los compuestos fenólicos. Asimismo en pera tratada con 2% de CaCl₂ la degradación de los compuestos fenólicos se redujo comparada con el control (Kou y col., 2015). Aghdam y col. (2013) encontraron que una mayor concentración de CaCl₂ logró mantener un mayor contenido de compuestos fenólicos, reduciendo además el DF debido a una menor peroxidación de lípidos en cerezas. Este comportamiento lo relacionaron con la capacidad que presentan los compuestos fenólicos para donar protones o electrones, estabilizando los iones quelantes metálicos de transición y los electrones desapareados (Khaliq y col., 2016). La combinación del TH con CaCl₂ en frutos de kiwi (Shahkoomahally y Ramezani, 2015) y papaya MMP (Leyva-López y col., 2011; Ayón-Reyna y col., 2015) favoreció una menor reducción de

compuestos fenólicos durante el almacenamiento, y en algunos casos redujo la actividad de PPO (Leyva-López y col., 2011) pero incrementó la actividad de CAT y APX (Supapvanich y col. 2012).

b. Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales en cáscara de mango disminuyó para los tratamientos control y TH-LacCa durante el almacenamiento a 5 °C, mientras que el tratamiento LacCa presentó un incremento significativo ($P<0.05$) durante los primeros 10 días, disminuyendo el resto del almacenamiento (**Cuadro 5**). Al día 30 a 5 °C, el tratamiento TH obtuvo el mayor contenido de flavonoides (25.0 mg EQ/g P.S.) con respecto al resto de los tratamientos. Durante la maduración (21 °C) los tratamientos control, TH y LacCa exhibieron una reducción al día 10+7, para incrementar el resto del almacenamiento. En el caso de la combinación se presentó un incremento constante mostrando valores similares a TH al final del almacenamiento (día 30) (40.5 y 40.8 mg EQ/g P.S., respectivamente).

En pulpa de mango los valores de flavonoides totales variaron en relación al tratamiento y al día de almacenamiento. Al igual que en el contenido de CFT (**Cuadro 6**), el tratamiento control presentó el mayor contenido de flavonoides al día cero (64.4 mg EQ/100 g P.F.). Al someter los frutos a temperatura baja, TH-LacCa obtuvo la mayor síntesis y acumulación de compuestos fenólicos al día 10 (70.2 mg), seguido de una reducción durante el resto del almacenamiento. Al día 30, los frutos que fueron sometidos a tratamiento exhibieron mayor contenido de flavonoides que el control, especialmente en los frutos con TH (68.4 mg). Durante la maduración los frutos del tratamiento LacCa manifestaron un incremento significativo en los flavonoides con respecto al estrés por frío, obteniendo los valores máximos al día 20 y diferencia significativa ($P<0.05$) con los otros tratamientos. Al final, los tratamientos TH y TH-LacCa presentaron contenidos similares, con valores por arriba del control y LacCa. Dicho comportamiento permitió que los frutos tratados con TH desarrollaran la menor

susceptibilidad a las temperaturas de DF observadas previamente. Estudios anteriores han demostrado que una retención o acumulación de los compuestos flavonoides ha logrado adaptar diferentes plantas a condiciones medioambientales como son estrés por frío, radiación UV o ataque por patógenos, además de que mantienen protegido al fotosistema II del daño provocado por el estrés (González-Aguilar y col., 2007; Hichri y col., 2011). Al respecto, en mango Ataulfo se observó una reducción de flavonoides durante el almacenamiento a 5 °C, mostrando un deterioro del tejido (Robles-Sánchez y col., 2009), mientras que en mango Shelly el estrés por frío generó la acumulación de los flavonoides induciendo resistencia a los patógenos e incrementando la tolerancia del fruto al DF, ya que los flavonoides tienen efecto pleiotrópico de protección a la planta (Sivankalyani y col., 2016). González-Aguilar y col. (2007) encontraron que la aplicación de UV-C en frutos de mango, incrementó la síntesis de flavonoides durante el almacenamiento. El UV-C puede generar estrés en el tejido, y dependiendo de la intensidad se induce el grado de estrés oxidativo que se encarga de activar la peroxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas, oxidación de carbohidratos y daño al ADN. Las plantas responden a este estrés induciendo enzimas que juegan un papel en la eliminación de ERO's, y enzimas claves relacionadas con la biosíntesis de flavonoides como la chalcona sintasa (que es la que cataliza la primera reacción en la biosíntesis de flavonoides), dando como resultado, una acumulación de flavonoides que participan en el sistema protector sobre el daño por estrés. Además, el uso de pulsos de luz logró incrementar en un 30% la síntesis de flavonoides en mango Tommy Atkins, siendo la quercetina el flavonoide de mayor abundancia y el que proporcionó la mayor capacidad antioxidante (Lopes y col., 2016). Con respecto a la combinación TH-calcio, en frutos de cereza se observó que una mayor concentración de calcio (80 mM) logró una mayor síntesis de flavonoides durante el almacenamiento a 4 °C, logrando mantener además por más tiempo la calidad de los frutos (Agdham y col., 2013).

c. **Ácido ascórbico (AA)**

El ácido ascórbico juega un papel importante en el crecimiento y metabolismo del fruto, participando además como un potente antioxidante previniendo el oscurecimiento en el tejido, tendiendo a disminuir conforme avanza el periodo de maduración (Djioua y col., 2009; Abdul Aziz y col., 2012).

Al llevar a cabo el análisis de AA en pulpa de mango, no fue posible observar una tendencia clara durante el estrés por frío (**Cuadro 6**). El TH mostró los valores más altos (16.4-19.6 mg AA/100 g P.F.) durante los primeros 20 días de almacenamiento, mientras que la combinación TH-LacCa presentó los más bajos (8.3-16.1 mg AA/100 g P.F.). Al final del almacenamiento los tratamientos control y LacCa mostraron la mayor retención de AA (8.9 y 10.2 mg AA/100 g P.F., respectivamente). Durante la maduración, el contenido de AA se redujo para todos los tratamientos de manera general, siendo el control el tratamiento menos afectado ya que presentaba valores bajos de AA en el DF (7.4-7.9 mg) mientras que LacCa fue uno de los más afectados (11.0-6.7 mg). Al final del almacenamiento, nuevamente el TH logró retener un mayor contenido de AA (8.3 mg) sin mostrar diferencia significativa ($P>0.05$) con LacCa y TH-LacCa (7.3 y 7.8 mg, respectivamente). Un incremento en el contenido de AA durante el estrés por frío puede estar asociado con una mayor actividad de APX, ya que el AA funciona como sustrato para la enzima, manteniendo ambos un balance en el sistema oxidativo (Carvajal y col., 2015). Piga y col. (2003) y Chongchatuporn y col. (2013) encontraron que el contenido de AA en frutos de mango almacenados a 4 °C no presentó cambios significativos durante el almacenamiento, lo cual atribuyeron a que el AA fue protegido por la presencia de compuestos fenólicos que evitaron su oxidación; sin embargo, el contenido de AA y fenólicos totales no fue un factor limitante para el desarrollo de DF en el fruto. Contrario a nuestros resultados, Djioua y col. (2009) y Zhao y col. (2006) reportaron una retención y reducción del contenido de AA durante el almacenamiento en frío en frutos de mango pre-

tratados con frío y calor, respectivamente. Por otro lado, nuestros resultados fueron similares a los registrados por Dea y col. (2010), quienes reportaron un incremento en el contenido de AA en mango tratado térmicamente, lo cual fue relacionado con una mayor actividad de la enzima L-galacto-γ-lactona deshidrogenasa, la cual es responsable de la síntesis de ascorbato en tejido dañado por estrés térmico. Por otro lado, en mangos Ataulfo tratados hidrotérmicamente (46.1 °C, 75 min) se observó una reducción de AA durante el almacenamiento en frío debido al daño provocado por el calor en el tejido, acelerando la maduración y la susceptibilidad al DF (Luna Esquivel y col., 2006).

En este estudio, el uso del lactato de calcio sólo o en combinación presentó un mayor contenido de AA en el periodo de senescencia del fruto. El lactato de calcio mejora la firmeza de la pared celular favoreciendo la formación de una red más grande de pectinas reticuladas. Por lo tanto, la turgencia celular y la integridad de la membrana pueden mantenerse por más tiempo evitando la oxidación del AA (Ebd-Elhady, 2014). Khaliq y col. (2015; 2016) aplicaron CaCl₂ en mango y observaron que los frutos presentaron una reducción menor del AA durante el estrés por frío comparado con la combinación CaCl₂-goma arábiga. Aghdam y col. (2013) observaron que cerezas tratadas con 60 y 80 mM CaCl₂ obtuvieron un contenido de ácido ascórbico significativamente mayor que el resto de los tratamientos, lo que atribuyeron a que el CaCl₂ inhibió la actividad de la enzima ácido ascórbico oxidasa (AAO) o bien del sistema antioxidante que son responsables de la oxidación e incremento del ácido ascórbico, generando además una disminución en la senescencia y oscurecimiento del tejido. Otros estudios han demostrado que la combinación de un TH (46.1 °C, 75 ó 90 min) con AA-ácido cítrico y CaCl₂ en mango MMP reduce la pérdida de AA durante el almacenamiento en frío en los cultivares Ataulfo, Kent y Keitt (González-Aguilar y col., 2008).

d. Carotenoides totales

Los carotenoides son pigmentos responsables de la coloración amarilla en los alimentos y tienen una función protectora sobre el daño oxidativo (Djioua y col., 2009). El contenido total de carotenoides en cáscara de mango osciló entre 0.75 y 0.93 mg de β -caroteno/g P.S. al día cero (**Cuadro 5**). El tratamiento LacCa manifestó el mayor contenido de carotenoides al día 10 con diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos. Los tratamientos control, TH y TH-LacCa presentaron el mayor contenido de carotenoides al día 20 con diferencia entre ellos. Por otra parte, los tratamientos LacCa y TH-LacCa exhibieron una reducción al final del almacenamiento manteniendo el mayor contenido de carotenoides, mientras que el control obtuvo los valores menores (0.38 mg de β -caroteno/g P.S.). Durante la maduración, los diferentes tratamientos tuvieron una reducción significativa en la síntesis de carotenoides, manteniendo el tratamiento LacCa la concentración mayor (0.73 mg) al día 30, manifestando diferencia estadística con el resto de los tratamientos. Este comportamiento coincide con lo observado en el IDF, así como con los cambios de coloración observados previamente debido a que los frutos mostraron una cantidad alta de clorofila que impide la síntesis de los carotenoides, por lo que el tratamiento control mantuvo los valores más bajos. Los frutos de mango tratados mantuvieron la síntesis de los carotenoides debido a un menor daño en las rutas metabólicas como consecuencia de las temperaturas bajas.

En pulpa de mango, el almacenamiento a 5 °C afectó significativamente el contenido de carotenoides, encontrándose los valores más altos durante los primeros 10 días de almacenamiento (8.93-12.02 mg de β -caroteno/100 g P.F.) con diferencia significativa ($P<0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, los frutos tratados con LacCa obtuvieron el mayor contenido después de 20 días a 5 °C (11.21 mg). El menor contenido de carotenoides lo presentaron los frutos control al día 30 (8.54 mg), mientras que los frutos tratados con LacCa tuvieron la mayor síntesis (9.72 mg), seguidos por los de la combinación TH-LacCa (9.06

mg) y TH (8.83 mg). Durante la maduración, los mangos sin almacenamiento en frío (día 0+7) exhibieron un incremento significativo en los carotenoides, especialmente en el TH (12.83 mg). Considerando el tiempo de almacenamiento, el contenido de carotenoides en los frutos control incrementó significativamente, mientras que los tratamientos TH y TH-LacCa disminuyeron el contenido de carotenoides totales durante los primeros 20 días, para incrementar al final del almacenamiento (10.02 y 9.95 mg, respectivamente) posiblemente como respuesta de un retraso en la maduración. Al día 30 los frutos tratados con LacCa manifestaron la menor síntesis de carotenoides (9.24 mg) contrario a lo observado en cáscara (**Cuadro 5**). Joas y col. (2012) mencionaron que los niveles de carotenoides están condicionados al nivel de estrés provocado en el fruto, por ello, los diferentes resultados de este estudio están fuertemente relacionados con el nivel de estrés al que fueron sometidos los frutos. A este respecto, los autores indican que la diferenciación de los plástidos puede ser afectada dependiendo del nivel de estrés, siendo menor en el caso de frutos almacenados a temperaturas por debajo de los 20 °C. Resultados similares fueron registrados con antelación durante el almacenamiento en frío de mangos Tommy Atkins pre-tratados con agua caliente (50 °C, 60 min), ya que este cultivar no mostró un incremento en los carotenoides totales durante la maduración (Talcott y col., 2005). También, Djioua y col. (2009) observaron que el tratamiento con agua caliente (50 °C, 30 min) en mango Keitt incrementó su contenido de carotenoides totales, mientras que el tratamiento a 46-50 °C por 75 min causó una reducción. Se ha propuesto que el tratamiento térmico promueve la disrupción de la membrana celular, facilita la extractabilidad química y, dependiendo del tiempo y temperatura, puede ocurrir la oxidación de los carotenoides (Djioua y col., 2009). Además, la exposición del mango a diferentes tipos de estrés puede causar alteraciones indeseables en la estructura y bioactividad de los carotenoides en términos de isomerización, oxidación o degradación (Djioua y col., 2009). Al respecto, en

frutos de mandarina tratados hidrotérmicamente se indujo la síntesis de carotenoides previniendo el daño oxidativo en el tejido celular al actuar como antioxidantes durante el almacenamiento a temperaturas bajas. Los antioxidantes lipofílicos como los carotenoides pueden ayudar a controlar reacciones oxidativas causadas por ERO's y radicales libres inhibiendo la peroxidación de lípidos en la membrana celular causada por el procesamiento y las condiciones de almacenamiento (Ghasemnezhad y col., 2008). Por ello, la aplicación de un estrés moderado previo al almacenamiento a temperaturas de daño por frío incrementa la capacidad antioxidante del fruto generándole resistencia a las temperaturas bajas, similar a lo observado en el presente estudio.

González-Aguilar y col. (2008) mostraron que la combinación TH-solución antioxidante (AA + ácido cítrico + CaCl_2) incrementó la síntesis de carotenoides en mango MMP en tres diferentes cultivares (Ataulfo, Kent y Keitt) durante los primeros días de almacenamiento en frío, presentando la tasa más alta durante la maduración. Asimismo, Barman y col. (2013) observaron una mayor retención de carotenoides en mango tratado con Ca(OH)_2 con respecto al control. En contraste, la combinación de tratamientos agua caliente y CaCl_2 en papaya MMP (Ayón-Reyna y col., 2015), zanahorias, betabel, calabacín (Chepngeno y col., 2016) y toronja (Chaudhary y col., 2014) almacenados en frío redujo el contenido de β -caroteno, lo cual atribuyeron a la susceptibilidad del tejido a las temperaturas bajas, ya que la disminución de los carotenoides está fuertemente ligada a la oxidación de los pigmentos junto con un incremento en la actividad de las enzimas lipasa y LOX que provocan la degradación de los carotenoides (Chepngeno y col., 2016). En el mismo sentido, una reducción en la síntesis de carotenoides se asoció con una inhibición de la transcripción de genes que codifican enzimas implicadas en la biosíntesis de carotenoides, supresión del etileno y reducción del pico climatérico como parte de la maduración irregular del fruto (Barman y Asrey, 2014).

5. Actividad de enzimas del sistema antioxidante en respuesta al estrés por frío

a. Actividad de superóxido dismutasa (SOD)

La enzima SOD es considerada la primera línea de defensa del daño oxidativo, manteniendo la integridad de las membranas del tejido celular intactas (Sala y col., 2005; Jin y col., 2009). Al inicio del estudio la aplicación de los diferentes tratamientos tuvo un efecto inmediato en la actividad de la enzima SOD, especialmente cuando se combinaron los tratamientos TH y LacCa (54.9 U/mg de proteína). Cuando los frutos se almacenaron por 20 días a 5 °C, el tratamiento TH-LacCa presentó un incremento de 1.6 veces en la actividad enzimática con respecto al día inicial ($P < 0.05$) (**Fig. 38A**). Además, este tratamiento presentó 1.8, 1.7 y 2.6 veces mayor actividad que los tratamientos control, TH y LacCa, respectivamente. Después de la maduración los cuatro tratamientos presentaron una reducción significativa en la actividad de SOD, manteniendo TH-LacCa la mayor actividad (38.99 U/mg de proteína). Asimismo, después de 20 días a 21 °C, los diferentes tratamientos con excepción de LacCa presentaron una reducción en la actividad enzimática manteniendo el tratamiento TH-LacCa la mayor actividad (49.85 U/mg de proteína).

Al llevar a cabo el análisis en la pulpa de mango (**Fig. 38B**), la actividad enzimática fue significativamente menor que en cáscara. Las muestras almacenadas por 20 días a 5 °C mostraron mayor actividad de SOD (17.7 a 12.1 U/mg de proteína) con respecto a los frutos que no fueron expuestos a temperaturas bajas (7.0-8.0 U/mg de proteína). Los mayores incrementos en la actividad fueron observados para los frutos tratados hidrotérmicamente, 1.2 veces para los frutos tratados con TH (15.0 U/mg de proteína) y 1.5 veces para TH-LacCa (17.7 U/mg de proteína), observándose diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los cuatro tratamientos.

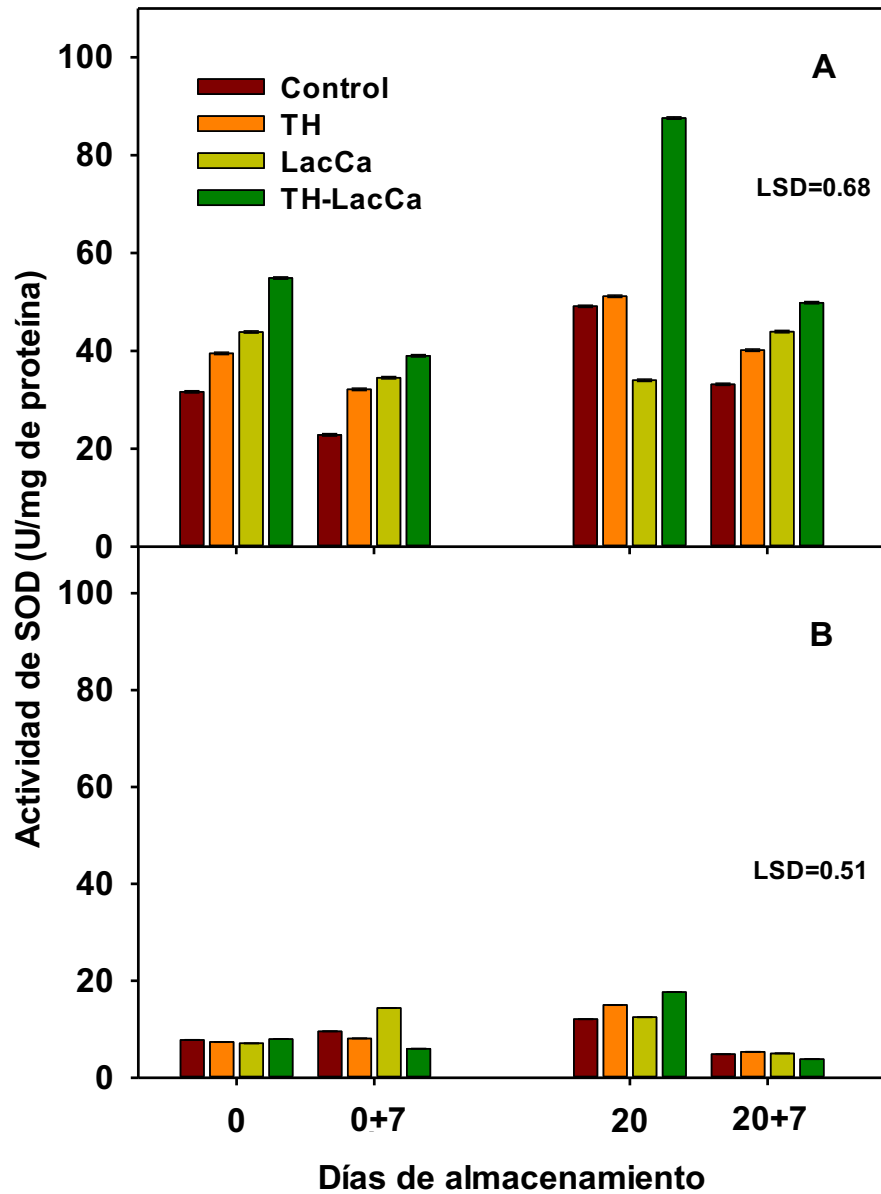


Fig. 38. Actividad de la enzima SOD en cáscara (A) y pulpa (B) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más un periodo de maduración a 21 °C por 7 días. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Durante la maduración, los frutos tratados con TH-LacCa presentaron reducción significativa en la actividad enzimática mientras que los frutos tratados con LacCa mostraron un gran incremento (14.3 U/mg de proteína). En el caso de los frutos almacenados a 5 °C por 20 días, la actividad de SOD disminuyó significativamente después de la maduración (3.8-5.3 U/mg de proteína), y los valores más altos fueron observados en los frutos tratados con TH.

Una actividad mayor de SOD ha sido relacionada con la tolerancia al estrés, debido a que neutraliza la reactividad del radical superóxido, el cual se sobreproduce durante el estrés. Una disminución del radical superóxido por la SOD puede ser el primer paso en el mecanismo de defensa del estrés oxidativo. En este sentido, la actividad de SOD se correlaciona inversamente con la tasa de radicales superóxido que generan susceptibilidad al frío en las plantas. Además, la activación de la enzima se correlaciona con la temperatura de almacenamiento y el tiempo de exposición (Imahori y col., 2008; Cao y col., 2011).

Estudios previos en mangos Tainong mostraron que el almacenamiento a 4 °C generó una reducción en la actividad enzimática de SOD (30.1%) incrementando la susceptibilidad al DF en los frutos (Wang y col., 2008). Sin embargo, en mangos Nam Dok Mai (Chongchatuporn y col., 2013) y Zill (Ding y col., 2016) se observó que el estrés por frío incrementó la expresión de genes y actividad de la enzima SOD disminuyendo los niveles de O_2^- , pero dicha actividad se redujo cuando el tiempo de exposición fue prolongado. Los mismos resultados se observaron en albaricoque (Imahori y col., 2008) y pepino (Qian y col., 2013) almacenados a temperaturas bajas. Los frutos activaron una cascada de señales incrementando la expresión de la enzima SOD y otras enzimas asociadas a la resistencia al estrés oxidativo. Dichos autores mencionan que un incremento en la expresión de SOD aumentaría la tolerancia al estrés oxidativo cuando otras enzimas antioxidantes o compuestos

antioxidantes no son suficientes para eliminar los radicales dependientes de oxígeno, por lo que una sobre expresión de *cyt-SOD* acompañada del incremento en la expresión de 6 genes de enzimas antioxidantes después del almacenamiento en frío incrementó la tolerancia al daño por frío en los diferentes frutos (Qian y col., 2013).

Diferentes pretratamientos han activado el sistema antioxidante y mejorado la respuesta al frío en frutos de mango (Yimyong y col., 2011; Lopes y col., 2016; Ren y col., 2017). En mango Tainong se observó que un incremento en las actividades de SOD, CAT y POD, así como una reducción en las actividades de las enzimas LOX y PPO favorecían una reducción en la concentración de MDA, anión superóxido y peróxido de hidrógeno, así como una mayor tolerancia al DF (Ren y col., 2017). Lopes y col. (2016) mostraron que los pulsos de luz indujeron una acumulación de SOD (158%) en mangos Tommy Atkins, mientras que Gonçalves-Santos y col. (2015) reportaron que la aplicación de ultrasonificación no provocó cambios en la actividad enzimática con respecto a los frutos de mango control ni con respecto al tiempo de almacenamiento en pulpa de mango Tommy Atkins. En limón (Safizadeh y col., 2007), mandarina (Ghasemnezhad y col., 2008), durazno (Jin y col., 2009) y caqui (Shao y Tu 2014) tratados térmicamente (aire y agua caliente) se presentó un incremento en la actividad de SOD durante las primeras semanas de almacenamiento a temperaturas bajas, seguido de una disminución (Safizadeh y col., 2007), similar a lo observado en este estudio, mostrando además un incremento en el ciclo del ácido ascórbico-glutatión, así como la activación de proteínas de choque térmico (Ghasemnezhad y col., 2008).

Considerando el tratamiento con calcio, resultados similares fueron reportados en injertos de plántula de berenjena ya que la aplicación de calcio generó un incremento en las actividades de SOD, CAT y APX durante el estrés por frío, así como el contenido de ácidos grasos insaturados (Gao y col., 2004), sugiriendo que el tratamiento con calcio incrementa la actividad de la enzima

protectora reduciendo el DF (Jin y col., 2009). Sin embargo, peras tratadas con CaCl_2 mostraron una reducción en la actividad enzimática pero con mayor actividad que el control durante el almacenamiento, mostrando una reducción en el IDF (Kou y col., 2015). El efecto de calcio y la combinación de los tratamientos sobre la actividad de las enzimas antioxidantes no ha sido previamente reportado, por lo que este trabajo proporciona información novedosa al respecto.

b. Actividad de catalasa (CAT)

La actividad de la enzima CAT en cáscara de mango no presentó cambios significativos ($P>0.05$) en respuesta a los diferentes tratamientos, obteniendo valores en un rango de 0.1 a 0.4 U/mg de proteína (**Fig. 39A**), mientras que el estrés por frío provocó un incremento significativo en la actividad de esta enzima, especialmente en los frutos tratados con TH-LacCa (13.4 veces) después de 20 días de almacenamiento. Por otro lado, los frutos tratados con LacCa presentaron la menor actividad con diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos. Después de que los frutos fueron transferidos a 21 °C los diferentes tratamientos mostraron una reducción significativa en la actividad de CAT sin diferencia significativa entre ellos.

En pulpa de mango la actividad de la enzima al inicio del almacenamiento se mantuvo de 0.1 a 0.6 U/mg de proteína, mientras que después de 20 días a 5 °C el rango de actividad fue de 0.06 a 0.6 U/mg de proteína (**Fig. 39B**). Ambos patrones fueron muy similares con valores significativamente mayores para TH y LacCa comparados con los tratamientos control y TH-LacCa. Sólo los frutos tratados con LacCa presentaron un incremento significativo ($P<0.05$) de actividad durante el almacenamiento por 20 días a 5 °C (0.6 U/mg de proteína), mientras que los tratados con TH no manifestaron cambios (0.6 U/mg de proteína). La actividad de CAT disminuyó significativamente durante la maduración, siendo más pronunciada en las muestras sin almacenamiento a temperaturas bajas.

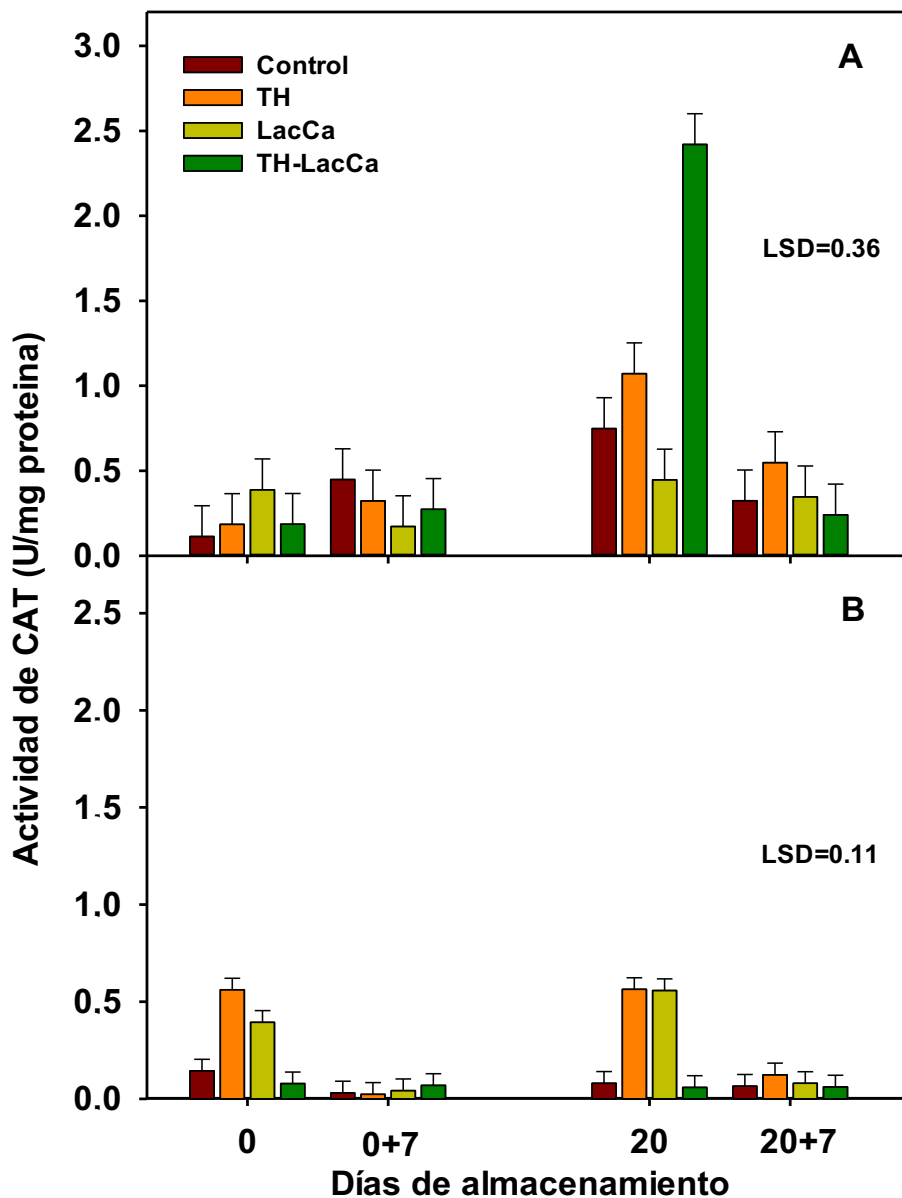


Fig. 39. Actividad de Catalasa (CAT) en cáscara (A) y pulpa (B) de mango almacenada a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

La enzima CAT juega un papel muy importante en la eliminación de H_2O_2 bajo condiciones de estrés, por lo que los tratamientos que producen una mayor actividad de esta enzima generan una mayor adaptación de los frutos al almacenamiento por frío (Carvajal y col., 2015). Imahori y col. (2008) reportaron que un incremento en la actividad de CAT está ampliamente relacionado con la resistencia al daño por frío y el desarrollo de estrés oxidativo, ya que la enzima permite la reducción del peróxido de hidrógeno producido por SOD, evitando la formación del radical hidroxilo que se encarga de la deterioración de lípidos, proteínas y el ADN, reflejándose en síntomas de DF. En frutos de mango en diferentes estados de madurez almacenados a temperaturas bajas se observó un incremento de la actividad de CAT especialmente en los frutos de color amarillo (maduro) (Zhao y col., 2008). Por el contrario, los cultivares de mango Nam Dok Mai y Choke Anan mostraron una reducción en la actividad de la enzima durante el almacenamiento a 4 °C que se mantuvo sin cambios durante la maduración (27-28 °C); el cultivar Nam Dok Mai presentó la mayor actividad enzimática, lo que se correlacionó inversamente con la inducción de DF durante la exposición a temperaturas bajas, sugiriendo que la actividad de CAT no fue un factor limitante para la inducción de DF (Chongchatuporn y col., 2013). Wang y col. (1995) reportaron que las temperaturas de pre-acondicionamiento de los frutos fueron capaces de mantener la actividad de CAT y suprimir el incremento en la actividad de POD. Así mismo, el uso de pulsos de luz en frutos de mango generó un incremento moderado en la actividad de CAT, aunque este comportamiento fue más relacionado como respuesta al tiempo de almacenamiento y no al tratamiento aplicado (Lopes y col., 2016).

En frutos de mandarina tratada con aire y agua caliente se observó un incremento inmediato de la actividad de CAT, la cual disminuyó durante el almacenamiento a temperaturas de DF, permitiendo la aparición de síntomas. Esto sugiere que en mandarina la actividad de CAT puede ser el mejor antioxidante enzimático involucrado en el mecanismo de defensa sobre el

estrés por frío (Sala y col., 2000). Este mismo incremento se observó en frutos de naranja (Bassal y El-Hamahmy, 2011), caqui (Shao y Tu, 2014; Khademi y col., 2014), y calabacín (Carvajal y col., 2015) tratados térmicamente ya que el pre-tratamiento produjo mayor tolerancia al DF. Con respecto al uso de calcio, estudios previos en berenjena (Gao y col., 2004), limón (Safizadeh y col., 2007) y pera (Kou y col., 2015) tratados con calcio y almacenados a temperaturas bajas mostraron un incremento en la actividad de CAT, disminuyendo la peroxidación de la membrana lipídica y acumulación de MDA. Kou y col. (2015) observaron que los desórdenes por oscurecimiento de lenticelas provocados por las temperaturas bajas fueron controlados a través de la inhibición de la peroxidación de lípidos y posible reducción de POD en frutos de pera.

c. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX)

La enzima APX está localizada en cloroplastos, mitocondria, microorganismos y citosol, siendo la enzima clave para descomponer el H_2O_2 en la plantas (Imahori y col., 2008). En contraste con la CAT, la APX puede ser responsable de la modulación de ERO's por señalización, mientras que la CAT puede ser responsable de remover el excesos de ERO's producidos bajo estrés (Imahori y col., 2008).

La actividad de la enzima APX en cáscara de mango se muestra en la **Fig. 40A**. Al inicio de la evaluación la actividad de la enzima varió de 0.2 a 1.0 U/mg de proteína, siendo los frutos de TH-LacCa y control los que presentaron la menor y mayor actividad, respectivamente ($P<0.05$). Después del almacenamiento por 20 días a 5 °C, los frutos tratados térmicamente y con calcio presentaron un incremento significativo en la actividad de APX, especialmente al combinarse (3.5 U/mg de proteína). TH y LacCa por separado no presentaron diferencia entre ellos pero sí con respecto al control que obtuvo la menor actividad. Siete días sin previo almacenamiento a 5 °C, los frutos tratados presentaron poca actividad de APX con valores por debajo del control.

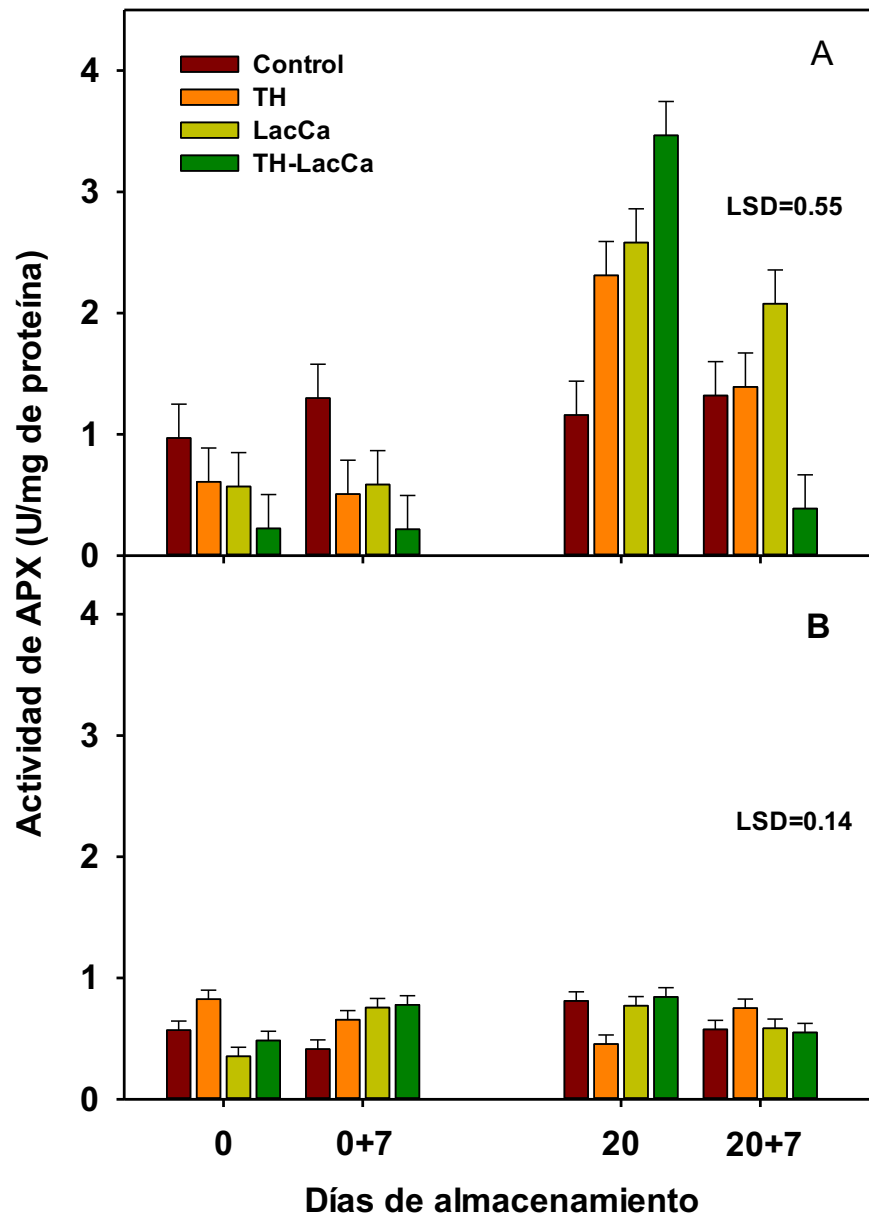


Fig. 40. Actividad de Ascorbato Peroxidasa (APX) en cáscara (A) y pulpa (B) de mango almacenada a 5 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

Por otra parte, en la maduración posterior al DF se observó una reducción significativa en la actividad de APX, alcanzando el menor valor en TH-LacCa que mostró diferencia significativa con el resto de los tratamientos. Por otro lado, los frutos tratados con LacCa obtuvieron la mayor actividad de APX (2.1 U/ mg de proteína), comportamiento posiblemente relacionado con la poca actividad de CAT y la actividad moderada de SOD.

En pulpa de mango Keitt, al inicio del almacenamiento la actividad de la enzima APX incrementó en respuesta al tratamiento hidrotérmico pero disminuyó al aplicar lactato de calcio (**Fig. 40B**). Después de almacenar por 20 días bajo estrés por frío, se observó una reducción significativa en la actividad de APX en los frutos TH, mientras que SOD y CAT mostraron un incremento significativo (**Figs. 38B y 39B**), lo que puede deberse a que CAT compitió con APX por el H₂O₂ producido por SOD en los frutos tratados térmicamente. Por otra parte, el resto de los tratamientos mostraron un incremento en la actividad sin diferencia significativa entre ellos.

Cuando los frutos fueron almacenados 7 días a 21 °C sin haberse almacenado previamente a 5 °C, los frutos tratados con calcio (LacCa y TH-LacCa) mostraron un incremento en la actividad, mientras que el control y TH mostraron una reducción. La actividad de APX en los frutos tratados fue significativamente mayor que en el control. Por otro lado, cuando se almacenaron 20 días a 5 °C más 7 días a 21 °C se incrementó la actividad de APX en aquellos tratados con TH, pero disminuyó en el resto. Sedigheh y col. (2011) mencionan que una reducción de la actividad de enzimas del sistema antioxidante al final del almacenamiento está muy relacionada con un desbalance en la presencia de ERO's, en este caso H₂O₂, como consecuencia de la senescencia y pérdida de la integridad celular. Asimismo, Duan y col. (2012) reportaron que el incremento en la actividad enzimática y expresión de

genes de APX tilacoidal permite una menor acumulación de H_2O_2 en los frutos, generando una mayor tolerancia al DF, especialmente las primeras semanas de almacenamiento. Al respecto, en mangos Nam Dok Mai y Choke Anan se observó un incremento en la actividad de APX durante los primeros 10 días de almacenamiento a 4 y 12 °C, especialmente para Choke Anan. Al final del almacenamiento los frutos de ambos cultivares mostraron una reducción significativa en la actividad de APX, lo que fue relacionado con la presencia de oscurecimiento en el tejido y con el incremento en la actividad de POD, por lo que un incremento en la actividad de APX pudo contrarrestar el efecto de las temperaturas de DF (Chongchatuporn y col., 2013).

En mango Okrong tratado hidrotérmicamente (50 °C, 10 min) y almacenado a 8 y 12 °C se presentó un incremento en la actividad de APX, especialmente a 8 °C, aunque la actividad disminuyó al ser almacenado a temperatura ambiente (Yimyong y col., 2011). La actividad de la enzima APX está relacionada con la presencia de ascorbato en el tejido ya que es su principal donador de electrones (Sato y col., 2001). En este sentido, un incremento en ascorbato puede estar relacionado con una mayor actividad de APX y por consiguiente una mayor protección de la célula al daño oxidativo y tolerancia al frío (Carvajal y col., 2015; Gonçalves-Santos y col., 2015), similar a lo obtenido en el presente estudio. Zhao y col. (2006) observaron que el estrés por frío en frutos de mango Whacheng previo al almacenamiento a temperaturas bajas generó un incremento en la actividad de CAT y APX pero una baja actividad de SOD y GR, generando tolerancia al DF en los frutos al igual que el choque térmico. Asimismo, en papaya se encontró que la aplicación de TH favoreció la activación de la enzima APX durante el almacenamiento a 6 °C, protegiendo la membrana e incrementando la tolerancia al daño por frío (Shadmani y col., 2015).

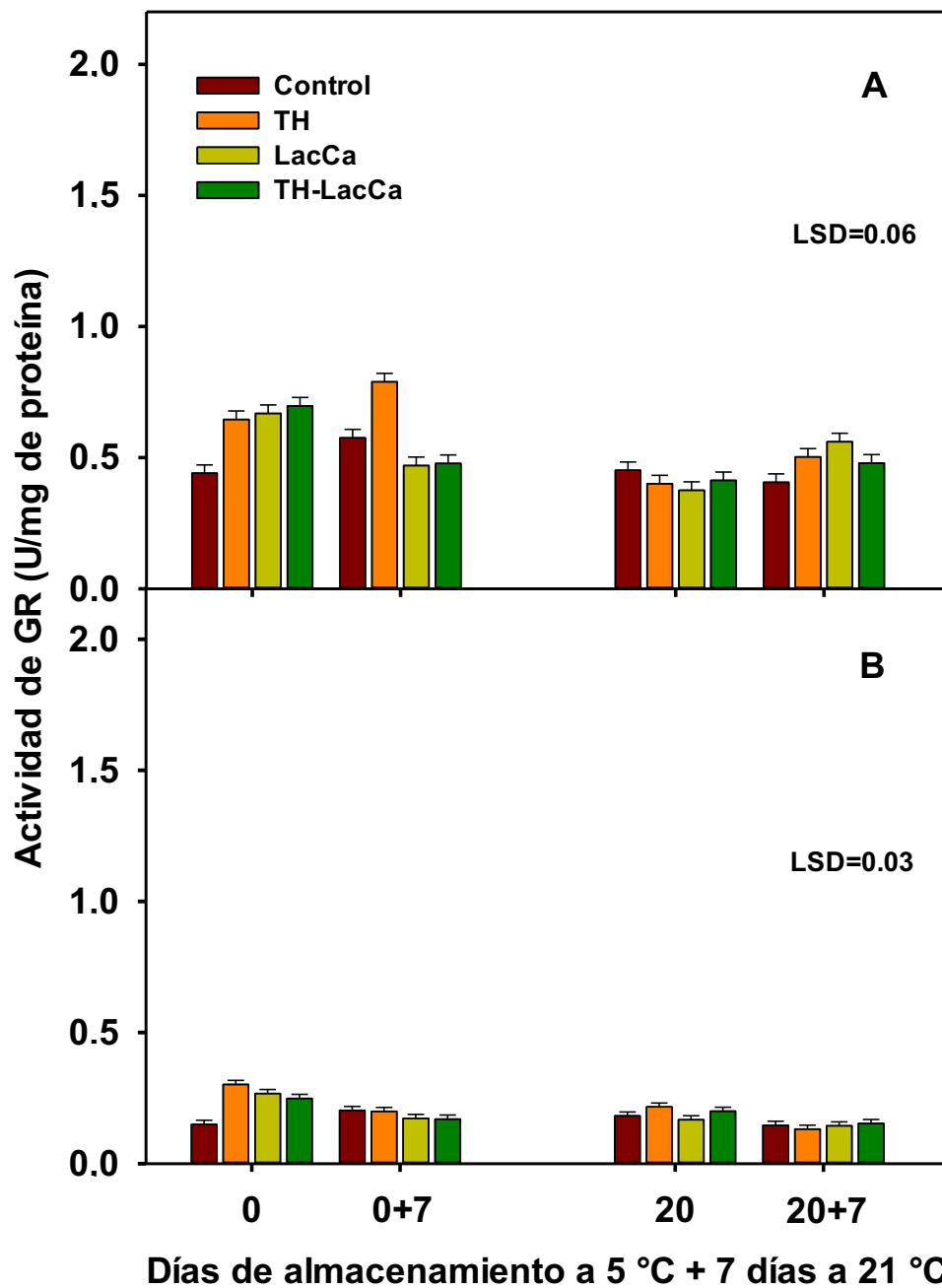


Fig. 41. Actividad de la enzima GR en cáscara (A) y pulpa de mango (B) durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

d. Actividad de glutatión reductasa (GR)

La actividad de la enzima GR en cáscara de mango fue significativamente mayor para los frutos que se sometieron a los diferentes tratamientos con respecto al control ($P<0.05$), obteniendo valores en un rango de 0.4 a 0.7 U/mg de proteína al día 0 (**Fig. 41A**). Después de 20 días a 5 °C, los frutos tratados manifestaron una reducción significativa en la actividad de GR con valores por debajo del control pero sin diferencia significativa entre ellos ($P>0.05$). En maduración (7 días a 21 °C), al día inicial (día 0+7) los tratamientos control y TH mostraron un incremento significativo en la actividad de GR con valores por arriba del resto de los tratamientos, especialmente para TH (0.8 U/mg de proteína).

Los tratamientos LacCa y TH-LacCa manifestaron una reducción en la actividad enzimática sin diferencia significativa entre ellos. Después de que los frutos fueron almacenados 20 días a 5 °C más 7 días en maduración, los frutos tratados presentaron un incremento en la actividad de GR, alcanzando la mayor actividad en aquellos con LacCa (0.6 U/mg de proteína), seguidos por TH (0.5 U/mg de proteína) y TH-LacCa (0.5 U/mg de proteína).

En pulpa de mango, la actividad de GR fue significativamente menor con respecto a cáscara al igual que el resto de las enzimas analizadas previamente (**Fig. 41B**). Al inicio (día 0), los frutos tratados presentaron mayor actividad que el control, especialmente TH (0.3 U/mg de proteína) que mostró diferencia significativa ($P<0.05$) con el resto de los tratamientos. Los frutos con LacCa y TH-LacCa obtuvieron actividades similares. El DF provocó una reducción en la actividad de GR, donde TH y TH-LacCa presentaron valores similares y diferencias significativas con control y LacCa ($P<0.05$). En maduración, la actividad enzimática se redujo en todos los tratamientos sin obtener diferencia entre ellos después de 20 días bajo estrés por frío más 7 días a 21 °C. Shao y Tu (2014) mencionaron que una actividad mayor de GR induce tolerancia al DF en los frutos incrementando la actividad antioxidante, reduciendo la

peroxidación de la membrana lipídica, y favoreciendo una mayor proporción de ácidos grasos insaturados/saturados que mantienen la integridad de la membrana celular; reduciendo además el contenido de ERO's. Al respecto, en mango Zihua la actividad de la enzima GR incrementó en cada estado de madurez analizado después de 9 días de almacenamiento a 2 °C, especialmente en pre-amarillo, lo que relacionaron con un mayor contenido de glutatión en la pulpa que en conjunto con la actividad de GR reducen el estrés oxidativo y la susceptibilidad al DF en los frutos (Zhao y col., 2009). En frutos de naranja almacenados a 2 y 12 °C no se observó diferencia significativa en cuanto a la síntesis y actividad de GR, pero sí con respecto al tiempo de almacenamiento (Sala y col., 2005).

En tomate Micro-Tom se observó una mayor actividad de GR durante el estrés por frío en comparación con los frutos no sometidos a temperaturas bajas, sobre todo en estado verde; sin embargo dicha actividad se vio afectada durante la maduración (Malacrida y col., 2006). Asimismo, en pepino se observó que el almacenamiento a temperaturas bajas provocó una sobreexpresión del RNAm de GR que se vió reducida durante la maduración (Qian y col., 2013), por lo que el estrés por frío parece favorecer una mayor activación enzimática, lo que concuerda con lo observado en este estudio.

Con respecto al uso de pre-tratamientos, en mango tratado con estrés por frío previo al almacenamiento a temperaturas bajas se observó un incremento en la actividad de GR durante el periodo de estrés, siendo considerada la actividad de GR una respuesta defensiva inducida por el frío al igual que lo hace el tratamiento térmico, activando enzimas del sistema antioxidante (Zhao y col., 2006). En mango Okrong tratado hidrotérmicamente se observó un incremento de dos o tres veces en la actividad de GR inmediatamente después de aplicar el tratamiento, mostrando la actividad máxima al día 20 a 8 °C, incrementando el sistema antioxidante enzimático en el fruto (Yimyong y col., 2011). Este mismo comportamiento fue observado en melón tratado

hidrotérmicamente y almacenado a temperaturas bajas ya que se presentó una actividad mayor de la GR comparada con el control, misma que decreció durante el almacenamiento dando lugar a la aparición de síntomas de DF, lo que sugiere que la actividad juega un papel muy importante en la tolerancia al DF (Fogelman y col., 2011).

No se han encontrado estudios sobre el efecto del calcio y su combinación con hidrotérmico en frutos de mango. Sin embargo existen estudios en mango con ácido oxálico, metil jasmonato (Ding y col., 2007), ácido 2, 4-diclorofenoxiacético (Wang y col., 2008) en donde observaron que la aplicación de los tratamientos redujo significativamente el DF debido a un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes que incluyen a la enzima GR.

e. Actividad de peroxidasa (POD)

La enzima POD cataliza la oxidación de un sólo electrón de diversos compuestos antioxidantes en presencia de H_2O_2 , además de catalizar el oscurecimiento en frutas y hortalizas debido a la oxidación de compuestos fenólicos (Zhang y col., 2010; Chongchuporn y col., 2013). En cáscara de mango, al inicio del análisis se pudo observar que los frutos sometidos a TH presentaron mayor actividad de POD con respecto al control, LacCa y TH-LacCa ($P < 0.05$) (**Fig. 42A**). Sin embargo al transcurrir 20 días a 5 °C, los frutos tratados con TH manifestaron una reducción en la actividad de POD mientras que LacCa y TH-LacCa presentaron un incremento, siendo más significativo para LacCa (0.3 U/mg de proteína). En maduración (día 0+7), el tratamiento control exhibió el mayor incremento en la actividad de POD (5.9 veces), seguido por TH-LacCa (2.5 veces), mientras que TH y LacCa presentaron un incremento no significativo. Después de 20 días en maduración el tratamiento control presentó la mayor actividad de POD, seguido por TH y TH-LacCa.

Por otra parte, al analizar la pulpa de mango, los frutos presentaron valores de actividad por arriba de los observados en cáscara (**Fig. 42B**).

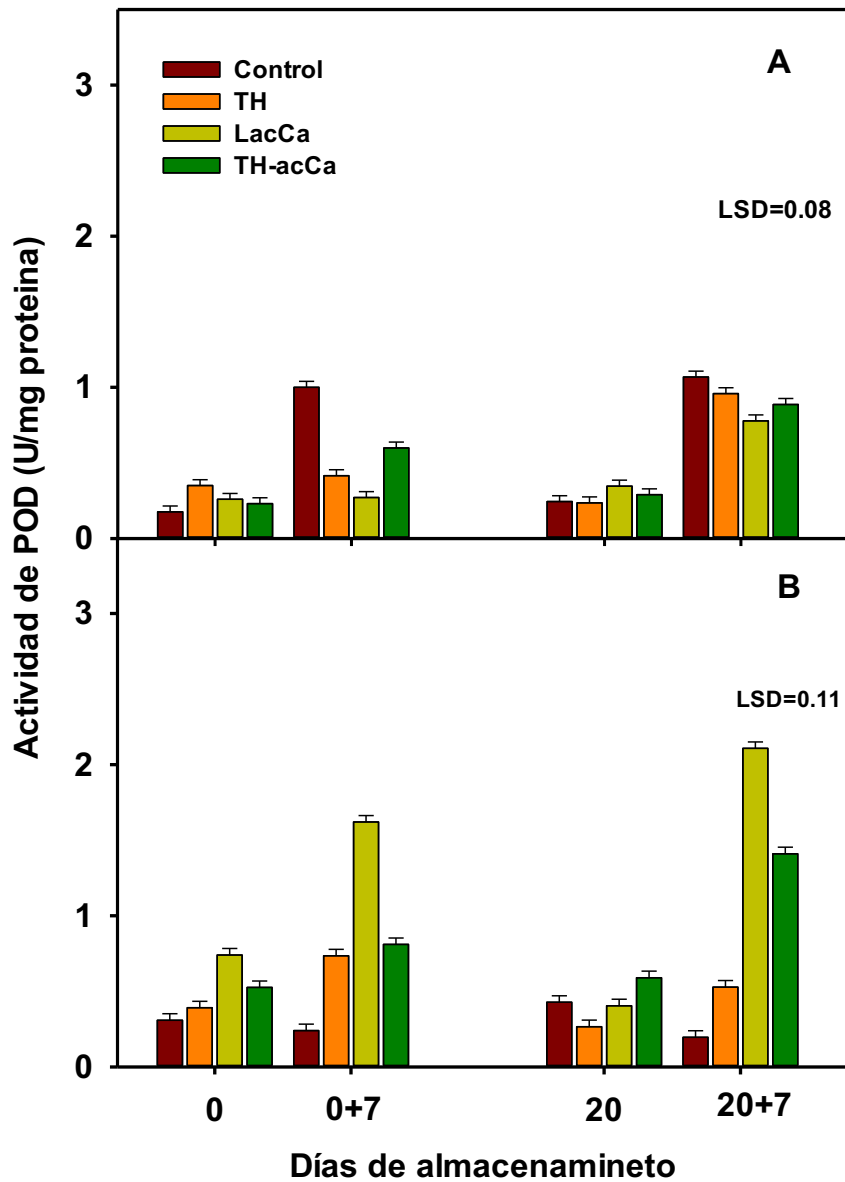


Fig. 42. Actividad de la enzima POD en cáscara (A) y pulpa (B) de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C. Los datos representan la media de seis réplicas y las barras verticales indican la menor diferencia significativa (LSD) con $\alpha=0.05$.

El tratamiento LacCa al inicio del almacenamiento presentó la mayor actividad seguido por la combinación, sin embargo al ser almacenado por 20 días a 5 °C, los tratamientos control y TH-LacCa exhibieron un incremento ligero.

En maduración, por otra parte, los frutos tratados con LacCa manifestaron un incremento significativo en la actividad obteniendo los valores máximos después de 20 días a 5 °C (2.1 U/mg de proteína), seguidos por la combinación TH-LacCa (1.4 U/mg de proteína). El tratamiento control expresó actividad baja, lo cual puede deberse a que la enzima POD puede estar funcionando como una enzima antioxidante, eliminando la acumulación de H₂O₂ que se produce durante el estrés por frío.

Diversos autores han relacionado un incremento en la actividad de la enzima POD como un mecanismo de defensa a las temperaturas bajas, mostrando un equilibrio entre las enzimas CAT, APX y POD (Ali y col., 2016; Carvajal y col., 2015; Zheng y col., 2012; Wang y col., 1995). Resultados similares fueron reportados previamente en mango Choke Anan almacenado a 4 y 12 °C más un periodo de maduración a temperatura ambiente, donde las enzimas POD y APX incrementaron sus actividades generando una menor susceptibilidad al DF al reducir la acumulación de ERO's (Chongchatuporn y col., 2013). Asimismo, en calabaza (Wang y col., 1995), caqui (Zhang y col., 2010) y lichi (Ali y col., 2016) sometidos a temperaturas bajas se observó una actividad mayor de POD durante el almacenamiento a temperaturas de DF. Estos autores mencionaron que el incremento en la actividad de POD en frutas dañadas por frío estaba relacionado con la necesidad del fruto de desintoxicarse de la célula debido a la acumulación de las ERO's producidas durante el estrés oxidativo.

Por otro lado, los resultados del tratamiento hidrotérmico coinciden con lo reportado en mango (Zheng y col., 2012), calabacín (Carvajal y col., 2015) y melón (Fogelman y col., 2011), donde los frutos presentaron un incremento

ligero en las actividades de PPO y POD reduciendo así la presencia de H₂O₂, así como una acumulación de compuestos fenólicos pero no un incremento en la actividad de FAL generando mayor tolerancia al DF, sin mostrar oscurecimiento en el tejido. Ghasemmnezhad y col. (2008) y Bassal y El-Hamahmy, (2011) reportaron que el tratamiento hidrotérmico incrementaba significativamente la actividad de POD en mandarina y naranja durante el almacenamiento cuarentenario en frío, observando que la reducción en el porcentaje de DF era paralelo con una mayor actividad de POD. Por otra parte, El-hilali y col. (2016) y Kou y col. (2015) mencionaron que al utilizar sales de calcio en el fruto, estos mostraron una reducción en la actividad de POD, lo que atribuyeron a la rigidez en la pared celular que impidió el rompimiento de la célula y la liberación de las enzimas deteriorativas, permitiendo reducir además el DF.

Siddiq y col. (2012), reportaron que los cationes de Ca permiten la activación de diversos sistemas antioxidantes incluyendo la activación de las enzimas SOD, CAT y POD, que provocan cambios en varios mecanismos de defensa que mejoran los procesos fisiológicos y bioquímicos permitiéndole a la planta adquirir tolerancia al estrés, ya que el Ca⁺² ejerce un poder estabilizador de la superficie de la membrana celular, influenciada por el pH celular previniendo la lixiviación del citoplasma. Por lo que el calcio es requerido en varios roles estructurales en la membrana y pared celular. Sin embargo el efecto del calcio puede ser inconsistente, debido a que puede incrementar o disminuir la actividad de POD de acuerdo a la concentración aplicada (Lamikanra y Watson, 2007).

6. Actividad antioxidante

Diferentes pre-tratamientos aplicados en frutos de mango han mejorado su sistema antioxidante y la respuesta al estrés por frío (Yimyong y col., 2011; Lopes y col., 2016; Ren y col., 2017). La acción coordinada de las enzimas SOD, CAT y APX, entre otras enzimas antioxidantes, es muy importante para

eliminar las ERO's, proteger la membrana celular y reducir el daño por frío (Wu y col., 2014). Por ello y para obtener más información sobre el posible papel de los compuestos bioactivos en la tolerancia al frío inducida por la aplicación de agua caliente en los frutos, se hizo la evaluación de la capacidad antioxidante tanto en cáscara como en pulpa.

En cáscara de mango el almacenamiento a 5 °C afectó significativamente la actividad antioxidante evaluada por el método ABTS (**Cuadro 7**). Los frutos tratados con TH-LacCa exhibieron la mayor actividad antioxidante (347.6-249.4 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$) durante el estrés por frío, seguido por los frutos tratados con LacCa (285.0-204.0 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$). El tratamiento control obtuvo la mayor reducción en la actividad antioxidante durante el almacenamiento a 5 °C (310.0-83.4 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$). La actividad de ABTS durante el estrés por frío presentó buena correlación con los compuestos fenólicos totales, flavonoides y carotenoides (**Cuadro 8**). En maduración, posterior al estrés por frío, todos los tratamientos obtuvieron un incremento significativo en la actividad antioxidante.

Los frutos tratados con LacCa y TH-LacCa de manera general manifestaron la mayor actividad antioxidante, presentando al final del almacenamiento el tratamiento LacCa la actividad mayor (441.0 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$), seguido por la combinación TH-LacCa (423.3 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$). El tratamiento control mantuvo la menor actividad (209.5 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$). Al hacer el análisis de correlación con los compuestos bioactivos también se observó buena correlación con los tres compuestos analizados (**Cuadro 8**).

En pulpa de mango, el tiempo de almacenamiento a 5 °C no influyó en la actividad antioxidante en los frutos control ya que permaneció sin cambios significativos ($P>0.05$) durante los primeros 20 días (219.3-216.5 $\mu\text{mol ET/ 100 g P.F.}$) pero con reducción significativa ($P<0.05$) al final del almacenamiento (179.01 $\mu\text{mol ET/100 g P.F.}$) (**Cuadro 7**). Por otra parte, los frutos que fueron sometidos a tratamientos de manera general mostraron un incremento en la actividad antioxidante, donde los tratados con la combinación TH-LacCa

Cuadro 7. Efecto del almacenamiento en frío a 5 °C y la maduración a 21 °C sobre la capacidad antioxidante en cáscara y pulpa de mango Keitt.

Días a 5 °C	Muestras sin madurar				Muestras maduras por 7 días a 21 °C			
	Control	TH	LacCa	TH-LacCa	Control	TH	LacCa	TH-LacCa
Cáscara								
ABTS (μmol Eq. de Trolox/ g P.S.)								
0	310.30±5.60 ^{a,D}	250.13±8.24 ^{a,F}	285.45±6.21 ^{b,E}	347.63±5.08 ^{a,C}	341.48±8.23 ^{a,C}	411.47±9.96 ^{a,B}	490.28±4.33 ^{a,A}	495.68±9.24 ^{a,A}
10	175.10±6.04 ^{b,H}	245.09±4.32 ^{a,G}	336.39±5.18 ^{a,D}	323.50±8.53 ^{b,E}	312.41±8.32 ^{b,F}	398.98±7.25 ^{b,C}	446.90±5.29 ^{b,A}	424.63±7.79 ^{c,B}
20	95.92±6.09 ^{c,G}	212.94±9.43 ^{b,F}	253.35±6.53 ^{c,E}	284.33±8.03 ^{c,D}	219.92±7.52 ^{c,F}	373.46±2.96 ^{c,C}	431.19±5.95 ^{c,B}	451.05±2.05 ^{b,A}
30	83.42±9.54 ^{d,G}	120.59±6.86 ^{c,F}	204.29±3.59 ^{d,E}	249.37±7.22 ^{d,D}	209.45±8.32 ^{d,E}	311.37±4.02 ^{d,C}	440.96±7.10 ^{b,A}	423.30±4.31 ^{c,B}
Pulpa								
ABTS (μmol Eq. de Trolox/ 100 g de P.F)								
0	219.33±4.54 ^{a,A}	148.64±4.96 ^{b,E}	173.13±5.82 ^{b,C}	183.30±6.64 ^{c,B}	150.79±6.62 ^{a,E}	144.13±7.74 ^{b,EF}	139.91±8.98 ^{c,F}	164.56±9.58 ^{a,D}
10	211.00±6.67 ^{a,A}	150.89±5.33 ^{b,C}	134.57±2.79 ^{d,D}	179.86±3.99 ^{c,B}	150.63±6.16 ^{a,C}	137.89±5.70 ^{b,D}	154.77±7.13 ^{b,C}	154.92±4.26 ^{b,C}
20	216.48±7.62 ^{a,A}	103.41±8.61 ^{c,F}	157.54±2.63 ^{c,C}	221.35±6.32 ^{a,A}	147.87±5.76 ^{a,D}	122.26±8.27 ^{c,E}	165.63±2.85 ^{a,B}	143.29±2.96 ^{c,D}
30	179.09±8.60 ^{b,D}	179.90±5.47 ^{a,D}	216.48±3.97 ^{a,A}	207.64±3.97 ^{b,B}	87.53±6.75 ^{b,F}	189.57±5.51 ^{a,C}	165.86±4.94 ^{a,E}	168.68±4.81 ^{a,E}
Cáscara								
DPPH (μmol Eq. de Trolox/ g P.S.)								
0	469.56±5.04 ^{b,A}	374.25±5.67 ^{c,C}	324.56±5.05 ^{d,D}	417.14±3.56 ^{c,B}	281.63±5.38 ^{a,F}	302.37±4.71 ^{a,E}	258.34±8.37 ^{a,G}	287.85±5.73 ^{a,F}
10	438.00±7.49 ^{c,B}	398.61±8.99 ^{b,C}	488.56±5.99 ^{b,A}	403.27±7.02 ^{d,C}	243.28±7.55 ^{b,E}	286.59±4.07 ^{b,D}	129.62±7.12 ^{c,G}	182.33±9.80 ^{b,F}
20	351.07±5.87 ^{d,D}	393.46±6.18 ^{b,B}	371.73±8.95 ^{c,C}	424.91±7.75 ^{b,A}	179.12±4.33 ^{c,E}	150.10±6.82 ^{d,F}	93.70±4.41 ^{d,G}	154.17±5.80 ^{d,F}
30	607.79±6.87 ^{a,C}	668.02±5.11 ^{a,A}	605.62±8.52 ^{a,C}	654.67±0.84 ^{a,B}	157.01±5.40 ^{d,E}	174.52±1.29 ^{c,D}	161.10±5.58 ^{b,D}	170.57±6.39 ^{c,D}
Pulpa								
DPPH (μmol Eq. de Trolox/ 100 g de P.F)								
0	179.69±3.45 ^{a,A}	152.49±2.95 ^{a,D}	161.91±2.56 ^{a,C}	133.09±4.78 ^{b,E}	60.21±5.60 ^{c,G}	134.99±3.80 ^{a,E}	87.22±1.23 ^{b,F}	169.25±5.36 ^{a,B}
10	180.69±2.79 ^{a,A}	137.22±2.74 ^{b,C}	127.93±1.96 ^{c,D}	147.92±4.29 ^{a,B}	67.21±4.55 ^{b,G}	110.52±2.98 ^{b,E}	87.95±6.46 ^{b,F}	149.79±2.95 ^{b,B}
20	173.38±4.11 ^{b,A}	108.73±2.92 ^{d,E}	147.01±2.24 ^{b,B}	116.27±3.13 ^{c,D}	82.31±4.26 ^{a,F}	80.16±4.53 ^{d,F}	85.51±8.52 ^{c,F}	131.15±3.12 ^{c,C}
30	150.30±4.37 ^{c,B}	132.80±2.67 ^{c,C}	162.44±4.71 ^{a,A}	88.30±2.15 ^{d,E}	57.33±2.31 ^{c,F}	100.77±2.33 ^{c,D}	161.79±4.06 ^{a,A}	170.40±5.12 ^{a,A}

Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia estadística significativa entre días de almacenamiento por parámetro. Letras mayúsculas diferentes (A, B, C, etc.) indican diferencia significativa entre tratamientos al mismo día de acuerdo a la prueba de LSD ($P < 0.05$) de Fisher.

Cuadro 8. Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en cáscara de mango.

	Muestras sin madurar				Muestras maduras 7 días a 21 °C			
	ABTS		DPPH		ABTS		DPPH	
	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Fenólicos totales	0.89	0.00	-0.44	0.09	0.74	0.001	0.94	0.00
Flavonoides totales	0.83	0.00	-0.47	0.064	0.68	0.004	0.90	0.00
Carotenoides totales	0.73	0.001	-0.44	0.089	0.70	0.003	0.85	0.00

r = Coeficiente de correlación de Pearson, *P* = nivel de probabilidad, ABTS = ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), DPPH = 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

Cuadro 9. Coeficiente de correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en pulpa de mango

	Muestras sin madurar				Muestras maduras 7 días a 21 °C			
	ABTS		DPPH		ABTS		DPPH	
	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Fenólicos totales	0.84	0.001	0.93	0.00	0.80	0.002	0.91	0.00
Flavonoides totales	0.82	0.001	0.85	0.00	0.55	0.065	0.65	0.023
Carotenoides totales	0.72	0.009	0.67	0.018	0.75	0.005	0.86	0.00
Ácido ascórbico	0.71	0.010	0.62	0.032	0.73	0.007	0.70	0.011

r = Coeficiente de correlación de Pearson, *P* = nivel de probabilidad, ABTS = ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) , DPPH = 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

presentaron la máxima actividad al día 20 (221.4 $\mu\text{mol ET/ 100 g P.F.}$), mientras que los frutos con TH y LacCa tuvieron la mayor actividad al día 30 (179.9 y 216.5 $\mu\text{mol ET/100 g P.F.}$, respectivamente).

La actividad antioxidante por el método ABTS presentó mayor correlación con los compuestos fenólicos totales y flavonoides totales, así como una moderada asociación con carotenoides ($r=0.72$; $P<0.009$) y ácido ascórbico ($r=0.71$; $P<0.01$) (**Cuadro 9**). Durante la maduración después de que los frutos fueron sometidos a estrés por frío, tanto el tratamiento control como la combinación (TH-LacCa) mostraron una reducción significativa en la actividad antioxidante, mientras que TH y LacCa exhibieron un incremento después de 20 y 10 días, respectivamente, donde el TH presentó la mayor actividad (189.6 $\mu\text{mol ET/ 100 g P.F.}$). El tratamiento control mantuvo la menor actividad antioxidante. La actividad por ABTS en las muestras de mango presentó una buena correlación con los compuestos fenólicos totales ($r=0.80$; $P<0.002$) y en menor proporción con flavonoides totales ($r=0.55$; $P<0.065$) (**Cuadro 9**). Este comportamiento puede deberse al hecho de que el pre-acondicionamiento de la fruta con un tratamiento térmico puede degradar o reducir su actividad metabólica modulando la síntesis de los fenólicos y flavonoides libres que pueden trabajar solos y sinérgicamente para la prevención de la acumulación de ERO's (Ummarat y col., 2011).

Un comportamiento diferente fue observado para el método DPPH en cáscara de mango. Al inicio los tratamientos control y LacCa mostraron la mayor y menor actividad antioxidante (469.6 y 417.1 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$) (**Cuadro 7**). La temperatura baja generó de manera general un incremento en la actividad antioxidante, especialmente al final del almacenamiento. El TH mostró la mayor actividad antioxidante (668.0 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$), mientras que los tratamientos control y LacCa mostraron la menor actividad (607.8 y 605.6 $\mu\text{mol ET/ g P.S.}$, respectivamente) sin presentar diferencia entre ellos ($P>0.05$), no

encontrándose correlación con los compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y carotenoides) durante el estrés por frío.

Cuando se evaluó el periodo de maduración, todos los tratamientos presentaron una reducción significativa de la capacidad antioxidante, expresando la mayor pérdida al final del almacenamiento. Sin embargo, la aplicación de los tratamientos mantuvo la mayor actividad antioxidante respecto al control, presentando alta correlación con los compuestos bioactivos con valores de r por arriba de 0.85 ($P < 0.00$) (**Cuadro 8**).

En pulpa de mango la actividad antioxidante por DPPH exhibió valores por debajo de los observados en cáscara (**Cuadro 7**). Todos los frutos tratados presentaron menor actividad de DPPH que su correspondiente control (179.7-173.4 ET/ 100 g P.F.) durante los primeros 20 días de almacenamiento en frío. Al día 30, el tratamiento LacCa obtuvo valores por arriba del control y el resto de los tratamientos (162.4 μmol ET/ 100 g P.F.). Por otra parte, al combinar los tratamientos TH-LacCa se observó una reducción significativa, obteniendo la menor actividad al final del almacenamiento (88.3 μmol ET/ 100 g P.F.). El análisis de correlación manifestó que tanto los compuestos fenólicos como flavonoides presentaron la mayor correlación con este método ($r=0.93$; $P=0.00$; $r=0.85$; $P=0.00$, respectivamente). Mientras que los carotenoides y ácido ascórbico mostraron menor correlación con el método DPPH (**Cuadro 9**).

En maduración después del DF, todos los tratamientos presentaron una reducción en la actividad antioxidante por el método DPPH, a excepción de TH-LacCa que obtuvo un aumento después de 20 días de almacenamiento, obteniendo la mayor actividad antioxidante durante todo el periodo de maduración con respecto al resto de los tratamientos (131.12-170.4 μmol ET/ 100 g P.F.). El tratamiento control presentó la menor actividad (57.3-82.3 μmol ET/ 100 g P.F.). Los compuestos fenólicos totales ($r=0.91$; $P=0.00$) y carotenoides ($r=0.86$; $P=0.00$) mostraron la mayor correlación con los cambios en la actividad antioxidante en la pulpa de mango (**Cuadro 9**).

En este mismo sentido, un incremento en la actividad antioxidante fue observada durante el almacenamiento a temperaturas de DF en mangos Nam Dok Mai y Choke Anan, lo cual fue atribuido a la acumulación de carotenoides, AA y fenólicos (Chongchatuporn y col., 2013). Al respecto, Kondo y col. (2005) reportaron que los compuestos fenólicos como son (+) catequina y (-) epicatequina tienen la mayor influencia en la capacidad antioxidante en mango. Sin embargo, estos autores no encontraron evidencia que soporte que los compuestos fenólicos reduzcan el daño por frío. Mientras que en nuestro estudio la correlación se vio con los compuestos fenólicos totales, flavonoides y en maduración además con carotenoides, agregando la influencia de ácido ascórbico en pulpa de mango. Asimismo, un incremento en la actividad antioxidante fue observada durante el almacenamiento a temperaturas de DF en mango Chausa, lo cual relacionaron con la acumulación de carotenoides, AA y fenólicos (Barman y Asrey, 2014). El almacenamiento de mango Nam Dok Mai a 5 °C manifestó que la susceptibilidad al DF estuvo fuertemente relacionada con la disminución de la actividad antioxidante, reduciendo el contenido de ácido ascórbico y compuestos fenólicos, así como la pérdida de actividad de SOD y APX (Junmatong y col., 2015).

Además, Belhadj y col. (2016) reportaron que la susceptibilidad del mango Keitt a las temperaturas bajas fue relacionada no sólo con la acumulación de compuestos bioactivos sino además con la interacción entre ellos y las enzimas del sistema antioxidante que en conjunto neutralizan o reducen las ERO's. Esta declaración es consistente con lo observado en este estudio debido a que hay una relación en el contenido de compuestos bioactivos, la actividad enzimática y la tolerancia al DF. En cerezas tratadas con calcio (60 y 80 mM) se observó un incremento en la actividad antioxidante con respecto al almacenamiento, siendo mayor en los frutos tratados, el tratamiento CaCl_2 estimuló la capacidad de eliminación de ERO's en cerezas, teniendo una buena correlación con los compuestos fenólicos totales, flavonoides, antocianinas y ácido ascórbico

(Aghdam y col., 2013a). Resultados similares a este estudio se reportaron previamente en mango tratado con CaCl_2 (3%) o combinado con goma guar (Khaliq y col., 2016), el incremento en la capacidad antioxidante de las frutas fue asociado con una mayor retención y síntesis de compuestos fenólicos, flavonoides y vitaminas durante el almacenamiento a temperaturas bajas. Por lo que la síntesis de compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides, en cáscara y pulpa de mango incrementaron el poder antioxidante sobre todo en los frutos tratados con TH y TH-LacCa, proporcionándoles en conjunto con la actividad de SOD, CAT, APX, GR y POD mayor tolerancia al DF.

IX. CONCLUSIONES

Los cultivares Keitt y Ataulfo mostraron la mayor y menor susceptibilidad al daño por frío (DF), respectivamente. La mayor tolerancia al DF en Ataulfo se asoció con un mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante con respecto al resto de los cultivares.

El uso de un tratamiento hidrotérmico (TH) combinado con lactato de calcio (LacCa, 0.5%) fue mas efectivo que TH-CaCl₂ y TH-CitCa para reducir el DF en mango Keitt durante el almacenamiento a 5 °C, manteniendo mayor calidad, especialmente firmeza.

La aplicación de un TH sólo o en combinación con LacCa (0.5%) proporcionó tolerancia al DF en frutos de mango Keitt, evidenciado por menor incidencia de síntomas, lixiviación de electrolitos, contenido de MDA y actividad de LOX.

La combinación TH-LacCa incrementó la actividad de enzimas del sistema antioxidante (SOD, CAT y APX) en cáscara y pulpa de mango durante el DF.

Los frutos con TH y TH-LacCa incrementaron el contenido de fenólicos, flavonoides y carotenoides totales en cáscara y pulpa, lo cual se relacionó con una mayor actividad antioxidante.

Los resultados sugieren que la aplicación individual de un TH cuarentenario o su combinación con lactato de calcio generan tolerancia al DF en frutos de mango cv. Keitt altamente susceptibles a este desorden. Ambos favorecen la activación del sistema antioxidante enzimático, así como la síntesis de compuestos bioactivos que incrementan la actividad antioxidante del fruto, reduciendo la acumulación de ERO's y el daño oxidativo.

X. BIBLIOGRAFIA

- Adom K.K., Sorrells M.E. y Rui H.L. 2005. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6):2297–2306.
- Aghdam M.S., Asghari M., Farmani B., Mohayjeji M. y Moradbeygi, H. 2012. Impact of postharvest brassinosteroids treatment on PAL activity in tomato fruit in response to chilling stress. *Scientia Horticulturae* 144:116-120.
- Aghdam M.S., Dokhanieh A.Y., Hassanpour H. y Fard J.R. 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit by postharvest calcium treatment. *Scientia Horticulturae Journal* 161:160-164.
- Aghdam M.S., y Bodbodak S. 2014. Heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology* 7: 37–53.
- Aghdam M.S., Sevillano L., Flores F.B. y Bodbodak S. 2015. The contribution of biotechnology to improving post-harvest chilling tolerance in fruits and vegetables using heat-shock proteins. *Journal of Agricultural Science* 153: 7-24.
- Aguayo E., Escalona V.H. y Artés F. 2008. Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut “Amarillo” melon. *Postharvest Biology and Technology* 47(3):397–406.
- Alandes L., Pérez–Munuera I., Kirca E., Quiles A. y Hernando I. 2009. Use of calcium lactate to improve structure of “Flor de Invierno” fresh-cut pears. *Postharvest Biology and Technology* 53(3):145–151.
- Ali M.B., Hahn E.J. y Paek K.Y. 2005. Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in *Phalaenopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry. Société Française de Physiologie Végétale* 43(3):213–23.
- Ali S., Khan A.S., Ullah Malik M. y Shahid, M. 2016. Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruits. *Food Chemistry* 206:18-29.

- Almeida Miguel A.C., Durigan J.F., Magalhaes-Marques K., Ascari Morgado C.M. y Ferraudo A.S. 2016. Prevention of chilling injury in 'Tommy Atkins' mangoes previously stored at 5 °C, using heat treatment and radiation UV (UV-C). *Revista Brasileña Fruticultura. Jaboticabal* 38(1):53-63.
- Anónimo. 2017a. Mango. ¿Conoces sus propiedades?. <http://liofrut.blogspot.mx/>. Consultado en Septiembre de 2017.
- Anónimo. 2017b. El mango, sus variedades, su transporte. <http://vmasseyors.blogspot.mx/2012/05/el-mango-sus-variedades-su-transporte.html>. Consulta en Enero de 2017.
- AOAC. 2012. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, Virginia. 416.
- Artés F. y Artés-Hernandez F. 2003. Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. 1–14. https://www.researchgate.net/publication/36720764_Danos_por_frio_en_la_postrecoleccion_de_frutas_y_hortalizas.
- Arreola-Cortés A., Castro-Mercado E., Lozoya-Gloria E. y García Pineda E. 2010. Aislamiento y caracterización de un ADNc que codifica para una superóxido dismutasa de frutos aguacate (*Persea americana* Mill. cv Hass) tratado por herida. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Ciencia Nicolaita No. Especial 1-8.
- Azofeifa A., 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados in vitro. *Agronomía Mesoamericana* 20(1):153–175.
- Bally I.S.E. 2006. *Mangifera indica* (mango). Species profiles for pacific island Agroforestry 3(1):1-25.
- Baloch M.K. y Bibi F. 2012. Effect of harvesting and storage conditions on the post harvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *South African Journal of Botany* 83:109–116.
- Baquero Duarte L., Castro Rivera J.A. y Narváez Cuenca C.E. 2005. Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasas en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*):

- maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana* 10(2):49-60.
- Barman K., Asrey R., Pal R.K., Jha S.K. y Sharma S. 2013. Influence of different desapping agents on the incidence of sapburn, ripening behaviour and quality of mango. *Journal of Food Science and Technology* 52(1):161–170.
- Barman, K. y Asrey R. 2014. Salicylic acid pre-treatment alleviates chilling injury, Preserves bioactive compounds and enhances shelf life of mango fruit during cold storage. *Journal of Scientific and Industrial Research* 73(11):713–718.
- Basabe Tuero B. 2000. Funciones de la vitamina c en el metabolismo del colágeno. *Revista Cubana Alimentaria en la Nutrición* 14(1):46–54.
- Beirão-da-Costa S., Stainer A., Correia L., Empis J. y Moldão-Martins M. 2006. Effects of maturity stage and mild heat treatments on quality of minimally processed kiwifruit. *Journal of Food Engineering* 76(4):616–625.
- Belhadj, F., Somrani, I., Aissaoui, N., Messaoud, C., Boussaid, M. y Marzouki, M.N. 2016. Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during ripening of *Prunus persica* L. varieties from the North West of Tunisia. *Food Chemistry* 204:29–36.
- Benavides-Mendoza A., Ramírez H. y Fuentes-lara L.O. 2009. Antioxidantes en las plantas: Algunos Factores Edáficos y Ambientales que los Modifican. *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*, A.C. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México 13-26.
- Bojórquez Gálvez A., Vega García M., Caro Corrales J., Carrillo López A. y López Valenzuela J. A. 2010. Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. *Journal of Food Biochemistry* 34(2):295–307.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. y Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28(1): 25–30.
- Bravo Clemente L. 2011. Fibra dietética y salud. compuestos bioactivos asociados a la fibra dietaria. Departamento de Metabolismo y Nutrición,

- Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC). 1-14.
- Brecht Jeffrey K. do Nascimento M.C. y Maul F. 2012. Time-temperature combinations that induce chilling injury of mangos. Tesis Doctoral. Universidad del Valle, Guatemala. 3-5.
- Campos P.S., Quartin V., Ramalho J.C. y Nunes M.A. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology* 160(3):283–292.
- Cantre D., Herremans E., Verboven P. y Nicolai B.M. 2013. Characterization of the 3-D cellular structure of mango (*Mangifera indica* L. cv. Carabao) during chilling injury development using X-ray computed microtomography. *InsideFood Symposium* 1-6.
- Carvajal F., Palma F., Jamilena M. y Garrido D. 2015. Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. *Postharvest Biology and Technology* 108:68–77.
- Chaplin G.R. y Scott K. 1980. Association of calcium in chilling injury susceptibility of storage avocados. *Hort Science* 15(4):514–515.
- Chaudhary P.R., Jayaprakasha G.K., Porat R. y Patil B.S. 2014. Low temperature conditioning reduces chilling injury while maintaining quality and certain bioactive compounds of “Star Ruby” grapefruit. *Food Chemistry* 153:243–9.
- Chen J.P., Tai C.Y. y Chen B.H. 2004. Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Chromatography A* 1054:261–268.
- Chepngeno J., Owino W.O., Kinyuru J. y Nenguwo N. 2016. Effect of calcium chloride and hydrocooling on postharvest quality of selected vegetables. *Journal of Food Research* 5(2):23–40.
- Choi B.G., Hapat R. y Kim Y. 2014. RNA interference of a heat shock protein, Hsp70, loses its protection role in indirect chilling injury to the beet

- armyworm, *Spodoptera exigua*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part A, Molecular Integrative Physiology 168:90–5.
- Chongchatuporn U., Ketsa S. y van Doorn W.G. 2013. Chilling injury in mango (*Mangifera indica*) fruit peel: Relationship with ascorbic acid concentrations and antioxidant enzyme activities. *Postharvest Biology and Technology* 86: 409–417.
- Crane J.H. y Campbell C. 1995. El mango en la Florida. University of florida IFAS Extension. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/HS/HS27600.pdf>.
- Christopoulos M.V. y Tsantili E. 2012. Storage of fresh walnuts (*Juglans regia* L.)-low temperature and phenolic compounds. *Postharvest Biology and Technology* 73:80-88.
- Cruz J. Soares C.A., Fabbri A.D.T., Cordenunsi B.R. y Sabato S.F. 2012. Effect of quarantine treatments on the carbohydrate and organic acid content of mangoes (cv. Tommy Atkins). *Radiation Physics and Chemistry* 81:1059-1063.
- Dang K.T.H., Singh Z. y Swinny E.E. 2008. Impact of postharvest disease control methods and cold storage on volatiles, color development and fruit quality in ripe “ Kensington Pride ” mangoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:10667–10674.
- Dangcham S., Bowen J., Ferguson I.B. y Ketsa S. 2008. Effect of temperature and low oxygen on pericarp hardening of mangosteen fruit stored at low temperature. *Postharvest Biology and Technology* 50(1):37–44.
- De la Torre-Binimelis R. 1994. Dererminación de la actividad de superóxido dismutasa en poblaciones humanas normales y patológicas. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia 4-12.
- Dea S., Brecht J.K., Nunes M.C.N. y Baldwin E.A. 2010. Occurrence of chilling injury in fresh-cut “Kent” mangoes. *Postharvest Biology and Technology* 57(1):61–71.
- Dea S., Brecht J.K., Nunes M.C.N. y Baldwin E.A. 2010a. Quality of fresh-cut

- “Kent” mango slices prepared from hot water or non-hot water-treated fruit. *Postharvest Biology and Technology* 56(2):171–180.
- Díaz A. 2003. La estructura de las catalasas, *Revista de educación bioquímica* 22(2):76–84.
- Ding Z.-S., Tian S.P., Zheng X.L. Zhou Z.W. y Xu Y. 2007. Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia Plantarum* 130:112–121.
- Djioua T., Charles F., Lopez-Lauri F., Filgueiras H., Coudret A., Murillo F.J. y Sallanon H. 2009. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. *Postharvest Biology and Technology* 52:221–226.
- Drago-Serrano M.E., López-López M. y Sainz Espuñes T.R. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37(004):58-68.
- Duan M., Feng H.L., Wang L.Y. Li, D. y Meng Q.W. 2012. Overexpression of thylakoidal ascorbate peroxidase shows enhanced resistance to chilling stress in tomato. *Journal of Plant Physiology* 169:867-877.
- Dürüst N., Sümengen D. y Dürüst Y. 1997. Ascorbic acid and element contents of foods of trabzon (Turkey). *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 45(96):2085–2087.
- El-hilali F., Ait-Oubshou A., Remah A. y Akhayat O. 2003. Chilling injury and peroxidase activity changes in “ fortune ” mandarin fruit during low temperature storage. *Bulgara Journal of Plantae Phydology* 29:44–54.
- Erkan M., Pekmezci M. y Wang, C.Y. 2005. Hot water and curing treatments reduce chilling injury and maintain post-harvest quality of “Valencia” oranges. *International Journal of Food Science and Technology* 40:91–96.
- FAOSTAT. 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>. Consulta 16.06.2017
- Feygenberg O., Keinan A., Kobilier I., Falik E., Pesis E., Lers A. y Prusky D.

2014. Improved management of mango fruit through orchard and packinghouse treatments to reduce lenticel discoloration and prevent decay. *Postharvest Biology and Technology* 91:128–133.
- Figueroa C.R., Opazo M.C., Vera P., Arriagada O., Díaz M., Moya-León M.A. 2012. Effect of postharvest treatment of calcium and auxin on cell wall composition and expression of cell wall-modifying genes in the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit. *Food Chemistry* 132(4):2014–2022.
- Fiskaa Hagen S., Borge G.I.A, Solhaug K.A. y Bengtsson G.B. 2009. Effect of cold storage and harvest date on bioactive compounds in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Postharvest Biology and Technology*, 51(1):36–42.
- Florissen P., Ekman J.S., Blumenthal C., McGlasson W.B., Conroy J. y 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(2):129–141.
- Fogelman E., Kaplan A., Tanami Z. y Ginzberg I. 2011. Antioxidative activity associated with chilling injury tolerance of muskmelon (*Cucumis melo* L.) rind. *Scientia Horticulturae* 128(3):267–273.
- Galvis J.A., Arjona H. y Fischer G. 2003. Sobre la vida de almacenamiento y la calidad del fruto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Van Dyke. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal Sistema de Información Científica* 21(3):190-197.
- Gao H., Chen G., Han L. y Lin H. 2004. Calcium influence on chilling resistance of grafting eggplant seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 27(8):1327-1339.
- Gao H., Zhang Z, Cheng N., Peng B. y Cao W. 2016. Effect of 24-epibrassinolide on chilling injury of peach fruit in relation to phenolic and proline metabolisms. *Postharvest Biology and Technology* 111:390–397.
- Gerasopoulos D. y Richardson D.G. 1997. Fruit Maturity and calcium affect chilling Requirements and Ripening of “d” Anjou’ Pears. *HortScience* 32(5):

911-913.

- Ghasemnezhad M., Marsh K., Shilton R., Babalar M. y Woolf A. 2008. Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in “satsuma” mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase. *Postharvest Biology and Technology* 48(3):364–371.
- Gil M.I., Aguayo E. y Kader A.A. 2006. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(12):4284–96.
- Glenn G. y Poovaiah B. 1990. Calcium-mediated postharvest changes in texture and cell wall structure and composition in ‘Golden Delicious’ apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115(6):962–968.
- Gonçalves Santos J., Fernandes F.A.N. de Siqueira Oliveira L., de Miranda M. R.A. 2015. Influence of Ultrasound on Fresh-Cut Mango Quality Through Evaluation of Enzymatic and Oxidative Metabolism. *Food and Bioprocess Technology* 8(7):1532–1542.
- González-Aguilar G.A., Fortiz J., Cruz R., Baez R. y Wang C.Y. 2000. Methyl Jasmonate Reduces Chilling Injury and Maintains Postharvest Quality of Mango Fruit. *Journal. Agricultural and Food Chemistry* 48:515-519.
- González-Aguilar G.A., Zavaleta-Gatica R. y Tiznado-Hernández M.E. 2007. Improving postharvest quality of mango “Haden” by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology* 45:108–116.
- González-Aguilar G.A., Celis J., Sotelo-Mundo R.R., De La Rosa L.A., Rodrigo-García J. y Alvarez-Parrilla E. 2008. Physiological and biochemical changes of different fresh-cut mango cultivars stored at 5 °C. *International Journal of Food Science and Technology* 43(1):91–101.
- González-Aguilar G.A., Villa-Rodríguez J.A., Ayala-Zavala J.F. y Yahia, E.M. 2010. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends in Food Science and Technology* 21:475–482.

- González C., Ré M.D., Sossi M.L., Valle E.M. y Boggio S.B. 2015. Tomato cv. "Micro-Tom" as a model system to study postharvest chilling tolerance. *Scientia Horticulturae* 184:63–69.
- Han J., Tian S.P., Meng X.H. y Ding Z.S. 2006. Response of physiologic metabolism and cell structures in mango fruit to exogenous methyl salicylate under low-temperature stress. *Physiologia Plantarum* 128(1):125–133.
- Hernández-Suárez M., Rodríguez-Rodríguez E.M. y Díaz-Romero C. 2008. Chemical composition of tomato (*Lycopersicum esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands. *Food Chemistry* 106:1046-1056.
- Hewajulige I., Wilson Wijeratnam R., Wijesundera R. y 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.
- Hichri I., Barrieu F., Bogs J., Kappel C., Delrot S., Lauvergeat V. 2011. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway. *Journal of Experimental Botany* 62(8):2465–2483.
- Hopkirk G., Harker F. y Harman J. 1990. Calcium and the firmness of kiwifruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 18:215–219.
- Huang R.H., Liu J.H., Lu Y.M. y Xia R.X. 2008. Effect of salicylic acid on the antioxidant system in the pulp of "Cara cara" navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) at different storage temperatures. *Postharvest Biology and Technology* 47(2):168–175.
- Imahori Y., Takemura M. y Bai J. 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology* 49(1):54–60.
- Jabbar A., Malik A.U., Islam-ud-din, Anwar R., Ayub M., Rajwana I. A. y Saeed M. 2011. Effect of combined application of fungicides and hot water quarantine treatment on postharvest diseases and quality of mango fruit. *Pakistan Journal of Botany* 43(1):65–73.

- Jacobi K.K., y Giles J.E. 1997. Quality of 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.) fruit following combined vapour heat disinfestation and hot water disease control treatments. *Postharvest Biology and Technology* 12:285-292.
- Jacobi K.K., MacRae E.A., Hetherington S.E. 2000. Effects of hot air conditioning of "Kensington" mango fruit on the response to hot water treatment. *Postharvest Biology and Technology* 21:39-49.
- Jiménez D.P., Taddei E.B., León A.G., García M. y Báez R. 2009. Efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la ultraestructura de la cutícula del fruto de mango. *Revista UDO Agrícola* 9(1):96-102.
- Jin P., Zheng Y., Tang S., Rui, H. y Wang C.Y. 2009. A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 52(1):24-29.
- Joas J., Vulcain E., Desvignes C., Morales E. y Léchaudel M. 2012. Physiological age at harvest regulates the variability in postharvest ripening, sensory and nutritional characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Cogshall due to growing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(6):1282-90.
- Joyce D.C., Shorter A.J. y Hockings P.D. 2001. Mango fruit calcium levels and the effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. *Scientia Horticulturae* 91(1-2):81-99.
- Junmatong J., Uthaibutra J., Boonyakiat D., Faiyue B. y Saengnil K. 2012. Reduction of Chilling Injury of 'Nam Dok Mai No. 4' Mango Fruit by Treatments with Salicylic Acid and Methyl Jasmonate. *Journal of Agricultural Science* 4(10):126-136.
- Junmatong C., Faiyue B., Rotarayanont S. y Uthaibutra J. 2015. Cold storage in salicylic acid increases enzymatic and non-enzymatic antioxidants of Nam Dok Mai No. 4 mango fruit. *ScienceAsia* 41:12-21.
- Kader A.A. 2008. Fresh-cut mangos as a value-added product (literature review

- and interviews). Postharvest Horticulture Consultant 1-29.
<http://ucanr.edu/datastoreFiles/608-653.pdf>.
- Kasai S., Arakawa O. 2010. Antioxidant levels in watercore tissue in “Fuji” apples during storage. *Postharvest Biology and Technology* 55(2):103–107.
- Kerdnaimongkol K., Bhatia A., Joly R.J. y Woodson W.R. 1997. Oxidative stress and diurnal variation in chilling sensitivity of tomato seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122:485-490.
- Ketsa S. 2000. Prestorage heat treatment and poststorage quality of mango fruit. *HortScience* 35(2):247–249.
- Khademi O., Besada C., Mostofi Y. 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.
- Khaliq G., Muda Mohamed M.T., Ali A., Ding P. y Mohd Ghazali H. 2015. 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.
- Khaliq G., Muda Mohamed M.T., Ghazali H.M., Ding P. y Ali A. 2016. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. *Postharvest Biology and Technology* 111:362–369.
- Kim Y., Lounds-singleton A.J. y Talcott S.T. 2009. Antioxidant phytochemical and quality changes associated with hot water immersion treatment of mangoes (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 115(3):989–993.
- Kim H., Yong J., Kim H., Lee D., Cho M., Choi H. y Kim S. 2010. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry* 121(2):429–436.
- Kondo S., Kittikorn M. y Kanlayanarat S. 2005. Preharvest antioxidant activities

- of tropical fruit and the effect of low temperature storage on antioxidants and jasmonates. *Postharvest Biology and Technology* 36:309–318.
- Kou X., Wu M., Li L., Wang S., Xue Z. y Liu B. 201). Effects of CaCl_2 dipping and pullulan coating on the development of brown spot on “Huang” pears during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 99:63–72.
- Lado J., Rodrigo M.J., López-Climent M., Gómez-Cadenas A. y Zacarás L. 2016. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology and Technology* 111:214–223.
- Lamikanra O. y Watson M.A. 2004. Effect of Calcium Treatment Temperature on Fresh-cut Cantaloupe Melon during Storage. *Food Chemistry and Toxicology* 69(6):468–473.
- Lara I., Miró R.M., Fuentes T., Sayez G., Graell J. y López M.L. 2003. Biosynthesis of volatile aroma compounds in pear fruit stored under long-term controlled-atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 29:29–39.
- Lara M.V., Borsani J., Budde C.O., Lauxmann M.A., Lombardo V.A., Murray R. y Drincovich M.F. 2009. Biochemical and proteomic analysis of “Dixiland” peach fruit (*Prunus persica*) upon heat treatment. *Journal of Experimental Botany* 60(15):4315–4333.
- Lay-Yee M., Ball S., Forbes S.K. y Woolf A.B. 1997. Hot-water treatment for insect disinfestation and reduction of chilling injury of “Fuyu” persimmon. *Postharvest Biology and Technology* 10(1):81–87.
- Léchaudel M., Félicie L.L., Vidal V., Sallanon H. y Joas J. 2013. Response of the physiological parameters of mango fruit (transpiration, water relations and antioxidant system) to its light and temperature environment. *Journal of Plant Physiology* 170:567–576.
- Lederman I.E., Zauberman G., Weksler A., Ilana R. y Fuchs Y. 1997. Ethylene-forming capacity during cold storage and chilling injury development in “Keitt” mango fruit. *Postharvest Biology and Technology* 10(96):107–112.

- Leyva-López N., Heredia J.B, Angulo C., Dolores M., Rangel M., Pedro J., Saucedo C. y Lizarraga I.G. 2011. Sales de calcio mejoran vida de anaquel y aceptabilidad general de papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol) fresca cortada. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 2(1):1–15.
- Li B., Zhang C., Cao B., Qin G., Wang W. y Tian S. 2012. Brassinolide enhances cold stress tolerance of fruit by regulating plasma membrane proteins and lipids. *Amino Acids*:43(6):2469–80.
- Lim T.K. 2012. *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants (Vol. 1), Fruits*. Editorial Springer.
- Liu H., Jiang W., Bi Y. y Luo Y. 2005. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. *Postharvest Biology and Technology* 35:263-269.
- Liu L., Duan L., Zhang J., Zhang Z., Mi G. y Ren H. 2010. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) over-expressing cold-induced transcriptome regulator ICE1 exhibits changed morphological characters and enhances chilling tolerance. *Scientia Horticulturae* 124:29-33.
- Liu Z. y Wang X. 2012. Changes in color, antioxidant, and free radical scavenging enzyme activity of mushrooms under high oxygen modified atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 69:1–6.
- Liu F., Wang Y., Li R., Bi X. y Liao X. 2013. Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. doi: 10.1016/j.ifset.2013.09.015
- Loay Arafat A.L. 2005. Chilling injury in mangoes. Capitule 3. Tesis Doctoral. Wageningen Universiteit, Nederland.
- Lopes M.M.A., Oliveira Silva E., Marques-Canuto K., Silva L.M.A., Gallao M.I., Urban L., Ayala-Zavala J.F., Miranda M.R.A. 2016. Low fluence pulsed light

- enhanced phytochemical content and antioxidant potential of 'Tommy Atkins' mango peel and pulp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 33:216-224.
- López A., Fernando C.A. Lazarova, Z., Bañuelos R., Sánchez S.H. 2012. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades 6(1):48-53.
- López-Angulo G., Montes-Avila J., Díaz-Camacho S.P., Vega-Aviña R., Ahumada-Santos Y.P. y Delgado-Vargas F. 2014. Chemical composition and antioxidant, α -glucosidase inhibitory and antibacterial activities of three *Echeveria* DC. species from Mexico. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.050>.
- Luna-Guzmán I., Cabtwell M. y Barrett D.M. 1999. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl₂ dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology* 17:201-213.
- Luna-Guzman I. y Barrett D.M. 2000. Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupe. *Postharvest in Biology and Technology* 19:61-72
- Luna Esquivel G., Arévalo Galarza M.L., Anaya Rosales S., Villegas Monter A. y Acosta Ramos M. 2006. Calidad de mango "Ataulfo" sometido a tratamiento hidrotérmico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29:123-128
- Luo F., Lv Q., Zhao Y., Hu G., Huang G., Zhang J. y Chen K. 2012. Quantification and Purification of Mangiferin from Chinese Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars and Its Protective Effect on Human Umbilical Vein Endothelial Cells under H₂O₂ -induced Stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13(9):11260–74.
- Ma G., Zhang L., Kato M., Yamawaki K., Asai T., Nishikawa F. y Kamisako T. 2012. Effect of electrostatic atomization on ascorbate metabolism in postharvest broccoli. *Postharvest Biology and Technology* 74:19–25.
- Ma Q., Suo J., Huber D.J., Dong X., Han Y., Zhang Z. y Rao J. 2014. Effect of hot water treatments on chilling injury and expression of a new C-repeat

- binding factor (CBF) in “Hongyang” kiwifruit during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology* 97:102–110.
- Machado Rocha Ribeiro S., de Queiroz J.H., Lopes Ribeiro de Queiroz M.E., Milagres Campos F. y Pinheiro Sant’ana H.M. 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition* 62:13–17.
- Madani B., Mohamed M.T.M., Watkins C.B., Kadir J., Awang Y. y Shojaei T.R. 2014. Preharvest calcium chloride sprays affect ripening of Eksotika Il’papaya fruits during cold storage. *Scientia Horticulturae* 171:6–13.
- Malacrida C., Valle E.M. y Boggio S.B. 2006. Postharvest chilling induces oxidative stress response in the dwarf tomato cultivar Micro-Tom. *Physiologia Plantarum* 127:10-18.
- Manganaris G.A., Vasilakakis M., Diamantidis G. y Mignani I. 2007. 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.
- Manthey J.A. y Penelope P. V. 2009. Influences of harvest date and location on the levels of β -carotene, ascorbic acid, total phenols, the in vitro antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(22):10825–10830.
- Mao L., Pang H., Wang G. y Zhu C. 2007. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress. *Postharvest Biology and Technology* 44(1):42–47.
- Martin-Diana A.B., Rico D., Frías J.M., Henehan G. y Mulcahy J. 2006. Effect of Calcium Lactate and Heat-Shock on Texture in Fresh-Cut Lettuce During Storage. *Journal of Food Engineering* 77:1069-1077.
- Martin-Diana A.B., Rico D., Frías J.M., Barat J.M., Henehan G.T.M. y Barry-Ryan C. 2007. Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables. *Trends in Food Science and*

Technology 18:210–218.

- Martínez-Flórez S., González-Gallego J., Culebras J.M. y Tuñón M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León España. XVII (6):273-278.
- McCollum T.G., Aquino S.D. y McDonald R.E. 1993. Heat Treatment Inhibits Mango Chilling Injury *HortScience* 28(3):197–198.
- Montalvo E., Adame Y., García H.S., Tovar B. y Mata M. 2009. Changes of sugars , b -carotene and firmness of refrigerated Ataulfo mangoes treated with exogenous ethylene. *Journal of Agricultural Science* 147:193–199.
- Montero-Prado P., Rodríguez-Lafuente A. y Nerin C. 2011. Active label-based packaging to extend the shelf-life of “ Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. *Postharvest Biology and Technology* 60(3): 211–219.
- Monzon M.E., Biasi B., Mitcham E.J., Hall S. y Hallman G.J. 2007. Effect of Radiofrequency Heating on the Quality of Ô Fuyu Õ Persimmon Fruit as a Treatment for Control of the Mexican Fruit Fly. *HortScience* 42(1):125–129.
- Moo-Huchin V.M., Estrada-Mota I., Estrada-León R., Cuevas-Glory L., Ortiz-Vázquez E., De Lourdes Vargas Y Vargas, M. y Sauri-Duch, E. 2014. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry* 152:508–515
- Nair S., Singh Z. y Tan S.C. 2003. Aroma volatiles emission in relation to chilling injury in “Kensington Pride” mango fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78(6):866–873.
- Ngamchuachit P., Barrett D.M. y Mitcham E.J. 2014. Effects of 1-methylcyclopropene and hot water quarantine treatment on quality of “Keitt” mangos. *Journal of Food Science* 79(4):C505-509.
- Nyanjage M.O., Wainwright H. y Bishop C.F.H. 1999. Effects of hot-water

- treatment and storage temperature on electrolyte leakage of mangoes (*Mangifera indica* Linn.). *Journal Horticultural Science Biotechnology* 74:566–572.
- Ochoa-Velasco C.E. y Guerrero-Beltrán J.Á. 2014. Postharvest quality of peeled prickly pear fruit treated with acetic acid and chitosan. *Postharvest Biology and Technology* 92:139–145.
- Ornelas-Paz J.D.J., Yahia E.M. y Gardea A.A. 2008. Changes in external and internal color during postharvest ripening of “ Manila ” and “ Ataulfo ” mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography – APcl + -time-of-flight mass spec. *Postharvest Biology and Technology* 50:145–152.
- Ornelas-Paz J.D.J. y Yahia E.M. 2014. Effect of the moisture content of forced hot air on the postharvest quality and bioactive compounds of mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Manila). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:1078–1083.
- Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J.A. y Deemer E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(11):3122–3128.
- Oz A.T. y Ulukanli Z. 2013. The effects of calcium chloride and 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the shelf life of mulberries (*Morus alba* L.). *Journal of Food Processing and Preservation* 38:1279-1279.
- Palafox-Carlos H., Yahia E., Islas-osuna M.A., Gutierrez-Martinez P. y Robles-Sánchez M. 2012. Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae* 135:7–13.
- Pesis E., Aharoni D., Aharon Z., Ben-Arie R., Aharoni N. y Fuchs Y. 2000. Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling

- injury symptoms in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology* 19:93–101.
- Petit-Jiménez D, Bringas-Taddei E. González-León A., García-Robles J.M, Báez-Sañudo R. 2009 Efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la ultraestructura de la cutícula del fruto de mango. *Rev. UDO Agricultura*. 9:96-102.
- Phakawatmongkol W., Ketsa S. y Van Doorn W.G. 2004. Variation in fruit chilling injury among mango cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 32:115–118.
- Piga A., Del Caro A., Pinna I. y Agabbio M. 2003. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. *Food Science and Technology* 36(2):257–262.
- Plotto A., Goodner K., Baldwin E., Bai J. y Rattanapanone N. 2004. Effect of polysaccharide coatings on quality of fresh cut mangoes (*Mangifera indica*). *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 117(117):382–388.
- Promyou S., Ketsa S., van Doorn W.G. 2008. Hot water treatments delay cold-induced banana peel blackening. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1):132–138.
- Qian C., Mi H., Zhao Y., He Z. y Mao L. 2013. Effect of Maturity Stage on the Gene Expression of Antioxidative Enzymes in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Fruits Under Chilling Stress. *Journal of Integrative Agriculture* 12(8):1495–1500.
- Ramayya N., Niranjan K. y Duncan E. 2012. Effects of modified atmosphere packaging on quality of “Alphonso” Mangoes. *Journal of Food Science and Technology* 49(6):721–8.
- Ramezani A., Rahemi M., Maftoun M., Bahman K., Eshghi S., Safizadeh M. R. y Tavallali V. 2010. The ameliorative effects of spermidine and calcium chloride on chilling injury in pomegranate fruits after long-term storage. *EDO Sciences* 65(3):169–178.

- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. y Rice-Evans C. 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9):1231–1237.
- Rico D., Martín-Diana A., Frías J.M., Barat J. y Henchan G. 2007. Improvement in Texture Using Calcium Lactate and Heat-Shock Treatments for Stored Ready -to- Eat Carrots. *Postharvest Biology and Technology* 45:97-107.
- Robles-Sánchez R.M., Islas-Osuna M.A, Astiazarán-García H. Vázquez-Ortiz F. A, Martín-Belloso O., Gorinstein S. y González-Aguilar G.A. 2009. Quality index, consumer acceptability, bioactive compounds, and antioxidant activity of fresh-cut “Ataulfo” mangoes (*Mangifera indica* L.) as affected by low-temperature storage. *Journal of Food Science* 74(3):S126-34.
- Robles-Sánchez M., Astiazarán-García H., Martín-Belloso O., Gorinstein S., Alvarez-Parrilla E., de la Rosa L.A., Yepiz-Plascencia G. y González-Aguilar G.A. 2011. Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults. *Food Research International Journal* 44:1386-1391.
- Robles-Sánchez R.M., Rojas-Graü M.A., Odrizola-Serrano I., González-Aguilar G. y Meartín-Belloso O. 2013. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *Food Science and Technology* 50:240-246.
- Rodríguez-Cedillo M., Guerrero-Berrios R. y Sandoval R. 2002. Cultivo de mango. Guía Técnica. CENTA. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria Forestal 1-33.
- Rojas-Graü M.A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. 2008. Effect of Natural Antibrowning Agents on Color and Related Enzymes in Fresh-Cut Fuji Apples as an Alternative to the Use of Ascorbic Acid. *Journal of Food Science* 73(6):S267–S272.

- Ruan J., Li M., Jin H., Sun L., Zhu Y., Xu M., Dong J. 2015. UV-B irradiation alleviates the deterioration of cold-stored mangoes by enhancing endogenous nitric oxide levels. *Food Chemistry* 169:417–423.
- Rudell D.R., Buchanan D.A., Leisso R.S., Whitaker B.D., Mattheis J.P., Zhu Y. y Varanasi V. 2011. Ripening, storage temperature, ethylene action, and oxidative stress alter apple peel phytosterol metabolism. *Phytochemistry* 72(11–12):1328–1340.
- Rui H., Cao S., Shang H., Jin P., Wang K. y Zheng Y. 2010. Effects of heat treatment on internal browning and membrane fatty acid in loquat fruit in response to chilling stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(9):1557–1561.
- Sabban-Amin R., Feygenberg O., Belausov E. y Pesis E. 2011. Low oxygen and 1-MCP pretreatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored “Granny Smith” apples. *Postharvest Biology and Technology* 62(3):295–304.
- Safizadeh M., Rahemi M. y Aminlari M. 2007. Effect of postharvest calcium and hot-water dip treatments on Catalase, Peroxidase and Superoxide Dismutase in Chilled Lisbon Lemon Fruit. *International Journal of Agriculture Research* 2(5):440–449.
- SAGARPA. 2017. Aumenta producción de mango mexicano 36 por ciento en tres años. http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_0001-1.aspx.
- SAGARPA-SIAP. 2017. http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/ consulta 16.06.2017.
- Saiprasad G.V.S., Anand L., Ravishankar K.V., Mythili J.B., Hagesh M., Joshi R. 2003. Isolation and characterization of mRNAs differentially expressed during ripening of mango fruits. *Indian Journal of Biotechnology* 3:533-537.

- Sala J.M., Sanchez-Ballesta M.T., Alfárez F., Mulas M., Zacarias L. y Lafuente M.T. 2005. A comparative study of the postharvest performance of an ABA-deficient mutant of oranges: II. Antioxidant enzymatic system and phenylalanine ammonia-lyase in non-chilling and chilling peel disorders of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology* 37(3):232–240.
- Salinas-Hernández R.M., Pirovani M.E., Gardea-Béjar A.A. y González Aguilar G.A. 2010. Cambios fisicoquímicos y sensoriales limitantes de la vida de anaquel de mango fresco cortado. *Revista Fitotecnología Mexicana* 33(3): 215-223.
- Saltveit M.E., Peiser G. y Rab A. 2004. Effect of acetaldehyde, arsenite, ethanol, and heat shock on protein synthesis and chilling sensitivity of cucumber radicles. *Physiologia Plantarum* 120(4):556–562.
- Sato Y., Murakami T., Funatsuki H., Matsuba S., Saruyama H., Tanida M. 2001. Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *Journal of Experimental Botany* 52(354):145–151.
- Sayyari M., Castillo S., Valero D., Díaz-Mula H.M. y Serrano M. 2011. Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology* 60(2):136–142.
- Sedigheh H.G., Mortazavian M., Norouzian D., Atyabi M., Akbarzadeh A., Hasanpoor K. y Ghorbani M. 2011. Oxidative stress and leaf senescence. *BMC Research Notes* 4(1):477.
- Sevillano L., Sanchez-Ballesta M.T., Felix Romojaro B y Flores F. 2008. 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.
- Shadmani N., Ahmad S.H., Saari N., Ding P., Tajidin N.E. 2015. Chilling injury incidence and antioxidant enzyme activities of *Carica papaya* L. “Frangi” as

- influenced by postharvest hot water treatment and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 114–119.
- Shafiee M., Taghavi T.S. y 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.
- Shao X. y Tu K. 2014. Hot air treatment improved the chilling resistance of loquat fruit under cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation* 38(2):694–703.
- Sharom M., Willemot C. y Thompson J.E. 1994. Chilling Injury Induces Lipid Phase Changes in Membranes of Tomato Fruit. *Plant Physiology* 105:305–308.
- Sheng L., Zhou X., Liu Z.Y., Wang J., Zhou Q., Wang L. y Ji S. 2016. Changed 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.
- Shirzadeh E., Rabiei V. y Sharafi Y. 2011. Effect of calcium chloride (CaCl_2) on postharvest quality of apple fruits. *African Journal of Agricultural Research*, 6(22), 5139–5143.
- Shivashankara K.S., Isobe S., Al-Haq M.I., Takenaka M. y Shiina T. 2004. Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:1281–6.
- Siddiq M., Sogi D.S., Dolan K.D. 2013. Antioxidant properties, total phenolics, and quality of fresh-cut “Tommy Atkins” mangoes as affected by different pre-treatments. *Food Science and Technology* 53(1):156–162.

- Silveira A.C., Aguayo E., Chisari M. y Artés F. 2011. Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut “Galia” melon. *Postharvest Biology and Technology* 62(1):77–84.
- Singh S.P. y Singh Z. 2012. Role of membrane lipid peroxidation , enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in the development of chilling injury in japanese plums. *Journal of American Society for Horticultural Science* 137(6):473–481.
- Sivankalyani V., Sela N., Feygenberg O., Zemach H. y Maurer D. 2016. Transcriptome dynamics in mango fruit peel reveals mechanisms of chilling stress, *Fontiers in Plant Science* 7:1–17.
- Sivakumar D., Jiang Y. y Yahia E.M. 2011. Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. *Food Research International*. 44: 1254-1263.
- Slaughter D.C. 2009. Evaluación de métodos no destructivos para la detección de la madurez en mangos: *Biological and Agricultural Engineering*. University of California, Davis, 1–19.
- Smirnoff N. y Wheeler G. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35(4): 291-314.
- Smith I.K., Vierheller T.L., Thorne C.A. 1988. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry* 175(2):408–413.
- Sogi D.S., Roidoung S. y Dolan K.D. 2012. total phenolics, carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant properties of fresh-cut mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkin) as affected by infrared heat treatment. *Journal of Food Science* 77(11):1197-1202.
- Soleimani Aghdam, M., Jannatizadeh A., Sheikh-Assadi M., Malekzadeh P. 2016. Alleviation of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by salicylic acid treatment. *Scientia Horticulturae* 202:70–76.

- Sothornvit R. y Rodsamran P. 2008. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes, *Postharvest Biology and Technology*. 47:407–415.
- Stevens R.G., Creissen G.P. y Mullineaux P.M. 1997. Cloning and characterisation of a cytosolic glutathione reductase cDNA from pea (*Pisum sativum* L.) and its expression in response to stress. *Plantae Molecular Biology* 35(5):641–654.
- Sumaya-Martínez M.T., Mónica L. y Herrera S. 2012. Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Quinta época año XVI*. 30:826–833.
- Sun H., Li L., Wang X., Wu S. y Wang X. 2011. Ascorbate–glutathione cycle of mitochondria in osmoprimed soybean cotyledons in response to imbibitional chilling injury. *Journal of Plant Physiology* 168(3):226–232.
- Supapvanich S., Arkajak R. y Yalai K. 2012. Maintenance of postharvest quality and bioactive compounds of fresh-cut sweet leaf bush (*Sauropus androgynus* L. Merr.) through hot CaCl₂ dips. *International Journal of Food Science and Technology* 47(12):2662–2670.
- Talcott S.T., Moore J.P., Lounds-Singleton A.J. y Percival S.S. 2005. Ripening associated phytochemical changes in mangos (*Mangifera indica*) following thermal quarantine and low-temperature storage. *Journal of Food Science* 70(5):337–341.
- Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L. y Hawkins Byrne D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19:6–7.
- Toivonen P.M.A y Brummell D.A. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 48(1):1–14.

- Tomás-Barberán F.A., Espín J.C. 2014. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of Science and Food Agricultural* 876:853–876.
- Torres Oquendo J. D. 2007. Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangifera indica* L.). TESIS Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España. 5-35.
- Ummerat N., Matsumoto T.K., Wall M.M. y Seraypheap K. 2011. Changes in antioxidants and fruit quality in hot water-treated “Hom Thong” banana fruit during storage. *Scientia Horticulturae* 130(4):801–807.
- USDA-APHIS. 2014 Plant protection and quarantine treatment manual, schedules T102-a. Available from: <http://manuals.cphst.org/TIndex/getSchedule.cfm?scheduleName=T102-a>. consultado: 18 de Mayo de 2014.
- Valencia M.E. y Robles-Sardin A.E. 2005. Capítulo 1. El valor nutrimental y protector de las frutas y verduras en la dieta humana. Nuevas tecnologías de conservación. Productos vegetales frescos cortados.
- Valls V., Valencia U. 2012. El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal. vitaminas y polifenoles. *Revista Nutrición*. 1–9. http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcionales/vegetales,vitaminas,polifenoles.pdf.
- Vázquez-Celestino D., Ramos-Sotelo H., Rivera-Pastrana D.M., Vázquez-Barrios M.E., Mercado-Silva E.M. 2016. Effects of waxing, microperforated polyethylene bag, 1-methylcyclopropene and nitric oxide on firmness and shrivel and weight loss of ‘Manila’ mango fruit during ripening. *Postharvest Biology and Technology* 111:398-405.
- Vega-García M.O., López-Espinoza G., Chávez-Ontiveros J., Caro-Corrales J. J., Delgado-Vargas F., López-Valenzuela J.A. 2010. Changes in protein

- expression associated with chilling injury in tomato fruit. *Journal American Society Horticultural Science* 135(1):83–89.
- Wall-Medrano A., Olivas-Aguirre F.J., Velderrain-Rodríguez G.R., González-Aguilar A., De la Rosa L.A, López-Díaz J.A., Álvarez-Parrilla E. 2015. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria* 31(1):67-75.
- Wang Chien Yi. 1995. Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. *Postharvest Biology and Technology* 5(1–2):67–76.
- Wang B., Wang J., Liang H., Yi J., Zhang J., Lin L. y Jiang W. 2008. Reduced chilling injury in mango fruit by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the antioxidant response. *Postharvest Biology and Technology* 48:172–181.
- Wang Q., Ding T., Gao L., Pang J., Yang N. 2012. Effect of brassinolide on chilling injury of green bell pepper in storage. *Scientia Horticulturae* 144:195–200.
- Wang Y., Luo Z., Du R., Liu Y., Ying T. y Mao L. 2013. Effect of nitric oxide on antioxidative response and proline metabolism in banana during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(37):8880–8887.
- Wang Y., Xie X. y Long L.E. 2014 The effect of postharvest calcium application in hydro-cooling water on tissue calcium content, biochemical changes, and quality attributes of sweet cherry fruit. *Food Chemistry* 160:22-30.
- Woolf A.B. y Lay-Yee M. 1997. Pretreatments at 38 °C of Hass avocado confer thermotolerance to 50°C hot water treatments. *HortScience* 32(4):705–708.
- Yahia E.M., 1998. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. *Horticultural* 22:123-183
- Yimyong S., Datsenka T.U., Handa A.K. y Seaypheap K. 2011. Hot Water Treatment Delays Ripening-associated Metabolic Shift in “ Okrong ” Mango Fruit during Storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136(6):441–451.

- Yu I.S., Bautista G.A., Sakharova I.V., Rojas A., Yu O.P. 1999. Peroxidasa de plantas tropicales. *Revista colombiana de química* 28(1):97-106.
- Zaharah S.S. y Singh Z. 2011. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored “Kensington Pride” mango. *Postharvest Biology and Technology* 60:202–210.
- Zhang Z., Nakano K. y Maezawa S. 2009. Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures. *Postharvest Biology and Technology* 54(2):101–105.
- Zhang Z., Zhang Y., Huber D.J., Rao J., Sun Y. y Li S. 2010. Changes in Prooxidant and Antioxidant Enzymes and Reduction of Chilling Injury Symptoms during Low-temperature Storage of ‘Fuyu’ Persimmon Treated with 1-Methylcyclopropene. *HortScience* 45(11)1713-1718.
- Zhang Z., Huber J.D. Rao J. 2013. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 76:58-64.
- Zhao Z., Jiang W., Cao J., Zhao Y. y Gu Y. 2006. Effect of cold-shock treatment on chilling injury in mango (*Mangifera indica* L. cv. “Wacheng”) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86:2458–2462.
- Zhao Z., Cao J., Jiang W., Gu Y. y Zhao Y. 2008. Maturity-related chilling tolerance in mango fruit and the antioxidant capacity involved. *Journal Science of Food Agricultural* 89:304–309
- Zheng X., Tian S., Gidley M.J., Yue H. y Li B. 2007. Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at room temperature. *Postharvest Biology and Technology* 45(2):281–284.
- Zheng Y., Fung R.W.M., Wang S.Y. y Wang C.Y. 2008. Transcript levels of antioxidative genes and oxygen radical scavenging enzyme activities in

chilled zucchini squash in response to superatmospheric oxygen. *Postharvest Biology and Technology* 47(2):151–158.

Zheng X., Ye L., Jiang T., Jing G., Li J. 2012. Limiting the deterioration of mango fruit during storage at room temperature by oxalate treatment. *Food Chemistry* 130:279-285.

Zhu S., Ji Z., Lu W. y Zhang Z. 2003. The link between heat-induced polypeptides and chilling tolerance in mangoes (*Mangifera indica* L.), with evidence from the same fruit partially heated. *Journal of Horticultural Science Biotechnology* 78:523-527.

XI. ABREVIATURAS

µg	Microgramos
µL	Microlitros
µmol	Micromol
1-MCP	1-Metilciclopropano
$^1\text{O}_2^-$	Oxígeno singulete
AA	Ácido ascórbico
ABS	Absorbancia
ABTS	2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid
ACC	Aminociclopropano carboxilato
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
AOAC	Oficial methods of analysis
APPH	2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride
APX	Ascorbato peroxidasa
AT	Acidez titulable
BHT	Butilhidroxitolueno
BSA	Suero de albumina bobina
Ca^{+2}	Ion calcio
CaCl_2	Cloruro de calcio
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	Hidroxido de calcio
CAT	Catalasa
CFT	Compuestos fenólicos totales
CitCa	Citrato de calcio
CO_2	Dióxido de Carbono
CoA	Coenzima A
col.	Colaboradores
Cu/Zn	Cobre/zinc
Cu^{+2}	Cobre oxidado
cv	Cultivar

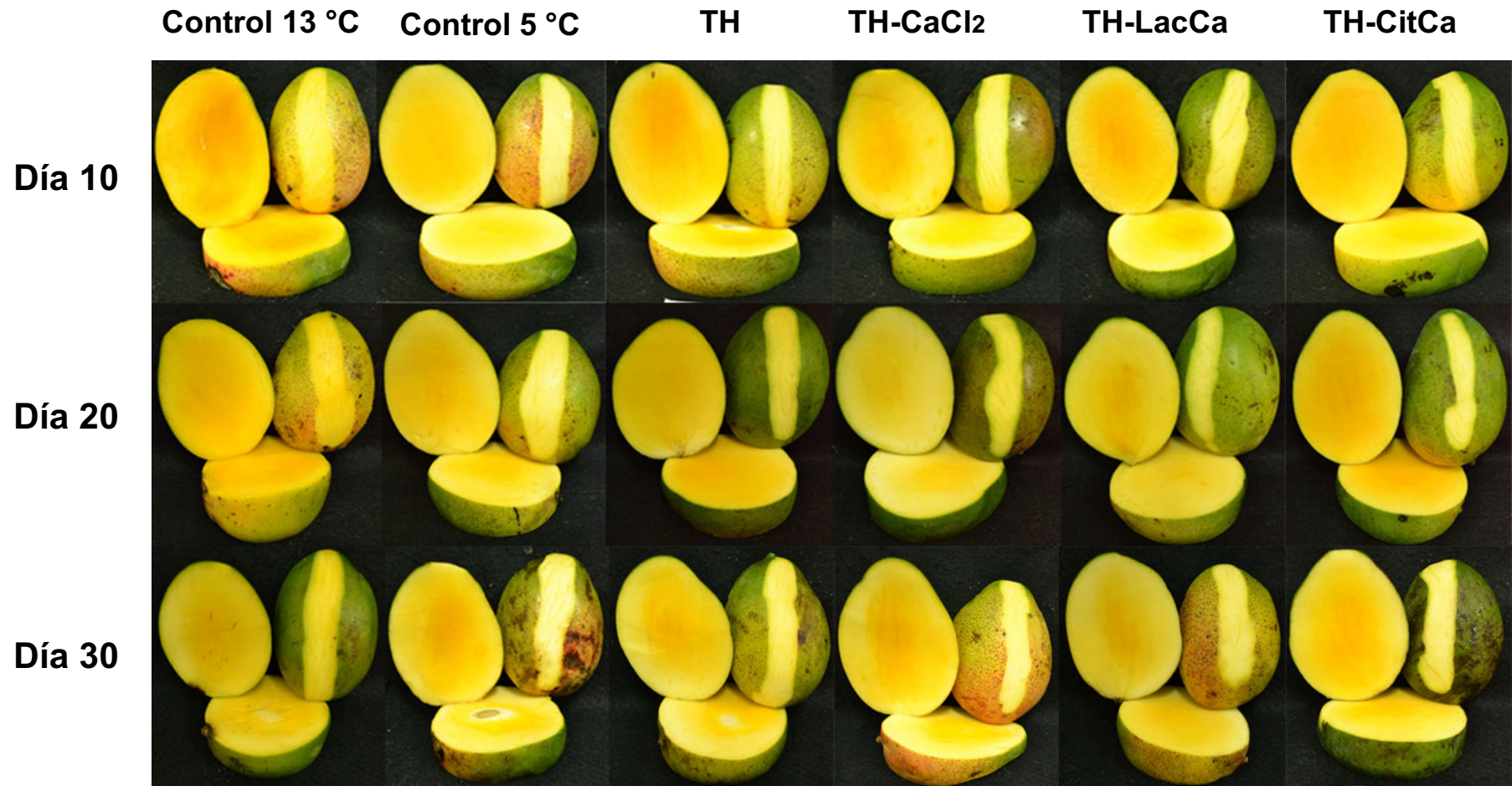
<i>cyt</i>	Citocromo
DCPI	2, 6-dichlorophenolindophenol disodium salt
DF	Daño por frío
DHAR	Dehidroascorbato reductasa
DPPH	2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl
DTT	Ditiotreitol
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EL	Electrolitos lixiviados
EM	Extracto metanólico
EQ	Equivalentes de quercitina
ERO's	Especies reactivas de oxígeno
ET	Equivalentes de trolox
FAL	Fenilalanina Amonio Liasa
FAO	Food and Agriculture Organization
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Fe	Hierro
Fe ⁺²	Hierro oxidado
Fig.	Figura
g	Gramos
<i>g</i>	Gravedad
g.P.F	Gramos de peso fresco
g.P.S	Gramos de peso seco
GPX	Glutation peroxidasa
GR	Glutation reductasa
GSH	Glutation
GSSG	Glutation oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
ha	Hectarias
HSPs	Proteínas de choque térmico
Hue	Matiz
IDF	Índice de daño por frío

K ⁺	Ion potasio
Kcal	Kilocalorías
kDa	Kilodaltones
KOH	Hidróxido de potasio
L*	Luminosidad
LacCa	Lactato de calcio
LeARG1	y Gen de arginasa
LeARG2	
LOX	Lipoxigenasa
LSD	Menor diferencia significativa
m	Metro
M	Molar
MDA	Malondialdehido
MDHAR	Monodehidroascorbato reductasa
mg	Miligramos
MJ	Metil jasmonato
mM	Milimolar
mm	Milímetros
MMP	Mínimamente procesado
Mn	Manganeso
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
N	Newton
N ₂ (l)	Nitrógeno
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NBT	Nitro blue tetrazolium chloride
ND	Nivel de daño
nm	Nanomol
nmol	Nanomol
O ₂	Oxígeno
O ₂ ⁻	Radical superóxido
OH ⁻	Ion hidroxilo
ORAC	Oxygen Radicals Absorbance Capacity

<i>P</i>	Nivel de probabilidad
<i>PG</i>	Poligalacturonasa
<i>p/v</i>	Peso/volumen
PDJ	n-propyl dihidrojasmonato
pH	Potencial hidrógeno
PLD	Fosfolipasa D
PME	Pectin Metil Esterasa
POD	Peroxidasa
PP	Pérdida de peso
ppm	Partes por millón
PPO	Polifenol oxidasa
PVP	Polivinilpirrolidona
PVPP	Polivinil polipirrolidona
<i>r</i>	Coefficiente de correlación de Pearson
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SOD	Superoxido dismutasa
Spp.	Especie
SST	Sólidos solubles totales
TAL	Tirosina amonio liasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TH	Tratamiento Hidrotérmico
TH-Ca	Tratamiento hidrotérmico-Lactato de calcio
ton	Toneladas
U	Unidad
USA	Estados Unidos
USDA-APHIS	United States Department of Agriculture- Animal and Plant Health Inspection Service
<i>v/v</i>	Volumen/volumen
ρ	Para
ω	Omega

ANEXOS

Anexo 1. SEGUNDA ETAPA: Imagenes de pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C.



Anexo 2. SEGUNDA ETAPA: Imagenes de pulpa de mango durante el almacenamiento a 5 °C más 7 días a 21 °C.

