

Análisis densitométrico de las isoformas de DGAT y PDAT y su correlación con materia seca, aceite y triacilglicerol durante la madurez poscosecha en el aguacate (*Persea americana* Mill var. Hass).

Julia Vieyra
Zárate

2026



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Análisis densitométrico de las isoformas de DGAT y PDAT y su correlación con materia seca, aceite y triacilglicerol durante la madurez poscosecha en el aguacate (*Persea americana* Mill var. Hass).

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta

Julia Vieyra Zárate

Dirigido por:

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Querétaro, Qro. a 20 de febrero de 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Análisis densitométrico de las isoformas de DGAT y PDAT y su correlación con materia seca, aceite y triacilglicerolos durante la madurez poscosecha en el aguacate (*Persea americana* Mill var. Hass).

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta

Julia Vieyra Zárate

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Directora

Dr. Elhadi M. Yahia Kazuz

Secretario

Dra. María del Carmen Mejía Vázquez

Sinodal

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola

Sinodal

Dra. Mónica Leticia Martínez Pacheco

Vocal

Esta tesis fue realizada bajo la supervisión de la Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, campus Juriquilla, Querétaro, durante el periodo 2020-2022.

Para la realización de este trabajo se contó con apoyo de beca CONACYT (No. De registro 1078729) y FOPER (FCN02305).

Agradecimientos

A los integrantes de mi comité sinodal por sus comentarios al escrito de tesis y orientación académica.

Por el espacio y apoyo del laboratorio de Biología celular y molecular de la Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, campus Juriquilla, Querétaro, durante el periodo 2020-2022.

Por el espacio y apoyo del laboratorio de Nutrición Humana gracias a la Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola. Por el apoyo técnico de la Dra. Mariela Camacho por su paciencia y enseñanza en todo momento. Por el espacio y apoyo del laboratorio de Fitoquímicos y Nutrición gracias al apoyo del Dr. Elhadi M. Yahia Kazuz.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín, ubicada en Temascaltepec, Estado de México por la donación de los frutos de aguacate que sirvieron para su análisis en la presente investigación.

A Diego Alejandro Solís Hernández por ayudarme con los experimentos y aprender junto conmigo las técnicas de laboratorio.

Perla Viridiana Ocampo Anguiano (Viri) por aconsejarme, ayudarme, enseñarme, apoyarme y motivarme en todo momento, trabajar a tu lado ha sido un aprendizaje constante.

Adriana Araceli Becerril Campos por ayudarme académicamente y permitirme aprender mediante los experimentos de tu tesis, trabajar a tu lado fue una enseñanza constante.

Rolando Mendoza Zúñiga por su apoyo, enseñanza y motivación siempre.

Francisco Josué López Martínez por su apoyo incondicional, alegría y motivación siempre.

Esta tesis está dedicada a:

Mi esposo por ser mi apoyo incondicional, mi fuerza y motivación de cada día. Te amo.

A mi hijo por llenarme de sonrisas cada día y enseñarme la pureza del amor y llenarme de fortaleza. Te amo hijo.

A mis padres por su gran amor, comprensión, soporte, paciencia, consejos y motivación como hija y como mamá de su nieto. Les amo.

A mi hermano por estar siempre presente cuando lo he necesitado y ahora hacerse cargo de mi hijo mientras trabajo. Te amo manito.

A mis suegros por su respaldo, apoyo, ánimo y consejo en todo momento. Los quiero mucho.

A mi directora la Doctora Marisela Ahumada por su enorme paciencia, eterno respaldo y gran apoyo durante todo el proceso de la maestría. Millones de gracias doctora Mari. La admiro y la quiero mucho.

A mi psicóloga por ayudarme a estabilizarme emocional y mentalmente, lo cual me llenó de paz y tranquilidad, sirviendo como parte fundamental para titularme. Muchas gracias doctora.

A mis compañeros del trabajo por preocuparse por mi desarrollo personal, académico y laboral.

A mis compañeros de almacén por preocuparse por mi durante mi embarazo y apoyarme en el proceso de titulación.

A mis compañeros de investigación por su compañía y momentos compartidos. Gracias.

Índice

Resumen	7
Abstract	9
Abreviaturas	10
I. Introducción	12
II. Antecedentes	13
2.1. Importancia histórico-social y económica del aguacate en México y el mundo.....	13
2.2. Características generales del aguacate	13
2.3. Maduración del fruto del aguacate.....	14
2.3.1. Índices de madurez poscosecha del fruto del aguacate.....	15
2.4. Valor nutrimental del mesocarpio en el aguacate.	17
El mesocarpio del aguacate también contiene una diversa gama de metabolitos secundarios, incluyendo fitoesteroles, carotenoides, alcaloides, ácidos fenólicos, flavonoides y tocoferoles (Robayo, A. T. 2016; Ezzedine, K., 2018).....	18
2.5. Lípidos en el mesocarpio poscosecha.	18
2.6. Biosíntesis de TAG.....	18
2.7. Enzima DGAT, E.C 2.3.1.20.	20
2.7.1. Características generales.....	20
2.7.2. PDAT, EC 2.3.1.158.....	21
2.8. Sinergia de enzimas DGAT y PDAT.....	23
3. Justificación	25
4. Hipótesis	25
5. Objetivos	26
5.1. Objetivo general.....	26
5.2. Objetivos específicos.	26
6. Material y métodos	26
6.1. Consideraciones bioéticas.....	26
6.2. Obtención de mesocarpio.....	27
6.3. Contenido de materia seca.	27
6.4. Extracción de proteínas.....	27
6.5. Concentración de proteínas.....	28
6.6 Extracción de RNA.....	28
6.6. Expresión de los genes de las enzimas: DGAT y PDAT.....	30
6.7. Electroforesis SDS-PAGE.....	30

6.8.	Evaluación semicuantitativa por Western Blot.	31
6.9.	Contenido de aceite.	31
6.10.	Contenido de TAG.	32
7.	Resultados y discusión	33
7.1.	Determinación de maduración del mesocarpio del aguacate, mediante el porcentaje de materia seca.	33
7.2.	Porcentaje de aceite y cuantificación de TAG en el mesocarpio de aguacate.	36
7.2.1.	Correlación aceite y TAG.	39
7.3.	Expresión de las enzimas DGAT y PDAT.	40
7.3.1.	Extracción de ARN.	40
7.3.2.	PCR de las enzimas DGAT y PDAT.	41
7.4.	Análisis bioinformático de las aciltransferasas DGAT y PDAT para <i>Persea americana</i> Mill var. Hass.	44
7.5.	Proteínas totales en homogenados de aguacate poscosecha.	48
7.6.	Proteínas solubles en el homogenado de aguacate poscosecha por electroforesis SDS-PAGE. 51	
7.7.	Inmunoidentificación de enzimas aciltransferasas.	52
7.8.	Correlaciones de isoformas DGAT y PDAT con porcentaje de aceite y contenido de TAG. 61	
7.8.1.	Isoformas de DGAT.	61
7.8.2.	Isoformas de PDAT.	62
8.	Conclusiones	65
8.2.	Comportamiento y rol de las isoformas PDAT.	65
9.	Referencias	67

Índice de tablas

Tabla 1. Macronutrientes en el mesocarpio de aguacate.....	17
Tabla 2. Oligonucleótidos para enzimas aciltransferasas en <i>Arabidopsis thaliana</i> Li, R., (2010).	29
Tabla 3. Concentración y pureza de ARN total en mesocarpio de aguacates Hass poscosecha.....	41
Tabla 4. Contenido de proteínas en mesocarpio de aguacates poscosecha.....	50

Índice de gráficas

Gráfica 1. Aumento de porcentaje de materia seca en el mesocarpio de aguacates durante las etapas poscosecha.....	33
Gráfica 2. Contenido de materia seca en etapas: cosecha, consumo y senescencia en mesocarpio de aguacate poscosecha	34
Gráfica 3. Cuantificación de porcentaje de materia seca en aguacates representativos de la madurez poscosecha.....	35
Gráfica 4. Porcentaje de aceite por método de Soxhlet	36
Gráfica 5. Relación entre los porcentajes de aceite y materia seca durante la madurez poscosecha.....	37
Gráfica 6. Porcentaje de triacilgliceroles en relación al porcentaje de materia seca	39
Gráfica 7. Relación entre los porcentajes de TAG y aceite del mesocarpio de aguacates poscosecha.....	40
Gráfica 8. Curva estándar BSA por el método de micro Bradford	49
Gráfica 9. Presencia de isoforma DGAT1 y densitometría de la DGAT1/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca.....	53
Gráfica 10. Presencia y densitometría de isoforma DGAT2 en maduración poscosecha....	55
Gráfica 11. Presencia de isoforma PDAT1 y densitometría de la relación de PDAT1/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca.	57
Gráfica 12. Presencia de isoforma PDAT2 y densitometría de PDAT2/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca.....	58
Gráfica 13. Presencia de isoforma PDAT3 y densitometría de la PDAT3/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca.....	60

Resumen

El aguacate (*Persea americana* Mill) es una fruta conocida por su capacidad de almacenar ácidos grasos en forma de triacilglicerol (TAG). La biosíntesis de TAG ocurre durante la maduración fisiológica, involucrando la vía Kennedy y enzimas como DGAT (acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa) y PDAT (fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa), sin embargo, se desconoce si estas enzimas presentan cambios diferenciales asociados al contenido de aceite o materia seca en el aguacate durante la madurez poscosecha. Evaluamos la pulpa (mesocarpio) en tres etapas poscosecha: cosecha, consumo y senescencia, además, se analizó por densitometría la presencia de las isoformas de las enzimas DGAT y PDAT. Encontramos un cambio significativo y previamente no examinado en el contenido de TAG (52.58 ± 0.18 - 74.95 ± 2.88 %), mientras que la concentración de proteína fue de 27.64 ± 1.2 - 67.94 ± 1.2 mg/g de materia seca (MS). Los análisis mostraron una correlación positiva alta ($R^2=0.72$) entre la materia seca y el contenido de aceite, marcadores ampliamente reportados. Mediante Western blot, se identificaron las isoformas de DGAT1 (~50 kDa), DGAT2 (~37 kDa), PDAT1 (~140 kDa), PDAT2 (~76 kDa) y PDAT3 (~63 kDa). Los resultados de la densitometría mostraron una distribución diferencial de estas isoformas en la madurez poscosecha: en la etapa de cosecha, hubo una mayor expresión de DGAT1, DGAT2, PDAT1 y PDAT2, indicando que, al momento del corte, el fruto está en su máximo vigor metabólico por una producción masiva de TAG tanto por síntesis directa (DGAT) como por transferencia de lípidos de membrana (PDAT). En la etapa de consumo de la fruta la isoforma PDAT3 se encontró abundante sugiriendo remodelación de la composición de los ácidos grasos para darle la textura y estabilidad final al fruto. En senescencia, todas las isoformas de ambas enzimas (PDAT y DGAT) disminuyeron, probablemente asociado a que la maquinaria enzimática se degrada en esta etapa. PDAT1 presentó una correlación positiva alta con aceite ($R^2=0.74$) y con TAG ($R^2=0.81$), indicando que en etapa poscosecha en aguacate, el flujo de carbono a través de los fosfolípidos es vital para el rendimiento final de lípidos; PDAT3 y DGAT2 presentaron una correlación negativa alta con aceite ($R^2= -0.94$ y -0.90 , respectivamente) y con TAG ($R^2=-0.74$ y -0.69 , respectivamente), lo que puede sugerir que su actividad es mas de regulación no propiamente la síntesis de lípidos; PDAT2 y DGAT1

presentaron correlaciones negativas bajas con aceite ($R^2 = -0.14$ y 0.07 , respectivamente) y con TAG ($R^2 = -0.36$ y -0.15 respectivamente), aunque están presentes, no son las que determinan la cantidad final de aceite. Este estudio es pionero en la inmunoidentificación directa y el análisis por densitometría de las isoformas de PDAT y DGAT en tejido de aguacate durante la maduración poscosecha. Los resultados fortalecen la comprensión bioquímica y fisiológica de la participación de estas enzimas con los contenidos de materia seca y aceite, así como la biosíntesis de TAG en aguacate poscosecha.

Palabras clave: aguacate, mesocarpio, aciltransferasas, PDAT, DGAT.

Abstract

The avocado (*Persea americana* Mill) is a fruit recognized for its capacity to store fatty acids in triacylglycerols (TAG) forms. TAG biosynthesis occurs during physiological ripening, involving the Kennedy pathway and key enzymes such as DGAT (Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase) and PDAT (phospholipid: diacylglycerol acyltransferase). However, it is unknown if in the avocado oil or dry matter (DM), PDAT and DGAT presence changes during postharvest ripening. In this research, the avocado mesocarp was evaluated at three stages: harvest, consumption, and senescence. In addition, the presence of DGAT and PDAT enzyme isoforms was analyzed by densitometry. We found a significant and previously unexamined change in the TAG content (52.58 ± 0.18 % to 74.95 ± 2.88 %), while the protein concentration was from 27.64 ± 1.2 to 67.94 ± 1.2 mg g⁻¹ DM. A high positive correlation ($R^2 = 0.72$) was observed between dry matter and oil content. By Western blot the isoforms of DGAT1 (~50 kDa), DGAT2 (~37 kDa), PDAT1 (~140 kDa), PDAT2 (~76 kDa), and PDAT3 (~63 kDa) were identified. Densitometric results revealed a differential distribution of these isoforms during postharvest ripening: 1) at harvest, there was a greater (higher) expression of the DGAT1, DGAT2, PDAT1 and PDAT2 isoforms. 2) In consumption, PDAT3 was found to be abundant and 3) in the senescence, all isoforms of both enzymes (PDAT and DGAT) decreased in abundance. PDAT1 showed a high positive correlation with oil content ($R^2 = 0.74$) and TAG ($R^2 = 0.81$); In contrast PDAT3 and DGAT2 showed a high negative correlation with oil ($R^2 = -0.94$ and -0.90 , respectively) and with TAG ($R^2 = -0.74$

and -0.69, respectively); PDAT2 and DGAT1 showed low negative correlations with oil ($R^2 = -0.14$ and 0.07 , respectively) and with TAG ($R^2 = -0.36$ and -0.15 , respectively). This study is pioneering in the direct immunological identification and densitometric analysis of PDAT and DGAT isoforms in avocado tissue during postharvest ripening. The results strengthen the biochemical and physiological understanding of the involvement of these enzymes (DGAT and PDAT) in dry matter and oil content, as well as in TAG biosynthesis.

Keywords: avocado, mesocarp, acyltransferases, PDAT, DGAT.

Abreviaturas

var Variedad	ACCase Enzima acetil-CoA carboxilasa
TAG Triacilglicerol	FAS Sintasa de ácidos grasos
DAG Diacilglicerol	G3P Glicerol-3-fosfato
PDAT Fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa	LPA ácido lisofosfatídico
PDAT1 Isoforma uno de fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa	LPAT ácido lisofosfatídico aciltransferasa
PDAT2 Isoforma dos de fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa	PA ácido fosfatídico
PDAT3 Isoforma tres de fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa	PC fosfatidilcolina
DGAT acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa	LPC lisofosfatidilcolina
DGAT1 Isoforma uno de acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa	FAD2 Isoforma dos de delta-12 desaturasa
DGAT2 Isoforma dos de acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa	FAD3 Isoforma tres de delta-12 desaturasa
g Gramos	PUFAs Ácidos grasos poliinsaturados
cm Centímetros	kDa Kilodalton
EC Número de la Comisión de enzimas	H1246 Levadura cuádruple knock-out
	BSA Albúmina sérica bovina
	RE Retículo endoplásmico
	pH Potencial de hidrógeno
	FAs Acidos grasos inusuales

° C Grados Celsius	RNA Ácido ribonucleico
s Segundos	PCR Reacción en cadena de polimerasa
L Litros	SDS-PAGE Electroforesis en geles de poliacrilamida con reactivo dodecilsulfato sódico
mM Milimolar	mA miliamperios
NaCl Cloruro de sodio	h Hora
EDTA Acido etilendiaminotetraacético	V Voltio
RIPA Buffer de radioinmunoprecipitación	TBS Amortiguador salino de Tris
NaF Fluoruro de sodio	TTBS Amortiguador salino de Tris con Tween
PMSF Fluoruro de fenilmetilsulfonilo	mg Miligramos
NP40 Buffer de lisis celular	dL Decilitros
HCl Ácido clorhídrico	DE Desviación estándar
min Minutos	r Coeficiente de correlación
ml Mililitros	xg Gravedades
nm Nanómetro	MS Materia seca
µl Microlitro	DM Dry matter
ADNc Ácido desoxirribonucleico complementario	
pb Pares de bases	

I. Introducción.

El aguacate (*Persea Americana Mill*), es un fruto climatérico que a diferencia de otros frutos acumula grandes cantidades de ácidos grasos a lo largo de su crecimiento y madurez, principalmente, ácido oleico (Pedreschi, R., *et al.*, 2019).

La precisión en la determinación del momento óptimo de cosecha del fruto del árbol se basa en la evaluación de varios indicadores clave. Estos incluyen un rango de materia seca del 19-25 %, porcentaje que indica una reducción significativa del agua en el mesocarpio. Asimismo, es fundamental monitorear el incremento del porcentaje de aceite, que debe alcanzar entre el 9 % y el 18 %, representando una acumulación del 60-70 % del peso seco del fruto. Adicionalmente, se consideran signos externos como la degradación de la clorofila en el exocarpio (cáscara) y el ablandamiento enzimático del mesocarpio (Pedreschi, R., *et al.*, 2019; Salameh, M., *et al.*, 2022; Rodríguez, P., *et al.*, 2023).

Al comenzar la etapa poscosecha en el fruto, los ácidos grasos presentes en el mesocarpio del aguacate se encuentran almacenados en forma de triacilglicerol (TAG) en los idioblastos (Barrientos. A. F., García, E. & Avitia, E. 1996). La biosíntesis de los ácidos grasos está regulada por la participación de la acil-CoA, un compuesto derivado de la descarboxilación del piruvato durante la glucólisis. Este proceso se inicia en los cloroplastos, donde se genera un pool de acil-CoA que, una vez en el citoplasma da lugar a la ruta Kennedy. Esta vía consiste en la acilación secuencial del glicerol-3-fosfato, que culmina en la formación final catalizada por la enzima diacilglicerol aciltransferasa. Este proceso ocurre por medio de dos alternativas: una dependiente de acil-CoA donde actúa la enzima acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) y otra independiente catalizada por la enzima fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa (PDAT). Ambas aciltransferasas desempeñan un papel clave al catalizar la conversión del diacilglicerol (DAG) en triacilglicerol (TAG) mediante la adición de un grupo acilo (Chi, E. Y., *et al.*, 2008; Zhang, M., *et al.*, 2009; Cagliari, A., *et al.*, 2011). A la fecha, no se ha identificado la presencia ni caracterizado la dinámica funcional de las enzimas diacilglicerol aciltransferasas (PDAT y DGAT) durante la madurez poscosecha del aguacate. Este vacío en el conocimiento resulta crítico, dado que la maduración del fruto conlleva una acumulación progresiva de ácidos grasos que,

teóricamente, demanda una síntesis intensificada de TAG para su almacenamiento o una remodelación lipídica orientada a la calidad de consumo. Por lo tanto, determinar la presencia proteica y el comportamiento de estas isoformas es fundamental para esclarecer su vínculo con la materia seca, el índice de aceite y la concentración de TAG en el mesocarpio poscosecha.

II. Antecedentes.

2.1. Importancia histórico-social y económica del aguacate en México y el mundo.

El aguacate (*Persea americana*) se originó en las montañas de México y Guatemala, desde donde se dispersó por el centro y sur de América. Su posterior comercialización impulsó el desarrollo de variedades mejoradas, como la Hass, que nació en Hebra Heights, California, gracias a Rudolph Hass. Actualmente, es la variedad Hass, la principal cultivada y producida a nivel mundial (Yahia, E.M. & Woolf, A. 2011; Zapata, E. 2014). México es el principal productor mundial de aguacate, destacando la producción fundamental en entidades como Michoacán, Jalisco, Estado de México, Nayarit y Morelos (SIAP. 2025).

2.2. Características generales del aguacate

El aguacate es una planta cotiledónea de la familia *Lauraceae*, fue clasificado como *Persea gratissima* por Gaertner y *Persea americana* por Miller (Robayo, T.A. 2016). El fruto es una baya de 5-15 cm oval, de superficie lisa o rugosa y un peso de entre 120-500 g. Está constituido por exocarpio (cáscara), mesocarpio (pulpa) y endocarpio (semilla) como se muestra la Figura 1 (Pérez, S., *et al.*, 2015; Robayo, A. T. 2016).

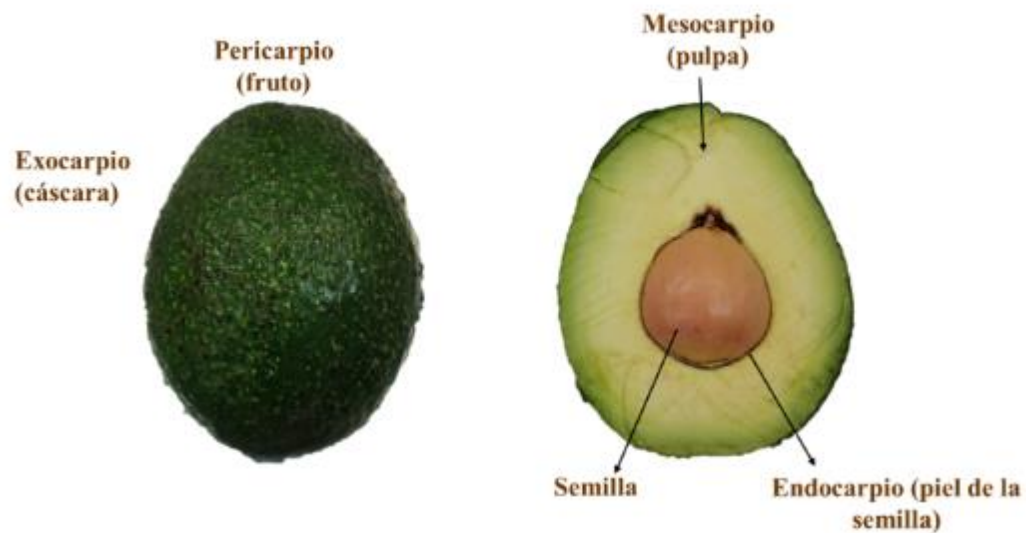


Figura 1. Esquema del fruto de aguacate y su anatomía. Modificado de Barrientos. A. F., García, E. & Avitia, E. 1996 y Neves, B., *et al.*, 2024.

El mesocarpio, o pulpa del fruto del aguacate, constituye aproximadamente dos tercios del peso total de la fruta.

2.3. Maduración del fruto del aguacate.

Previo a la maduración del fruto, el crecimiento del aguacate se caracteriza principalmente por la división y alargamiento celular. La maduración del fruto del aguacate se da en dos etapas:

- 1) La maduración fisiológica que comprende el crecimiento en el árbol de 20-60 semanas después de la polinización, esta maduración es considerada cuando las semillas del fruto están aptas para germinar y posteriormente reproducirse (Pérez, R. 2012), en ella existe un incremento de volumen en el fruto, producido por división celular (Barrientos A. F., García, E. & Avitia, E. 1996). Además, el fruto contiene alrededor de 80 % de agua, con altas tasas de liberación de dióxido de carbono, respiración y producción de etileno (Hernández, I., *et al.*, 2016; Morales, J. L., *et al.*, 2017). Es durante esta etapa que se realiza la síntesis de lípidos, en específico los ácidos grasos y TAG, por lo cual se evalúa el contenido de aceite como indicador para cosecha del fruto (Rodríguez, C. E., *et al.*, 2017).

2) La maduración poscosecha implica el ablandamiento de la pulpa (mesocarpio) regulado de forma enzimática por pectinasas, poligalacturonasas, celulasas y amilasas que actúan degradando los componentes de la pared celular y provocan que la textura del fruto cambie de firme a suave (Hernández, I., *et al.*, 2016). La maduración se divide en tres etapas principales: 1) cosecha (el fruto es firme y aun no es comestible); 2) consumo (el aguacate alcanza su punto óptimo de madurez y está listo para comer); 3) senescencia (el fruto comienza a deteriorarse). Durante estas etapas, se determinan los índices de madurez poscosecha del fruto que incluyen: la cantidad de materia seca y el contenido de lípidos (Zapata, E. 2014; Pedreschi, R., *et al.*, 2019).

2.3.1. Índices de madurez poscosecha del fruto del aguacate.

El primer indicador de maduración en el aguacate Hass utilizado por el sector industrial y los consumidores es el color del exocarpio (cáscara), va desde una tonalidad verde intenso a violeta oscuro al paso que el fruto madura, debido a la degradación paulatina de la clorofila y la acumulación de cianidina-3-glucósido (Figura 2) (Zapata, E. 2014; Rosas, N., *et al.*, 2020), lo cual puede analizarse por técnicas de espectroscopía (Lin, X., *et al.*, 2020).



Figura 2. Coloración en exocarpio durante su madurez poscosecha. Figura de autoría propia se incluyen imágenes de los aguacates de este proyecto.

El segundo indicador a nivel comercial, la materia seca es el parámetro principal para determinar la calidad del aguacate y reducir los defectos de la pulpa (Figura 3). Este indicador nos permite definir las tres etapas clase de la maduración poscosecha del fruto: 1) cosecha:

la materia seca ideal para retirar el fruto del árbol se encuentra entre 19-25 %, 2) consumo: el aguacate está en su punto óptimo para ser consumido cuando la materia seca presenta un rango de 26-30 %, 3) senescencia: la etapa de senescencia ocurre cuando el fruto se comienza a degradar y presenta pardeamiento en su cáscara, el contenido de materia seca supera el 30 % (Zapata, A. F. 2014; Hernández, I., *et al.*, 2016; Salameh, M., *et al.*, 2022).

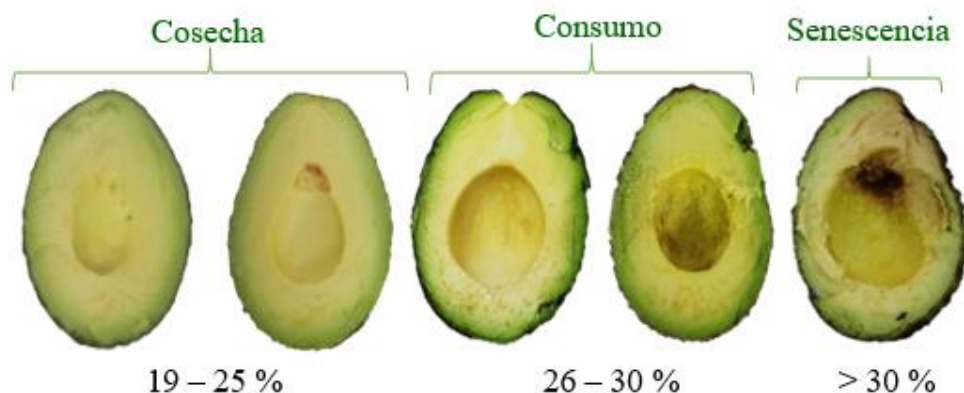


Figura 3. Porcentaje de materia seca durante la madurez poscosecha. Elaborada a partir de Zapata, A. F. 2014, Hernández, I., *et al.*, 2016 y Salameh, M., *et al.*, 2022.

El tercer índice es el contenido de aceite (8-20 %) que da a conocer las condiciones de crecimiento, la acumulación de aceite hasta la cosecha y el momento adecuado para retirar el fruto del árbol para asegurar una buena calidad de consumo (Hernández, I., *et al.*, 2016). El contenido de aceite aumenta tras la maduración del fruto y rebasa el 20 % cuando se encuentra en la etapa de consumo como se puede observar en la Figura 4 (Méndez, C., *et al.*, 2023).

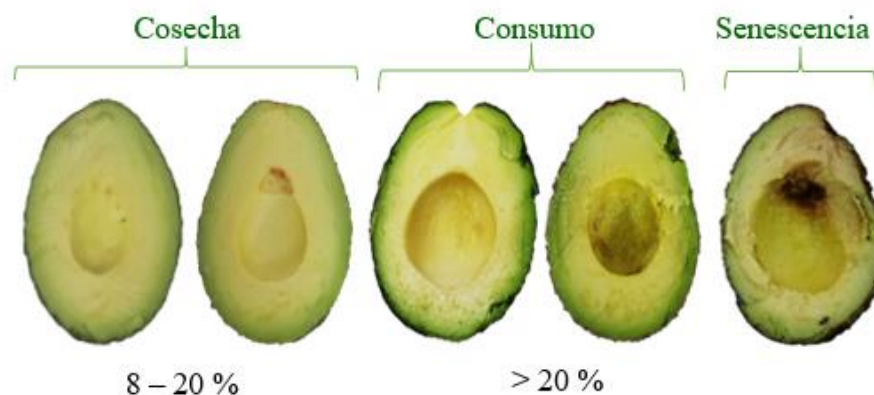


Figura 4. Contenido de aceite durante la madurez poscosecha. Elaborada a partir de Herrera, J.A., 2017; Méndez, C., *et al.*, 2023; Neves, B., *et al.*, 2024

Además, el índice de materia seca y el índice de aceite se correlacionan positivamente lo que los vuelve indicadores fiables como referencia de la madurez poscosecha del fruto (Cerdas, M. M., *et al.*, 2006; Rodríguez, P., *et al.*, 2023; Méndez, C., *et al.*, 2023).

2.4. Valor nutrimental del mesocarpio en el aguacate.

El aguacate es reconocido por su perfil nutricional, ya que es una excelente fuente de grasas monoinsaturadas saludables, que aportan beneficios a la salud cardiovascular, como la reducción del colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) y el aumento del colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad). Como se muestra en la Tabla 1, su composición de macronutrientes resalta su valor alimenticio. Además de su contenido lipídico el aguacate es rico en una variedad de vitaminas (K, C, E, ácido fólico y B5) y minerales esenciales (magnesio, potasio, cobre, fósforo y zinc).

Tabla 1. Macronutrientes en el mesocarpio de aguacate

Nutriente	Porcentaje (%)
Proteínas	1-3
Carbohidratos	0.8-4.8
Fibra dietética soluble e insoluble	1.4 a 3
Lípidos	60-70 %

Fuente: Kilaru, A., *et al.*, 2015

El mesocarpio del aguacate también contiene una diversa gama de metabolitos secundarios, incluyendo fitoesteres, carotenoides, alcaloides, ácidos fenólicos, flavonoides y tocoferoles (Robayo, A. T. 2016; Ezzedine, K., 2018).

2.5. Lípidos en el mesocarpio poscosecha.

Durante la madurez fisiológica el fruto del aguacate acumula la mayor cantidad de lípidos en el mesocarpio (60 - 70% de lípidos en peso seco) (Kilaru, A., *et al.*, 2015).

La composición de los lípidos totales se encuentra conformada por 96% de lípidos neutros, 3 % de glicolípidos y 1% de fosfolípidos contenidos en los idioblastos (Hernández, I., *et al.*, 2016). Los lípidos neutros son: tri, di y monoacilglicerol, ácidos grasos libres, esterol libres, y esterol ésteres (Takenaga, F., *et al.*, 2008; Pedreschi, R., *et al.*, 2019). Los glicolípidos: monogalactosil-diacilglicerol, acilesterilglucósido, esterglucósido, cerebrósido, digalactosil-diacilglicerol, entre otros y los fosfolípidos: ácido fosfatídico, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol entre otros (Takenaga, F., *et al.*, 2008).

Durante la maduración poscosecha la parte lipídica del mesocarpio del fruto se encuentra almacenada en forma de TAG formados por ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico: 59-81% y palmítico: 7-22%); seguidos de los ácidos poliinsaturados (3-11 % ácido alfa-linolénico y palmitoleico) y ácidos grasos saturados (7-22 %) (Hurtado, E. *et al.*, 2018; Pedreschi, R., *et al.*, 2019).

Asociado a lo anterior, se ha observado un cambio en la composición y el contenido general de los ácidos grasos (Luza, J. G., *et al.*, 1990), donde los ácidos grasos insaturados como el ácido oleico y linoleico aumentan mientras que los ácidos grasos saturados como el palmítico y esteárico disminuyen por la actividad de la esteroil-ACP desaturasa (SAD) y de otras desaturasas (Ford, N., *et al.*, 2023; Ozdemir, F. & Topuz, A. 2004).

2.6. Biosíntesis de TAG.

La síntesis de lípidos (ácidos grasos y TAG) en el aguacate sucede principalmente cuando la fruta alcanza su madurez fisiológica y durante la madurez poscosecha se estabiliza (Behera, J., *et al.*, 2023).

La biosíntesis de TAG ocurre en el retículo endoplásmico liso (REL) e implica la edición de un ácido graso dentro de los fosfolípidos nitrogenados del REL. Los cuerpos oleosos de TAG se acumulan en la lámina externa del REL y eventualmente se desprenden de él para formar cuerpos oleosos que varían de 0.5-2.5 μm de diámetro. La biosíntesis finaliza con la acción de dos enzimas clave: acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) y fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa (PDAT) como se puede observar en la Figura 5 (Cagliari, A., *et al.*, 2011; Kilaru, A., *et al.*, 2015).

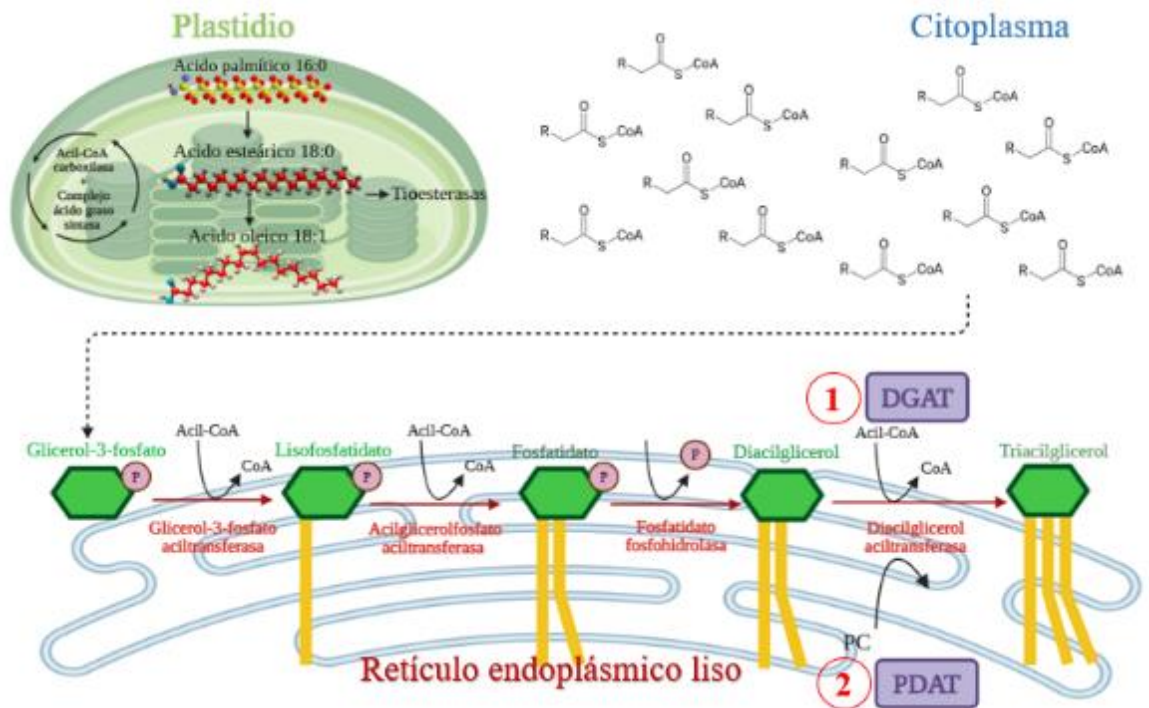


Figura 5. Rutas de síntesis de TAG en plantas. 1. Ruta dependiente de acil-CoA, catalizada por DGAT; 2. Ruta independiente de acil-CoA, catalizada por PDAT. Modificada de (Cagliari, A., *et al.*, 2011; Liu, Q., *et al.*, 2012; Lager, I., *et al.*, 2020).

Los TAG son una clase de lípidos neutros que sirven como reserva energética tanto en animales como en plantas (Figura 6). Los TAG predominan en las semillas y frutos de oleaginosas como donadores de energía para su metabolismo (Liu, Q., *et al.*, 2012).

La estructura de TAG es específica en cuanto a la composición de sus ácidos grasos para cada organismo (Figura 6). En el mesocarpio de aguacate, estos lípidos representan una cantidad significativa en toda la composición del aceite de aguacate (~ 90%): trioleína y 1,2-oleína-3-palmitina (~ 25%), 1,2-oleína-2-linoleína (~ 18 %) y 1-palmitina-2-linoleína-3-oleína (~ 7) (Wang, M., *et al.*, 2020).

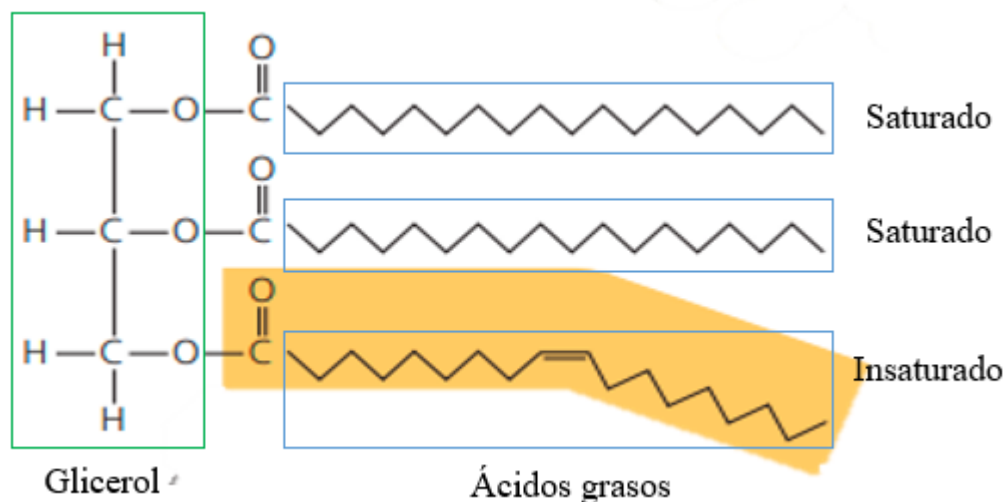


Figura 6. Estructura del triacilglicerol. Tres ácidos grasos (azul) se esterifican a una cadena principal de glicerol (verde) en las posiciones sn-1, sn-2 y sn-3 para formar una molécula de triacilglicerol. Las cadenas de ácidos grasos pueden estar saturadas, insaturadas o polinsaturadas (Modificado de Urry, L. A., *et al.*, 2021).

2.7. Enzima DGAT, E.C 2.3.1.20.

2.7.1. Características generales.

La DGAT es una proteína integral de la membrana de retículo endoplásmico que para la mayor parte de las especies presenta una masa molecular aproximada de ~ 55 kDa y una longitud de ~ 500 aminoácidos (Chi, E. Y., *et al.*, 2008). El pH óptimo de actividad enzimática reportado para la DGAT en diversos tejidos se encuentra alrededor de 7 (Valencia, L. G. 2006; Liu, Y., *et al.*, 2012). La familia DGAT está conformada por cuatro isoformas: DGAT1, DGAT2, DGAT3 y WS/DGAT. Las isoformas DGAT1 y DGAT2 se localizan en la membrana del retículo endoplásmico, mientras que DGAT3 es de carácter citoplasmático. Estas tres enzimas utilizan acil-CoA como sustrato para la síntesis de TAG.

Por otro lado, la enzima WS/DGAT presenta una actividad bifuncional como alcohol graso aciltransferasa (sintasa de ésteres de cera, WS) y diacilglicerol aciltransferasa (DGAT). En cuanto a su localización, en bacterias se asocia a la membrana celular y cuerpos lipídicos, mientras que en plantas se encuentra en la membrana del retículo endoplásmico (Liu, Q., *et al.*, 2012; Wen., C., *et al.*, 2025).

La enzima DGAT juega un papel crucial en la determinación del flujo de carbono hacia la síntesis de TAG, en la Figura 7, se puede observar la reacción enzimática catalizada por esta enzima (Valencia, L. G. 2006).

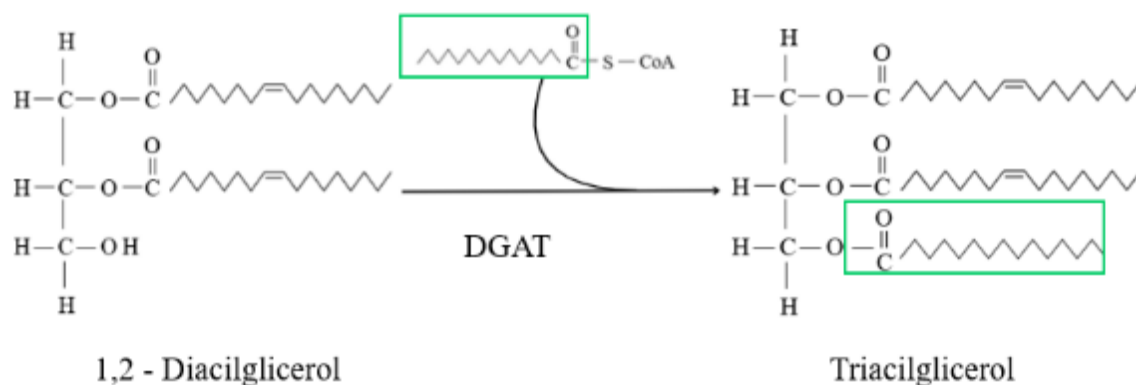


Figura 7. Reacción enzimática catalizada por acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa (DGAT). Adaptada de Cagliari, A., *et al.*, 2011; Ge, Y., *et al.*, 2021

En aguacate, la isoforma DGAT1 es una enzima predominante. En este fruto se ha visto que las enzimas DGAT1 y PDAT1 son las más asociadas a la síntesis de TAG, mientras que la DGAT2 lo es menos. Sin embargo, hasta la fecha, no se han reportado estudios que demuestren la presencia de las isoformas de enzimas DGAT y PDAT en el mesocarpio de aguacate en poscosecha. Tampoco hay reportes de la posible asociación de sus cambios con respecto al porcentaje de aceite y la concentración de TAG en esta etapa.

2.7.2. PDAT, EC 2.3.1.158

2.7.2.1. Características generales.

La enzima PDAT pertenece a la familia de las lecitinas: colesterol aciltransferasas (LCAT) y comparte homología estructural con la LCAT humana (Falarz, L., *et al.*, 2020), sin

embargo, su actividad enzimática fue identificada en levaduras y plantas (Zang, X., *et al.*, 2019). Es una proteína que contiene ~ 650 a 690 residuos de aminoácidos que se dirige a la membrana del REL por un solo dominio transmembrana orientado hacia el lumen (Dahlqvist A., *et al.*, 2000; Ghosal, A., *et al.*, 2007). La enzima PDAT tiene un peso molecular de 140 kDa reportado y su punto isoelectrico oscila entre 6 a 8 (Zang, X., *et al.*, 2019).

Existen de 2 a 6 genes que codifican a PDAT, dependiendo de la especie que se analice, de manera que en *Arabidopsis thaliana* se han encontrado 2 genes, en ricino (*Ricinus communis*) 3 genes (van Erp H., *et al.*, 2010), en lino (*Linum usitatissimum* L.) 6 genes (Pan, X., *et al.*, 2013) y hasta 12 genes en semillas de diferentes especies de algodón (*Gossypium*) (Zang, X., *et al.*, 2019).

La especificidad de la enzima PDAT varía entre especies, lo que podría desempeñar un papel crucial en la incorporación de ácidos grasos inusuales en las moléculas de TAG de las plantas. En un estudio con *Arabidopsis thaliana*, la inactivación del gen PDAT (línea *knock-out*) resultó en una drástica disminución del ácido linoleico (18:2) y el ácido α -linolénico (18:3), acompañada de un aumento del ácido oleico (18:1). Además, la eliminación de PDAT1 aceleró la senescencia de la planta (Demski, K., *et al.*, 2020).

La PDAT es la enzima principal que canaliza PUFAs (ácidos grasos poliinsaturados) recién formados de la fosfatidilcolina (PC) y la lisofosfatidilcolina para transferirlo al diacilglicerol (Figura 8) para producir TAG en levaduras y plantas, esta vía es complementaria a la de la DGAT, la cual incorpora preferentemente ácido oleico (18:1) de forma directa al TAG, permitiendo así una regulación diferenciada del perfil de ácidos grasos en los lípidos de reserva. Sin embargo, para convertirse en poliinsaturado (18:2 o 18:3), a menudo es transferido primero a la PC, donde las enzimas desaturasas (FAD2, FAD3) actúan sobre él. Sin PDAT, los PUFAs quedan inmersos en los fosfolípidos o deben seguir rutas metabólicas ineficientes para llegar al TAG. Por lo tanto, el aceite final es carente en PUFAs y enriquecido en su precursor, el ácido oleico.

Además, se propone que esta enzima esté involucrada en el almacenamiento de altos niveles de ácido graso hidroxilado (ácido ricinoleico) y ácido graso epóxido (ácido vernólico) en los

TAG en ricino (*Ricinus communis*) y *Crepis palaestina*, respectivamente. Además, se mostró que está presente una enzima similar en *Saccharomyces cerevisiae*, y se identificó el gen que codifica esta enzima, YNR008w (Dahlgqvist, A., *et al.*, 2000).

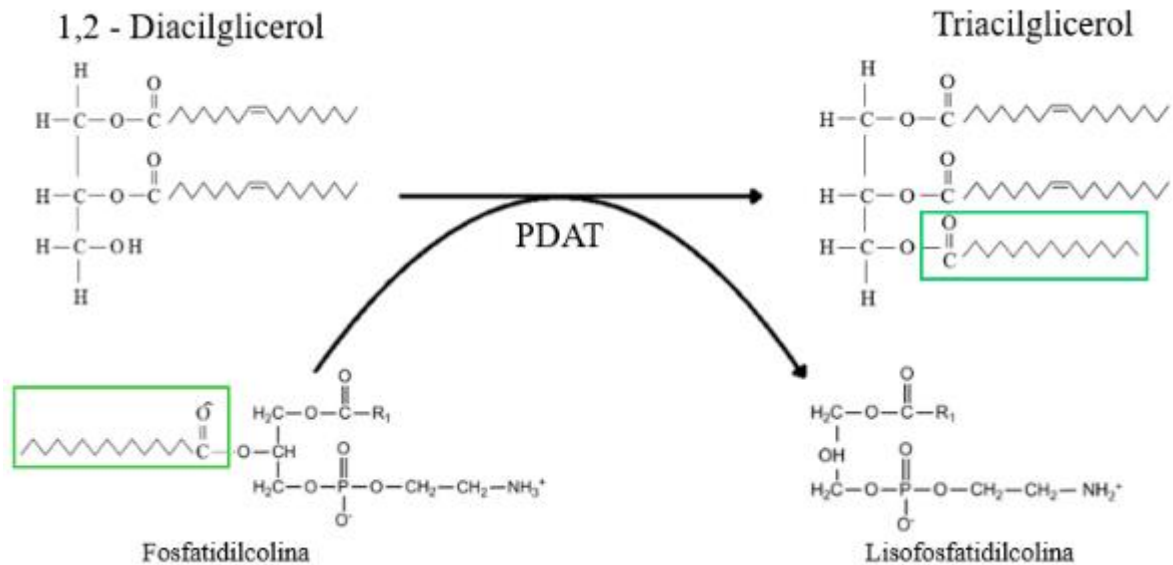


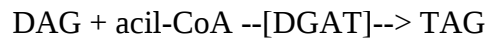
Figura 8. Reacción enzimática catalizada por Fosfolípido: diacilglicerol aciltransferasa (PDAT). Adaptada de Cagliari, A., *et al.*, 2011; Ge, Y., *et al.*, 2021

PDAT presenta una capacidad amplia para utilizar diferentes fosfolípidos como donantes de acilo y aceptar grasas de distintas longitudes, desde C10 hasta C22 (Aznar, J. A., 2013). En un estudio en el que se expresaron las enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT1 del aguacate en *S. cerevisiae* y hojas de *Nicotiana benthamiana*, se encontró que las enzimas DGAT1 y PDAT1 prefieren los sustratos que contienen ácido oleico, además de que ambas proteínas trabajan de manera alternativa en el ensamblaje de TAG en el mesocarpio del aguacate (Behera, J., *et al.*, 2023).

2.8. Sinergia de enzimas DGAT y PDAT.

Las dos enzimas DGAT y PDAT, realizan la acilación de DAG (Liu, Y., *et al.*, 2012).

- Vía Clásica (Ruta Kennedy): La síntesis de TAG ocurre principalmente cuando una enzima DGAT toma un ácido graso activado (acil-CoA) y lo une a una molécula de diacilglicerol (DAG) para formar un TAG.



- Vía Alternativa (Dependiente de PDAT): La enzima PDAT ofrece una ruta alternativa y complementaria. En lugar de usar acil-CoA, PDAT toma un ácido graso directamente de un fosfolípido (como la PC) y lo transfiere al DAG para formar TAG.



En estudios comparativos de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.) y cártamo (*Carthamus tinctorius*) se encontró que la actividad de la enzima PDAT es mayor que la de la DGAT en el cártamo, lo cual indica que utiliza una ruta de producción de grasas o TAG que no depende de la molécula acil-CoA y que es principalmente impulsada por la enzima PDAT (Aznar, J. A., 2013; Liu, Y., *et al.*, 2012).

La fisiología de las aciltransferasas DGAT y PDAT varía entre especies y su influencia actúa en la composición y distribución de los ácidos grasos dentro de los TAG, lo cual es relevante porque la identificación de los ácidos grasos específicos para las aciltransferasas permitiría producir ácidos grasos que satisfagan necesidades particulares a nivel industrial y comercial. (Wen, L., *et al.*, 2025).

La función de las isoformas de las aciltransferasas DGAT y PDAT en el mesocarpio de aguacate durante la madurez poscosecha no ha sido previamente estudiada. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue investigar la funcionalidad de estas enzimas, encargadas del paso final de la síntesis de TAG), en el fruto poscosecha. Para ello, se determinó la presencia de DGAT y PDAT a nivel de expresión génica y principalmente la densitometría de sus proteínas, además se correlacionaron estos hallazgos con parámetros bioquímicos clave, como el contenido de materia seca, el porcentaje total de aceite y la concentración de TAG, con el fin de elucidar su posible rol en el metabolismo lipídico durante la etapa poscosecha.

3. Justificación

El mesocarpio del aguacate tiene la propiedad de poder acumular grandes cantidades de aceite durante la madurez poscosecha, almacenándose en forma de TAG. La importancia nutricional y de beneficios a la salud del aceite de aguacate ha elevado su producción mundial, ya que es uno de los pocos frutos con una importante capacidad de almacenamiento de ácidos grasos monoinsaturados (Kilaru, A., *et al.*, 2015; Demski, K., *et al.*, 2020).

Los TAG son la forma en la que las plantas almacenan energía de alta densidad. La biosíntesis de estos lípidos en los vegetales comienza en los cloroplastos, pasando al citoplasma y de este al retículo endoplásmico, en donde se lleva a cabo la acilación consecutiva del glicerol-3-fosfato (G3P) a través de la vía Kennedy por medio de una bifurcación en el paso final de las síntesis de TAG, una dependiente de acil-CoA en donde interviene la DGAT y otra independiente llevada a cabo por la PDAT, siendo estas dos enzimas partícipes en el último paso de la ruta y funcionando como limitantes para la formación de TAG (Kilaru, A., *et al.*, 2015).

Hasta la fecha, no existen reportes sobre los cambios en la presencia de las isoformas de aciltransferasas DGAT y PDAT en el mesocarpio de aguacate poscosecha. Comprender si estas enzimas, cruciales para la síntesis de aceite, permanecen activas es fundamental para elucidar los mecanismos moleculares que rigen el metabolismo lipídico en esta etapa. De forma específica, es importante determinar si la densitometría de estas enzimas se asocia o correlaciona con índices como el porcentaje de materia seca y aceite, así como con la concentración de TAG presentes en el fruto.

4. Hipótesis

La densitometría de las isoformas de DGAT y PDAT en el mesocarpio del aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass) presenta un incremento diferencial durante la madurez poscosecha, y esta variación está positivamente correlacionada con el aumento de materia seca, aceite y TAG.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general.

Determinar la densitometría de las isoformas de DGAT y PDAT, además de su correlación con materia seca, aceite y TAG durante la madurez poscosecha del mesocarpio en el aguacate *Persea americana* Mill var. Hass.

5.2. Objetivos específicos.

1. Analizar la densitometría de las isoformas de DGAT y PDAT durante la madurez poscosecha del mesocarpio en el aguacate *Persea americana* Mill var. Hass.
2. Evaluar la correlación entre materia seca, contenido de aceite y TAG con las isoformas de DGAT y PDAT en la madurez poscosecha del mesocarpio en el aguacate *Persea americana* Mill var. Hass.

6. Material y métodos.

6.1. Consideraciones bioéticas.

El protocolo fue sometido al comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales y se le asignó el folio de dictamen 77FCN2020, asimismo se cuenta con la aprobación por parte del consejo interno y de Investigación y Posgrado de la UAQ con el número de registro 12368. Todos los residuos biológicos y químicos derivados del proyecto fueron identificados, almacenados y etiquetados según las normas oficiales mexicanas para el manejo de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI) NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 y Residuos Peligrosos (RP) NOM-052-SEMARNAT-2005 y los manuales de manejo de residuos de la Facultad.

6.2. Obtención de mesocarpio.

Los frutos de aguacate (*Persea americana* Mill var. Hass) fueron colectados de Temascaltepec, Estado de México, por donación de la Fundación Salvador Sánchez Colín. Se cosecharon en la etapa de madurez fisiológica presentando un exocarpio duro y de color verde brillante para evaluarlos en la madurez poscosecha. Los aguacates se mantuvieron en un espacio ventilado y a una temperatura ambiente de 20-23 °C. Se recolectaron 29 aguacates y se analizaron durante 16 días consecutivos. El mesocarpio fresco se usó para extracción de proteínas y cuantificación de porcentaje de materia seca. Por otro lado, una muestra del mesocarpio se congeló en nitrógeno líquido y se almacenó a -70 °C para su posterior análisis.

6.3. Contenido de materia seca.

El contenido de materia seca se determinó por el método de secado hasta peso constante en microondas. Se preparó la muestra realizando un corte longitudinal en el aguacate (de proximal a distal) para exponer y remover la semilla y el tegumento. Aproximadamente, 5 g de pulpa fresca de aguacate se pesó en cajas Petri de plástico de 60 mm (previamente pesadas). Las muestras se secaron en microondas en lapsos cortos de 30 segundos. El proceso de secado continuo hasta que la diferencia entre pesajes consecutivos fue menor a 0.005 g (peso constante). Se aplicó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de materia seca (%MS) (Valdéz, R. C. 2017).

$$\% \text{ MS} = (\text{Peso seco en g}) / \text{Peso fresco en g}) * 100$$

6.4. Extracción de proteínas.

Para la extracción de proteínas totales, se pesaron 5 g de mesocarpio fresco de aguacate y se homogeneizaron en una proporción 1:3 (p/v) en un buffer de lisis RIPA modificado. El RIPA contenía Tris 1 M, SDS 10%, Tritón X 100 1%, NaCl 5 M, NaF 0.1 M, EDTA 0.5 M, deoxicolato de sodio 100 mM, NP40 1%, inhibidores de fosfatasa: PMSF 100mM y ortovanadato de sodio 0.1 M, pH 7.5 ajustado con HCl. La lisis se complementó con y un cóctel de inhibidores de proteasas (Complete™, EDTA-free, Roche®). La muestra se lisó mecánicamente con un Polytron (Glas-Col®) en agitación en hielo por 5 min. El

procedimiento se realizó por duplicado. Los homogenados se centrifugaron a 24,000 xg durante 20 min en una ultracentrífuga a 4 °C para remover restos celulares. Se recuperó el sobrenadante resultante y se centrifugó a 480 xg durante 5 min para clarificación final. El extracto proteico de mesocarpio de aguacate se fraccionó en alícuotas y se almacenó en tubos de 2 ml a -70 °C hasta su posterior análisis (Kanellis, A. K., *et al.*, 1989).

6.5. Concentración de proteínas.

En una placa de 96 pozos se colocaron 10 µl de muestra o estándar de proteína (albúmina sérica bovina, BSA: 50, 100, 200, 300, 400 y 500 µg/ml), se añadieron 200 µl del reactivo de Bradford (Bradford, M. 1976), se incubó por 5 min y se cuantificó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en el lector de placas Spectramax-250® (Kanellis, A., *et al.*, 1989). La determinación de la concentración de proteínas del homogenado de aguacate se realizó con modificaciones en volumen de colorante y muestra para micro Bradford (Pande, S. & Murthy, M. 1994). Las modificaciones al método original (Bradford, M. 1976) son para una escala menor de muestra (Pande, S. & Murthy, M. 1994).

6.6 Extracción de RNA.

A partir de la extracción del ARN, se realizó la retrotranscripción para sintetizar ADN complementario (ADNc), seguida de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) punto final. La literatura reporta una temperatura óptima de 60 °C para la amplificación de los genes de las enzimas DGAT y PDAT en *Arabidopsis thaliana* con transcritos de 400 – 500 pares de bases (pb) (Li., R., *et al.*, 2010).

Las secuencias de los oligonucleótidos para las aciltransferasas se revisaron en la plataforma BLAST realizando un análisis *in silico* con una temperatura de alineación de 60 °C y una elevación de temperatura de amplificación de 95 °C (no formaron estructuras secundarias entre ellos en este análisis). Lo anterior permitió sintetizarlos con posible certidumbre para asegurar la amplificación específica de las enzimas de interés. Para lo anterior se utilizaron las regiones conservadas de ADNc de las enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT de *Arabidopsis thaliana* como referencia (Tabla 2).

Tabla 2. Oligonucleótidos para enzimas aciltransferasas en *Arabidopsis thaliana* Li, R., (2010).

Gen	Secuencia de oligos (5' - 3')		Tamaño del producto de Amplificación (pb)
DGAT1	Sentido	TTGGCCGCTTTTCATGTG	500
	Antisentido	GCAGTAGAACATGCAGAGCC CGTCATCTTGTACGT	
DGAT2	Sentido	GTCTTTGGTTATGAACCAC	550
	Antisentido	TATTGGTTTACCAACGAC	
PDAT1	Sentido	GGGCTCGAGCTTTGGGAAGG	400
	Antisentido	GCAACAGCTTTTGGAAACACC	
18S RNA	Sentido	CGGCTACCACATCCAAGGAA	200
	Antisentido	GCTGGAATTACCGCGGCT	

La extracción de RNA se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar y con materiales nuevos o esterilizados. Se tomaron 300 mg del mesocarpio de aguacate, se pulverizaron en un mortero adicionando nitrógeno líquido para exponer a temperatura ambiente lo menos posible la muestra y tratar de reducir la actividad de las RNAasas. El polvo se transfirió a un tubo donde se agregaron 3 ml de Trizol (Life Technologies) y se incubó durante 5 min para la lisis total. Para la separación de fases se agregó 600 µl de cloroformo (CHCl₃), se agitó en vórtex y se centrifugó la mezcla (Allegra™ 2IR Centrifuge) a 14,167 xg, durante 20 min a 4 °C. La fase acuosa se transfirió a un tubo donde se le adicionaron 1,500 µl de isopropanol y se agitó invirtiendo el tubo tres veces (incubación por 10 min). Se centrifugó a 14,000xg durante 10 min a 4 °C para obtener el pellet de RNA, que se lavó 2 veces con 1 ml de etanol al 75% y se centrifugó a 5,534 xg por 5 min a 4 °C. El pellet se dejó secar alrededor de 1 h en la campana de flujo laminar, luego se resuspendió en 40 µl de agua libre de nucleasas y se incubó a 55 °C durante 10 min en baño seco (Felisa) para eliminar contaminación con DNA. Se analizó la pureza del RNA total extraído en el Nano Drop One^c.

6.6. Expresión de los genes de las enzimas: DGAT y PDAT.

La amplificación de los genes de las enzimas de interés se realizó por retrotranscripción seguida de la reacción de amplificación en cadena de la polimerasa PCR (RT-PCR). El ADNc se sintetizó con el kit SuperScript II RT (Invitrogen). Las reacciones de PCR se realizaron por triplicado en volúmenes de 25 μ l, con 12.2 μ l de agua libre de nucleasas, 4 μ l de buffer 5X, 0.4 μ l dNTP 10 mM, 1 μ l de cada oligo sentido y antisentido (5 μ M) y 0.4 μ l de Phire hot start II DNA polimerasa y 1 μ l DNA muestra. Las reacciones se realizaron en microtubos de 50 μ l, de acuerdo con el siguiente protocolo: activación inicial de la polimerasa a 95 °C durante 10 min. Posteriormente, se realizaron 40 ciclos de amplificación de dos pasos: desnaturalización a 95 °C por 15 s y una etapa de alineación-extensión a 60 °C por 1 min. Finalmente, se llevó a cabo una extensión final a 72 °C 5 min y un mantenimiento a 4 °C para la preservación de los productos de PCR. Los cebadores para la amplificación específica de ADNc se diseñaron en el artículo (Li, R., Yu, K. & Hildebrand, D.F., 2010) del que se extrajeron, de manera que utilizaron el software Primer Express (Applied Biosystems), teniendo en cuenta los criterios como la longitud del producto (~ 500 pb), temperatura óptima de alineación (60 °C) PCR y la probabilidad de auto desconexión del cebador, de tal modo que podemos observar todos los elementos en la Tabla 2 de resultados.

6.7. Electroforesis SDS-PAGE.

Las muestras se separaron en función de su peso molecular por electroforesis de geles de poliacrilamida (PAGE) con dodecilsulfato sódico (SDS) en condiciones semidesnaturalizantes reductoras. Se usaron geles de 7.5 % de concentración de 1 mm de grosor, se cargaron 80 μ g de proteína total de extracto proteico de aguacate (15 μ l de muestra de homogenados de cada grupo experimental con 15 μ l de amortiguador de la muestra en cada pozo), además en uno de los carriles se colocó un marcador de peso molecular (Precision plus ProteinTM Standards KaleidoscopeTM BioRad®, 10-250 kDa). La electroforesis se realizó con una intensidad de 100 V, durante 1h con 30 min a 4 °C en solución amortiguadora de corrida 1x. Posteriormente, unos de los geles se tiñeron con azul brillante de Coomassie (BioRad R-250®) para evaluar corrimiento proteico y otros más se transfirieron a membranas de nitrocelulosa.

6.8. Evaluación semicuantitativa por Western Blot.

Luego de la electroforesis, los geles que se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (BioRad®) (condiciones húmedas, sistema “sándwich” lado cassette negro, esponjas, papel filtro, gel, membrana, papel filtro, esponjas y lado cassette blanco usando un buffer tris-glicina-metanol a pH 8.3, corriente de 200 mA durante una 1 h en agitación constante y a 4 °C. Al término de la transferencia, el gel se tiñó con solución a base de azul de Coomassie R-250 BioRad® para visualizar que no se hayan quedado proteínas sin transferir a la membrana. Mientras que la membrana fue teñida con rojo de Ponceau para la observación de las bandas de las proteínas. Posteriormente, la membrana se destiñó con lavados de agua destilada. Los pesos moleculares transferidos a la membrana fueron marcados con una aguja. Las membranas se lavaron con TBS 1X, pH 7.5 durante 10 min. Las membranas se incubaron para inmunodetectar, por vez primera en aguacate poscosecha, las enzimas de interés con anticuerpos específicos DGAT (1:500, Agrisera Ab) y PDAT (1:500, Agrisera Ab) en TBS 1X con 1% leche por 1 h, mientras que se usó la inmunodetección con el anticuerpo de β -actina (López, L. A., *et al.*, 2017) como control de cargado. Las membranas se lavaron 2 veces con TTBS 1X por 10 min. Posteriormente se incubaron con anticuerpo secundario 1:3000 conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (sc-516102, Santa Cruz Biotechnology) en TBS 1X + 1% de leche durante 2 h. Se repitieron 2 lavados con TTBS 1X y 2 lavados con TBS 1X de 10 min cada uno. Las proteínas relacionadas con las aciltransferasas PDAT y DGAT se visualizaron a través de la reacción de una solución de diaminobencidina (0.5 mg/ml), 7 ml de TBS 1X y peróxido de hidrógeno (0.05%) exponiendo la membrana alrededor de 30 min. Se llevó a cabo la cuantificación de las proteínas inmunodetectadas por densitometría con el analizador de imagen (Image Lab, Bio Rad ®).

6.9. Contenido de aceite.

Se cuantificó el aceite total en 500 mg de tejido del mesocarpio de aguacate liofilizado. Para el extracto lipofílico se utilizó el equipo semi automatizado SoxtecTM 2055 (Fat extraction system) o Soxhlet, el cual permitió analizar 6 muestras a la vez. Se registró el peso inicial de

las tazas sin muestra y sin humedad. 500 mg de polvo de aguacate se depositó en un papel filtro (No.1), dentro de dedales y asimismo en tazas de metal. Estas se colocaron en el equipo Soxtec™ 2055 (Fat extraction system) con 75 ml de hexano grado reactivo (Fagalab) a 150 °C. El proceso consistió en hervir, enjuagar, recuperar y pre secar el extracto con la fase de lípidos por medio de un sistema cerrado, con una duración de 1:30 h. Al concluir el proceso de extracción se evaporó el hexano en las tazas colocadas en el desecador por 12 h para asegurar su peso constante. Posterior a ello se registró el peso final de las tazas y se calculó el porcentaje de aceite de cada una de las muestras mediante la siguiente ecuación (Valdéz, R. C. 2017):

$$\% \text{ aceite} = (m_2 - m_1) / m$$

Dónde: m= masa de muestra (g), m₁=peso inicial del matraz, m₂=peso matraz con aceite.

6.10. Contenido de TAG.

Se pesaron 500 mg de liofilizado de aguacate y se agregaron 10 ml de reactivo de Folch (2:1, cloroformo: metanol) 1:20 y se agitaron en vórtex durante 3 min. Sonicación durante 20 min (ultrasonificador Cole-Parmer de 42 kHz). Después se prepararon 20 ml de NaCl al 0.9% para lavar la muestra y se agregaron 0.2 ml de reactivo de Folch, después se centrifugó a 1040 xg por 10 min a temperatura ambiente. En el tubo se formaron dos fases, se desechó la primera fase y a la segunda se agregaron 4 ml de NaCl al 0.9% y se agitaron en vórtex en 5 repeticiones, se centrifugó a 1980 xg por 5 min, se transfirió la capa inferior y se dejó evaporar el cloroformo en una campana de flujo laminar durante 24 h. Finalmente se cuantificaron los TAG presentes en las muestras de acuerdo a estándares en donde se incluyen: control (139 mg/dL) y normal (109 mg/dL), establecidos en el kit de cuantificación de TAG.

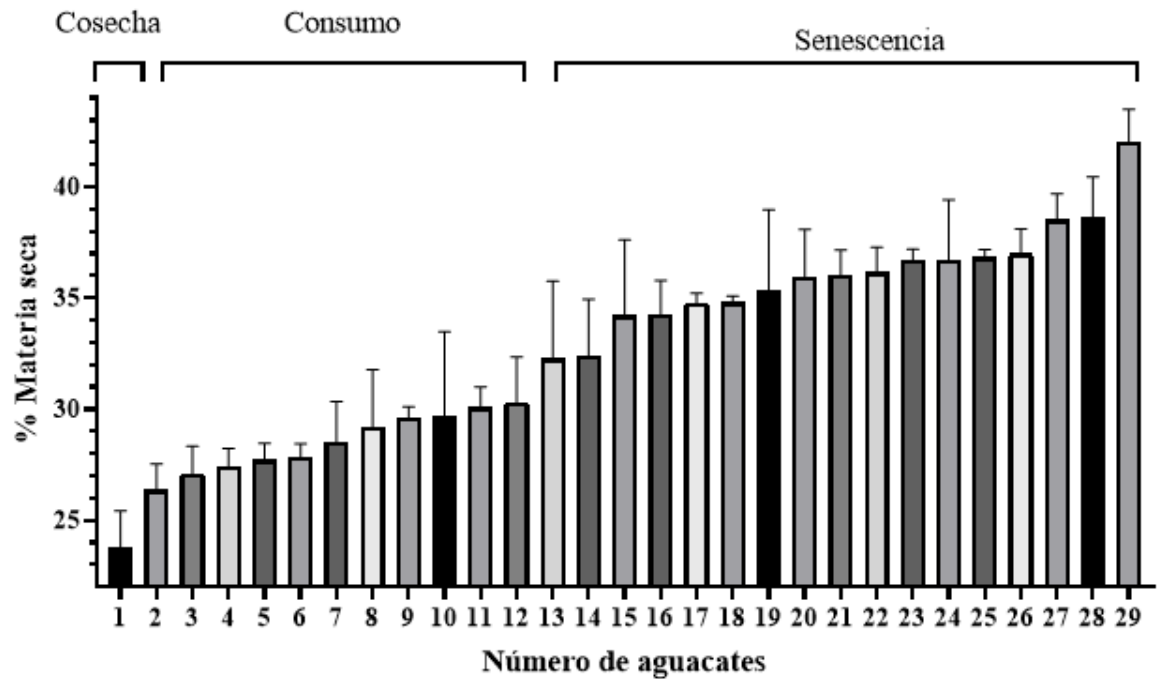
6.11 Análisis de datos.

Para la realización de los análisis estadísticos de los datos se utilizó el software GraphPaD Prism 8.3.0 aplicando Anova de una vía del promedio de los datos $\pm$ DE, seguido de prueba post-hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 8$. Todos los experimentos fueron realizados de 3-5 repeticiones. Además, se realizaron regresiones lineales seguidas de correlación de Pearson para la asociación de parámetros.

7. Resultados y discusión

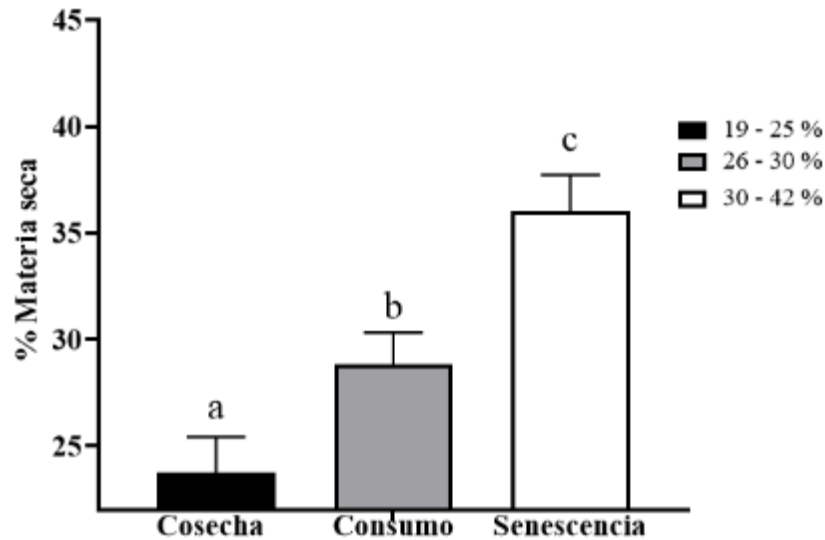
7.1. Determinación de maduración del mesocarpio del aguacate, mediante el porcentaje de materia seca.

El porcentaje de materia seca es un indicador de madurez, útil para asegurar la calidad del fruto y una madurez poscosecha óptima (Rodríguez, P., *et al.*, 2023; Salameh, M., *et al.*, 2022). Con base al porcentaje de materia seca de los 29 frutos, la madurez poscosecha del aguacate se dividió en tres categorías: 1) cosecha; 2) consumo y 3) senescencia (Zapata, A. F. 2014; Hernández, I., *et al.*, 2016), lo cual podemos observar en la Gráfica 1.



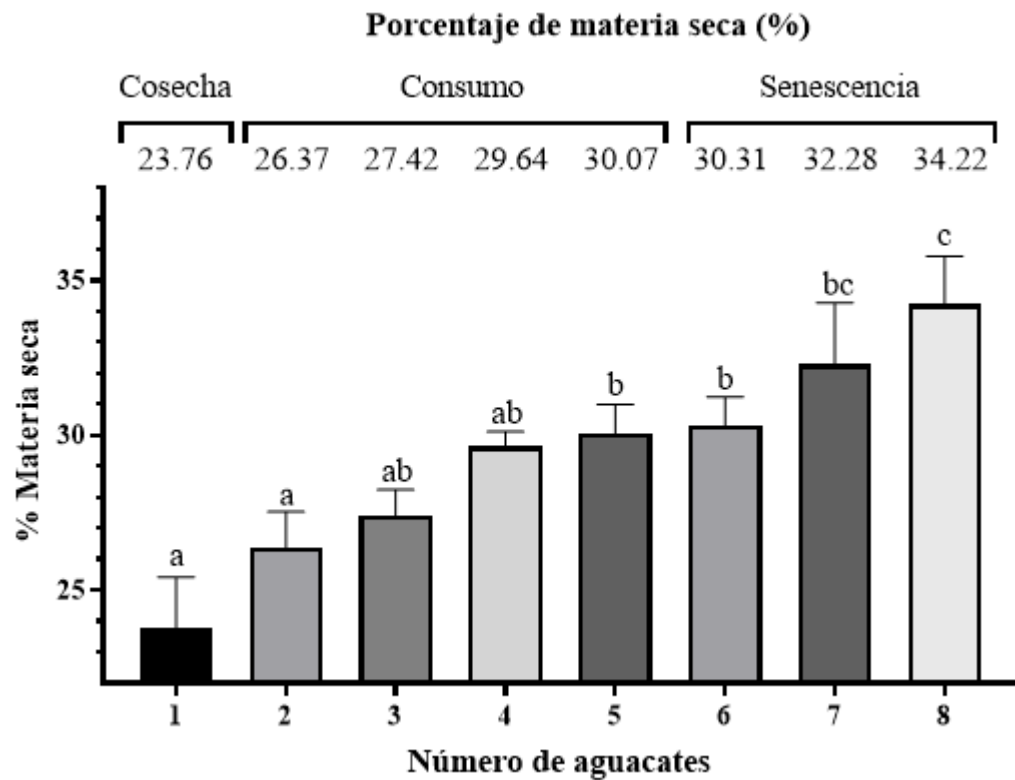
Gráfica 1. Aumento de porcentaje de materia seca en el mesocarpio de aguacates durante las etapas poscosecha. Los datos se presentan como promedio $\pm$ DE. Se realizaron tres determinaciones de materia seca por individuo.

En este proyecto la materia seca incrementó 1.3 ± 0.03 veces entre cada una de las etapas poscosecha (cosecha, consumo y senescencia), como se muestra en la Gráfica 2.



Gráfica 2. Contenido de materia seca en etapas: cosecha, consumo y senescencia en mesocarpio de aguacate poscosecha. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre la materia seca de las diferentes etapas: cosecha-consumo $p < 0.05$, cosecha-senescencia $p < 0.0001$ y consumo-senescencia $p < 0.0001$. Los valores de las barras son el promedio $\pm$ DE, análisis por ANOVA, post-hoc Tukey.

Para dar seguimiento al trabajo se seleccionaron ocho muestras de aguacate representativas del proceso de madurez poscosecha. En estas muestras se mantuvo una clara tendencia al aumento del porcentaje de materia seca a medida que avanzó la madurez poscosecha del aguacate (Gráfica 3). Entre estos ocho frutos el valor más alto de materia seca se observó en la etapa de senescencia, siendo 1.3 ± 0.08 veces mayor que la cosecha y 1.13 ± 0.08 veces mayor que en la etapa de consumo (Gráfica 3).



Gráfica 3. Cuantificación de porcentaje de materia seca en aguacates representativos de la madurez poscosecha. Los datos representan promedio $\pm$ DE, análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, se realizaron tres repeticiones del experimento en cada muestra.

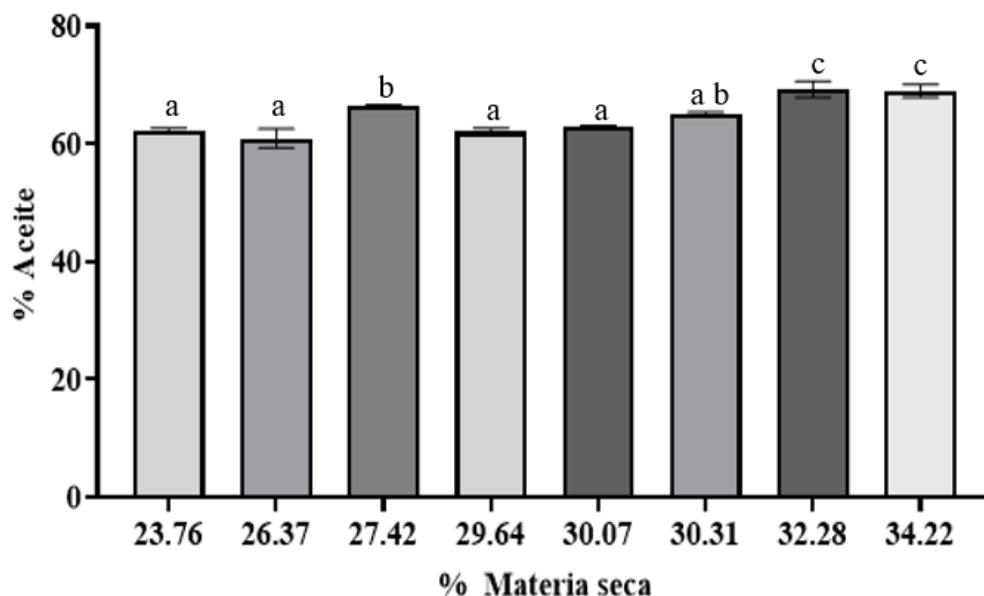
En comparación con los resultados En un estudio en el que se evaluó el porcentaje de materia seca tanto de diferentes meses del año (noviembre-enero) como en diferentes días posteriores a la cosecha del fruto (1 °, 4 ° y 8 ° día) se obtuvo un aumento en el porcentaje de materia seca en la variedad Hass de 23.87 a 27.92 % en un periodo de 8 días poscosecha (Ozdemir, F. & Topuz, A. 2004), lo cual fue menor con respecto al presente estudio, ya que en ese lapso los aguacates que se utilizaron en este proyecto estuvieron dentro del intervalo de 23.76 a 35.34 % de materia seca (7.42 % mayor que en Ozdemir, F. & Topuz, A. 2004).

Mientras que, por otro lado, en un estudio llevado a cabo en aguacate para evaluar su crecimiento y maduración, se midió la cantidad de materia seca durante 6 días poscosecha a 22 °C en donde se obtuvieron datos desde 26.6 a 29.5% de materia seca (Pérez, R. 2012),

esto resulta similar con los resultados obtenidos de nuestro trabajo, ya que al paso de 6 días posteriores a la cosecha el intervalo de materia seca obtenido fue de 23.76 a 29.64 % de materia seca. Por lo tanto, este trabajo utilizó frutos de las tres etapas poscosecha reportadas en la literatura: cosecha, consumo y senescencia.

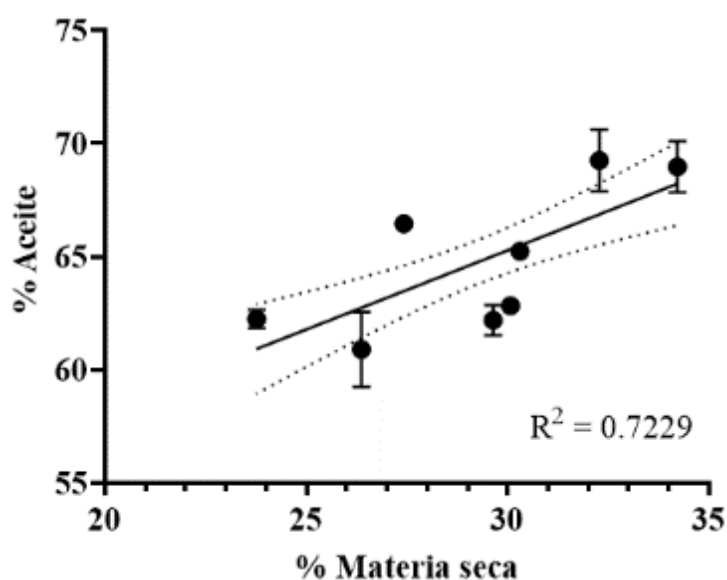
7.2. Porcentaje de aceite y cuantificación de TAG en el mesocarpio de aguacate.

La máxima concentración de aceite se registró durante la etapa de senescencia, fenómeno que se atribuye a la biosíntesis lipídica progresiva que ocurre durante la maduración poscosecha. Estos hallazgos son consistentes con la literatura, la cual describe un incremento en el contenido de aceite y modificaciones en el perfil de ácidos grasos conforme el fruto alcanza su madurez tras la recolección (Ozdemir, F. & Topuz, A. 2004). Específicamente, el porcentaje de aceite en la etapa de senescencia, en nuestro trabajo, fue 1.08 ± 0.03 veces mayor que en la cosecha y 0.77 ± 0.3 veces que en el momento del consumo.



Gráfica 4. Porcentaje de aceite por método de Soxhlet. Las columnas representan el promedio $\pm$ DE ($p < 0.001$ - $p < 0.05$). Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra. Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre columnas.

De los diversos métodos de extracción de aceite, el sistema Soxhlet destaca por su alta reproducibilidad (Flores *et al.*, 2019). En el presente estudio, se empleó este método para la extracción en aguacates, obteniendo un rendimiento de entre el 60% y 69%. Estos resultados concuerdan con el 62% de lípidos reportado para la variedad Hass cultivada en México, Australia, Estados Unidos y Nueva Zelanda, lo cual permite contrastar la influencia del origen y la variedad en el contenido graso (Berasategi, I., *et al.*, 2012; Tan, C. X., Tan, S. S. & Tan, S. T. 2017; Flores, M., *et al.*, 2019). El contenido de aceite es el indicador de cosecha más utilizado para los aguacates, se correlaciona de manera estrecha con el contenido de materia seca, sin embargo, el cálculo de materia seca se realiza con mayor frecuencia por ser un método más práctico y de bajo costo (Hernández, I., *et al.*, 2016). Se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.72, lo que confirma una asociación lineal positiva y significativa entre el porcentaje de aceite y la materia seca. Asimismo, el coeficiente de determinación ($R^2 = 0.52$) indica que el 52% de la variabilidad en el contenido lipídico es explicado por el incremento de la materia seca. Estos valores reflejan una dependencia moderada-alta entre ambos parámetros, validando el uso de la materia seca como un indicador indirecto del rendimiento graso (Vinuesa, P. 2016) (Gráfica 5).

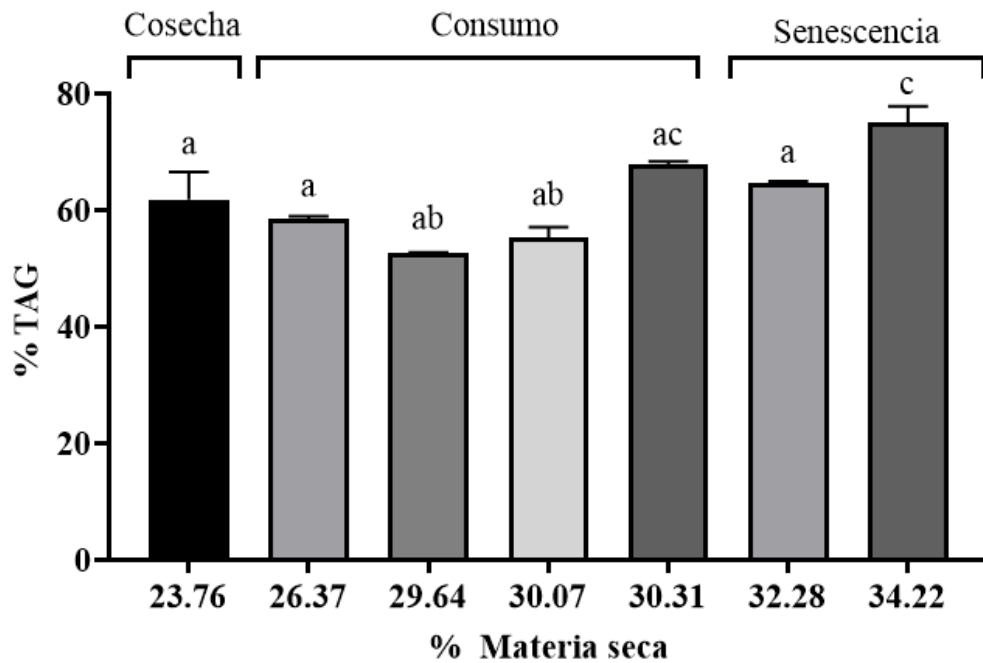


Gráfica 5. Relación entre los porcentajes de aceite y materia seca durante la madurez poscosecha. La variable de porcentaje de aceite (eje de las ordenadas) de 60 a 69 % y el porcentaje de materia seca (eje de las abscisas) de 23.76 a 34.22 %. Se graficaron los

promedios $\pm$ DE. La relación entre variables se determinó mediante regresión lineal con correlación de Pearson ($p < 0.05$)

La correlación que existe entre los porcentajes de materia seca y aceite es positiva como se pudo observar en la Gráfica 5, lo cual coincide con los estudios realizados por Kader (2024) quién mencionó que estos dos indicadores dan a conocer la madurez que presentan los frutos y asimismo se solicitan estándares internacionales para poder identificar el momento adecuado para retirar el fruto del árbol (Kader, A. A. 2024). Además, coincide con un estudio comparativo entre el porcentaje de materia seca y contenido de aceite donde se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.85 (Cerdas, M. M., *et al.*, 2014) y con otro estudio donde el coeficiente también fue de 0.95 (Carvalho, C. P., *et al.*, 2015), lo cual sugiere que ambos parámetros presentan una fuerte asociación para la calidad del fruto durante la madurez poscosecha.

También analizamos el contenido de TAG en los frutos a lo largo de su maduración poscosecha, revelando variaciones significativas entre las etapas. El valor más alto de TAG se registró durante la senescencia, alcanzando un 74.95 %, en contraste, el menor valor se observó en la etapa de consumo con un 52.58 %. Durante la senescencia, los niveles de TAG fueron notablemente superiores (1.13 ± 0.13 veces que en la etapa de consumo y 1.25 ± 0.23 veces mayor que, en la etapa de cosecha, Gráfica 6).



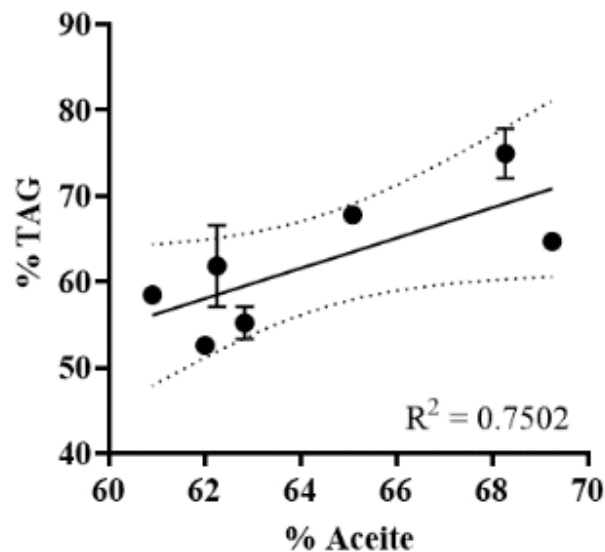
Gráfica 6. Porcentaje de TAG en relación al porcentaje de materia seca. Los datos representan el valor promedio ($p < 0.001$ - $p < 0.05$) $\pm$ DE. Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra. Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre columnas.

Estudios previos realizados en variedades Fuerte y Bacon reportaron que el contenido de TAG constituye entre el 87 % y 89 % de la fracción lipídica, lo que equivale al 80 % de los lípidos totales en el mesocarpio del aguacate (Takenaga, F., *et al.*, 2008). En contraste, los resultados de este trabajo en variedad Hass muestran un rango inferior de 52.58 ± 0.18 a 74.95 % de TAG. Esta discrepancia se atribuye primordialmente a la variabilidad genotípica de las muestras analizadas, por el estado de madurez de los frutos al momento del muestreo y las condiciones agroclimáticas de la zona de cultivo, factores que alteran significativamente el perfil lipídico y la acumulación de reservas energéticas en el mesocarpio del fruto.

7.2.1. Correlación aceite y TAG.

La evaluación de la relación entre el porcentaje de aceite y el contenido de TAG en el mesocarpio del aguacate resultó con un coeficiente de correlación de 0.75, este valor indica una correlación positiva entre ambas variables y es biológicamente relevante, ya que significa que el 75 % de la variabilidad observada en el contenido de TAG puede ser explicada por la

variabilidad en el contenido de aceite (Gráfica 7), validando la teoría de que los TAG son la forma principal en la que el aguacate almacena sus lípidos y confirma que el porcentaje de aceite es un indicador preciso y fiable del contenido de TAG en el fruto.



Gráfica 7. Relación entre los porcentajes de TAG y aceite del mesocarpio de aguacates poscosecha. TAG (eje de las ordenadas) de $52.58 \% \pm 0.18$ a 74.95 ± 2.88 y aceite (eje de las abscisas) de $60.90 \% \pm 1.65$ a $69.25 \% \pm 1.36$. Los valores representan el promedio $\pm$ DE, tres repeticiones en cada medición. La relación entre variables se determinó mediante regresión lineal con correlación de Pearson ($p < 0.05$)

Los criterios anteriores son relevantes en el conocimiento de la madurez poscosecha, ya que no se había establecido una correlación entre estas dos variables para entender su comportamiento durante poscosecha, clave para el consumo y la comercialización del fruto.

7.3. Expresión de las enzimas DGAT y PDAT.

7.3.1. Extracción de ARN.

Se extrajo el ARN total a partir del mesocarpio de aguacate Hass poscosecha obteniendo una concentración media de 597 ± 149.0 ng/ μ l. Asimismo, se midió la pureza por medio de dos índices de absorbancia: contaminación por proteína (A_{260}/A_{280}) donde se obtuvo un

promedio de 1.96 ± 0.03 , mientras que en el índice para identificar contaminantes por sales y fenol (A260/A230) fue de 1.83 ± 0.05 (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración y pureza de ARN total en mesocarpio de aguacates Hass poscosecha.

ng/μl	A260/A280	A260/A230	A260	A280
597.7 ± 149.0	1.96 ± 0.03	1.83 ± 0.05	14.94 ± 3.73	7.63 ± 2.0

Debido a que los índices anteriores estuvieron cercanos al valor de referencia que es la absorbancia de 1.8 - 2.2 (Banco Nacional de ADN, 2020), indicando pureza del ARN obtenido, se procedió a la retrotranscripción y a la reacción de PCR para la expresión génica de las enzimas de interés.

7.3.2. PCR de las enzimas DGAT y PDAT.

En el presente estudio, se obtuvieron fragmentos de amplificación con tamaños de banda consistentes con los esperados: un transcrito entre 100-200 pb para el gen constitutivo 18S rRNA (Figura 8A), un transcrito entre 300-400 pb para el gen de la enzima DGAT a una temperatura de 59.9 °C (Figura 8B), y un transcrito de 500 –600 pb para el gen de la enzima PDAT a 59.2 °C (Figura 8C). Estos resultados confirman la expresión génica de DGAT y PDAT en el mesocarpio de aguacate poscosecha. La detección de la expresión de estos genes mediante PCR validó la presencia de las enzimas en este tejido, lo cual fue consistente con estudios previos que han reportado la expresión estos genes en una variedad de especies vegetales, incluyendo *Vernonia galamensis*, *Euphoria lagascae*, *Stokesia laevis*, *Ricinus communis*, *Glycine max* (Ståhl, U., *et al.*, 2004; Li, R., *et al.*, 2010; Pan, X., *et al.*, 2013).

Este hallazgo fue el fundamento para proseguir con la técnica semicuantitativa de Western Blot la cual permitió determinar por densitometría la expresión de las proteínas de interés y sus posibles cambios en las etapas poscosecha.

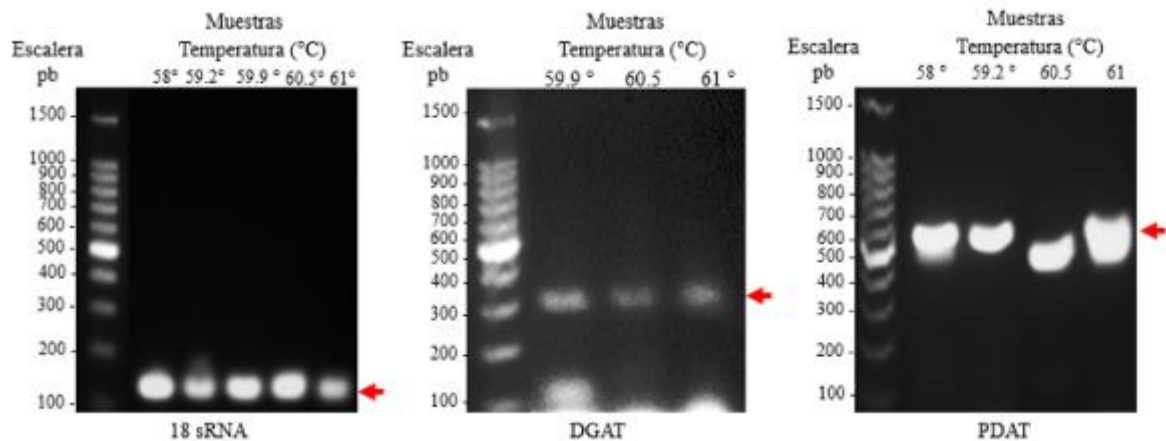


Figura 9. Expresión de los genes DGAT y PDAT mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%. Los productos de PCR se obtuvieron a partir de ADNc sintetizado desde ARNm de mesocarpio de aguacate Hass en fase de poscosecha, verificando la integridad y el tamaño de los productos correspondientes a las enzimas del metabolismo lipídico

La amplificación de los genes DGAT y PDAT se realizó con el propósito de confirmar la actividad transcripcional de estas enzimas durante la etapa poscosecha. Dado que la literatura se ha centrado mayoritariamente en la expresión génica durante la madurez fisiológica (en el árbol), este análisis permite validar la persistencia de la maquinaria enzimática necesaria para la biosíntesis de lípidos tras la recolección. De acuerdo con la literatura, en el mesocarpio del aguacate en desarrollo (días después de la plena floración), al realizarse un transcriptoma de los genes codificantes para las enzimas DGAT y PDAT, se encontró al gen de la isoforma DGAT1 como el que más expresión mostró, con un aumento mayor del doble en las etapas I a V (mayor a 100 días después de la plena floración) durante el desarrollo del fruto en el árbol; por otra parte, el gen de PDAT mostró niveles de transcripción similares con los de la enzima DGAT, basados en un mapeo de lecturas por kilobase por millón (Kilaru, A., *et al.*, 2015). En un estudio se sobre expresaron genes de las enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT1 de aguacate en *Saccharomyces cerevisiae* y hojas de *Nicotiana bethamiana* para demostrar

la preferencias de estas enzimas por ácido oleico, de manera que lograron aumentar el contenido de lípidos y la cantidad de ácido oleico en las hojas de esta misma especie, además lo anterior les permitió llevar a cabo un diseño tridimensional, comparando un modelo humano con las secuencias de ADN complementario de enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT1 del transcriptoma del aguacate, dicho diseño se basó principalmente en los aminoácidos, sitios y dominios conservados de las enzimas (Behera, J., *et al.*, 2022; Ibarra, E., *et al.*, 2015; Kilaru, A., *et al.*, 2015). Sin embargo, la transcripción de las enzimas PDAT y DGAT en poscosecha no ha sido reportada previamente en la literatura, lo que confiere una relevancia significativa a los resultados de este estudio.

A partir del análisis *in silico* de las enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT1 se originaron los modelos tridimensionales: A) DGAT como una estructura dimérica, con extremos amino de cada monómero que interactúan entre sí y con los siguientes aminoácidos conservados: histidina (His 461), glutamina (Gln 516) que estabiliza la posición del tioéster de acil-CoA para la unión del diacilglicerol (DAG), los aminoácidos de unión del sustrato Trp 423, Asn4 24, His 428, Ser 457, His 461 y Gln 462, respectivamente. B) PDAT1, se esquematiza de acuerdo con la región de la tapa (sitio para el reconocimiento específico de sustratos), la triada catalítica (Asp 585, His 638, Serina 262) y el puente salino en colores naranja, azul y verde respectivamente además del extremo amino terminal. DGAT2 no muestra similitud e identidad mayor al 20 %, lo cual impide la identificación de los dominios y de los residuos importantes para la estructura de esta enzima (Figura 7) (Behera, J., *et al.*, 2022).

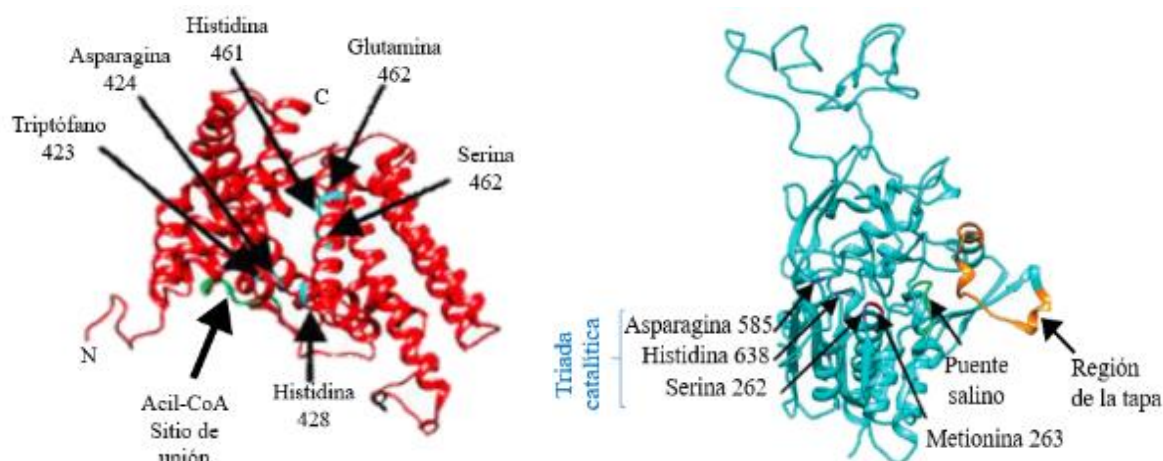


Figura 10. Estructura tridimensional de las enzimas DGAT y PDAT. 1) Estructura de aciltransferasa DGAT. 2) Estructura de aciltransferasa PDAT. Análisis *in silico*. Modificado de Behera, J., *et al.* (2022).

En semillas de *Arabidopsis thaliana* se demostró que las enzimas DGAT1 y PDAT1 intervienen en la biosíntesis de TAG, además de que cuentan con funciones importantes en el desarrollo normal del polen y las semillas de esta planta, ya que al ser suprimidas estas enzimas hay disminución de la cantidad de aceite de las semillas y un desarrollo alterado de las mismas y cuando existe la reactivación de las enzimas DGAT1 y PDAT1 se incrementa la cantidad de aceite y mejora el desarrollo de las semillas (Zhang, M., *et al.*, 2009).

7.4. Análisis bioinformático de las aciltransferasas DGAT y PDAT para *Persea americana* Mill var. Hass.

Dado que no existían anticuerpos comerciales específicos para las enzimas diacilglicerol aciltransferasas DGAT y PDAT en la especie *Persea americana* Mill optamos por el uso de anticuerpos policlonales diseñados en el alga unicelular *Chlamydomonas reinhardtii* (los únicos de venta comercial para estas enzimas). Esta decisión se fundamentó en un análisis bioinformático realizado con el programa BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool) contra la base de datos de proteínas. Este análisis mostró que *C. reinhardtii* es la única especie además del aguacate en la que se ha secuenciado y caracterizado a las enzimas DGAT y PDAT (NCBI, 2025). La conservación evolutiva de estas enzimas entre especies distintas sugiere que los anticuerpos dirigidos a las proteínas de *C. reinhardtii*, pueden reconocer y

unirse a regiones homologas en las enzimas del aguacate. Esto nos permite inmunodetectar las enzimas de interés a pesar de la falta de anticuerpos específicos en *P. americana*.

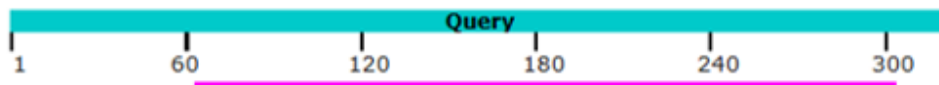
Para validar esta aproximación, se realizó una alineación de secuencias de aminoácidos entre las enzimas DGAT de *C. reinhardtii* (la fuente del anticuerpo) y la enzima DGAT de *P. americana* Mill var. Hass. Los resultados revelaron una similitud del 75 % y una identidad del 30.04 % con una significancia estadística de 4×10^{-26} que indica una coincidencia biológicamente significativa y respalda firmemente la inmunodetección de las isoformas de DGAT presentes en el mesocarpio de aguacate poscosecha.

Aunque la región exacta de los aminoácidos a la que se une el anticuerpo aún no se ha determinado, estos resultados bioinformáticos proporcionan una fuerte evidencia de la relación estructural y funcional entre las enzimas de ambas especies, confirmando que la estrategia experimental es viable y que los anticuerpos utilizados son efectivos para el fin del proyecto.

Asimismo, se obtuvo un resumen gráfico de la región de las proteínas que fueron alineadas con la distribución de los aminoácidos (200-600 en color rosa) de acuerdo con la secuencia de cada una de las proteínas en cada especie (Figura 11A) y la esquematización descriptiva de las coincidencias en los aminoácidos homólogos, así como las delecciones que existen para la enzima DGAT entre las especies *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass (Figura 11B).

A) Alignment Scores ■ < 40 ■ 40 - 50 ■ 50 - 80 ■ 80 - 200 ■ >= 200

Distribution of the top 1 Blast Hits on 1 subject clusters



B) UZX50365.1 acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase 2 [Persea americana]

Sequence ID: **Query_7071167** Length: **331** Number of Matches: **1**

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
93.2 bits(230)	4e-26	Compositional matrix adjust.	73/243(30%)	117/243(48%)	23/243(9%)
Query 64	HIWKVMASYFPGARL---IKTADLDPAGRYIFVSHPHGVIAISDWLAFATEALGFSKLFP	120			
	+I K YFP + IK DL+ A Y+F PH V+ I F+ P				
Sbjct 92	YICKYACGYFPITLIVEDIKAFDLNQA--YVFGFEPHSVLPIG-----WALANFTGFMP	144			
Query 121	GLDLRCATLASNFWPGLREYILSHGMCVGRDTLARVLTGKPGRAWLVVGGASEALLA	180			
	++ ++ F+ P LR+ G+ R L G + ++V GGA E +				
Sbjct 145	LPKIKVLASSAVFYTPFLRQIWTWLGVPATRKKFVSYLGA--GYSCIIIVPGGAREIVHM	202			
Query 181	AEGTYDLVLRNRKGFVRLALQTGASLVPVLSYGETDTFHTYIPPPCSR-AAAVMKVLKQV	239			
	+ L+ RKGfVR+A++ G LVPV YG+ + + + PC + A++ +V+K				
Sbjct 203	EHDSEVAFLLKARKGFVRIAIEMGRPLVPVFCYQGQGNVYKWW--KPCEKLLASIRVIK--	258			
Query 240	FGFSTPLCWGTGLFGGWGMLALQVPLTVVWGAPIQVDKVSSTPEAEVAALHKTYTEALQK	299			
	F+ + W G+FG + Q P+ +VVG PI+V K T EV +H+ + AL+K				
Sbjct 259	--FTPIVFW--GVFG--SPIPYQHPMHIVVGRPIEVKKNPLVTAEEDVHRQFVAALEK	312			
Query 300	LWD 302				
	L++				
Sbjct 313	LYE 315				

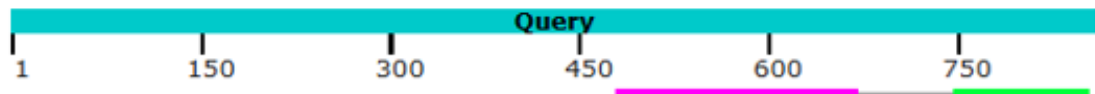
Figura 11. Distribución gráfica del alineamiento de aminoácidos para la enzima DGAT entre las especies *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass.

Para evaluar la relación evolutiva de la enzima PDAT, se compararon las secuencias de *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass que resultó con un 30.60 % de identidad en una región que abarca el 35 % de ambas proteínas, con un valor E de 8×10^{-29} . Estos resultados demuestran que existe una homología biológicamente relevante entre las enzimas PDAT de ambas especies, sugiriendo un origen evolutivo común y una probable conservación de su función.

La representación gráfica para la enzima PDAT en *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass nos muestra que en la región entre 160-391 aminoácidos hubo coincidencias de 80-200 aminoácidos con una identidad del 31 % (Figura 12B) y en la región entre 568-679 aminoácidos coincidió el 43 % (Figura 12C) en la parte terminal del carboxilo con identidad en la región de los aminoácidos 160-391 donde y se muestra a continuación (Figura 12A).

A) Alignment Scores < 40 40 - 50 50 - 80 80 - 200 >= 200

Distribution of the top 2 Blast Hits on 1 subject clusters



B) UZX50366.1 phospholipid:diacylglycerol acyltransferase 1 [Persea americana]

Sequence ID: **Query_134601** Length: **683** Number of Matches: **2**

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
109 bits(272)	8e-29	Compositional matrix adjust.	71/232(31%)	106/232(45%)	41/232(17%)
Query 477	CWFRHME	LDTVSGLDPEGIKLRAALGLEAVDYFIQGYVWVGKLVEALADVGYDSNSLVSM	536		
Sbjct 160	CWVEHMS	LDNETGLDPSGIRVRPVTGLVAADYFAPGYFVWAVLIANLARIGYEEKTMYYMA	219		
Query 537	PYDWR	LAVPLLEERDGGYTRLRRTIEQLVELT-GERVVVTSHSYGENVVVRQNSR-----	589		
Sbjct 220	AYDWR	ISFQNTFVRDQSLSRISNIELMVATNDGKKVVVIPHSMGVLYFLHFMKWVEAPA	279		
Query 590	-----RRRL	CGASCRA-----GETRDTAQLGALA-GFLTSMNV-	621		
Sbjct 280	PMGGGG	GGPDWCAKHIKAVMNIGGPF LGVPKAAAGL FSAEARDVAVARAIA PGVLDSDYLG	339		
Query 622	--PRAAR	TRVWRSWGASYAMLPGVGGPGVWGNASWAPDD----TPEMRANRRT	667		
Sbjct 340	LQTLQ	HVMRMTRTWDSTMSIPKGGDTIWGGLDWSPEEGYDCSPKKQKNNDT	391		

C)

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
76.6 bits(187)	2e-18	Compositional matrix adjust.	46/108(43%)	58/108(53%)	8/108(7%)
Query 744	GVHISD	GDGTVPLLSLGLMCRGGWREAGHLNPGAMRVVAGRVTRYKHKAVSMLQDARG	803		
Sbjct 578	GVYSVD	GDETVPVLSAGYMCAGWRGKTRFNPSIIRT-----FIREYNHAPPSTLLEGR-	631		
Query 804	GPAAAA	HIDILGNDVLRDVTIVVAGRADEL--ADIVVSDIDIRIAAAV	849		
Sbjct 632	GTQSGA	HVDIMGNFALIEDVIRVAAGATGEDLGQDVYSIDIFKWSEKI	679		

Figura 12. Distribución gráfica del alineamiento de aminoácidos para la enzima PDAT entre las especies *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass.

La homología entre las secuencias de aminoácidos de las enzimas DGAT y PDAT en *P. americana* Mill var. Hass y *C. reinhardtii* es un hallazgo biológicamente significativo, lo cual indica que las dos enzimas tienen un origen evolutivo común, comparten una secuencia de aminoácidos similar porque descienden de una misma enzima ancestral. A nivel funcional, esta similitud sugiere que ambas enzimas probablemente tienen una estructura tridimensional similar y, por lo tanto, realizan una función biológica comparable. En este caso, ambas

enzimas están involucradas en la biosíntesis y el metabolismo de los TAG. La conservación de esta estructura y función a lo largo de la evolución en especies tan distintas como un *C. reinhardtii* y *P. americana* Mill var. Hass indica importancia fundamental de esta enzima para el metabolismo celular.

7.5. Proteínas totales en homogenados de aguacate poscosecha.

Para la cuantificación de la concentración de proteínas se realizó la metodología micro Bradford con la estandarización de la curva de calibración con proteína estándar de BSA como se describió anteriormente.

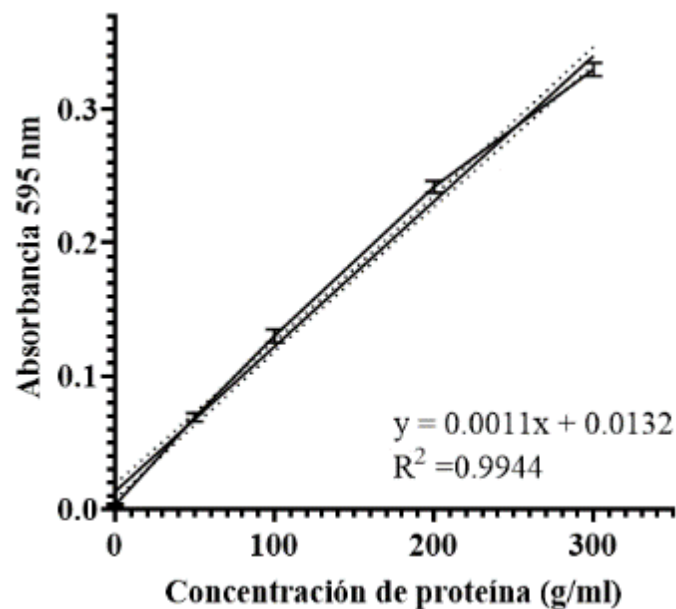
Para medir la concentración de proteínas en los homogenados nos basamos en una metodología semicuantitativa y colorimétrica en la cual se produce una tonalidad azul proporcional a la cantidad de proteína (Bradford, M. M. 1976). En la Figura 13 podemos apreciar una curva de calibración de 0 a 300 μg por mililitro de proteína estándar BSA en los carriles 1 a 5 de la placa y enseguida las muestras correspondientes a los homogenados del mesocarpio de aguacate en los carriles 6 a 12, los cuales tuvieron tonalidades azul claro, después fueron analizados con base a la absorbancia obtenida a 595 nm.



Figura 13. Patrón colorimétrico representativo de la curva de calibración de BSA. Concentración: 0, 50, 100, 200 y 300 $\mu\text{g/ml}$ y muestras de aguacate en presencia de reactivo

de Bradford a una longitud de onda de 595 nm. La concentración de proteína es proporcional a la intensidad de la coloración azul.

La curva de calibración obtenida presentó un coeficiente de variación estándar intra-ensayo de 0.85 % y de inter-ensayo de 1.12 % con un coeficiente de correlación de 0.99; estos valores señalan veracidad en los resultados obtenidos al ser precisos, repetibles y reproducibles, ya que se encuentran en un valor $< 5\%$ de coeficiente de variación requerido que indica un nivel de confianza del 95% en los resultados obtenidos en el presente trabajo (Radenti, J. M., *et al.*, 2016).



Gráfica 8. Curva estándar BSA por el método de micro Bradford. Se utilizó una solución de BSA stock de 1mg/ml de donde se prepararon las concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 300 $\mu\text{g/ml}$ (eje de las abscisas). Se obtuvo la absorbancia y concentración de proteínas ($\mu\text{g/ml}$) con un espectrofotómetro a 595 nm. Promedio $\pm$ DE, $n= 6$. La relación entre variables se determinó mediante regresión lineal ($p < 0.05$)

Con base en la curva de calibración, se obtuvo la fórmula $y = 0.0011x + 0.0132$, de la que se despejó a “x” (concentración), $x = (y - 0.0132) / 0.0011$. El coeficiente de correlación (r) evalúa la fuerza de la relación lineal entre dos variables (absorbancia y concentración), lo cual indica que una correlación cercana a 1 o con valor 1 será alta entre las dos variables

(Vinuesa, P., 2016), de tal modo que en el presente trabajo se obtuvo $r = 0.9944$ quiere decir que el 99% de la concentración (variable dependiente) es predicha por la absorbancia (variable independiente) y el resultado es fiable para continuar con el cálculo de la concentración de proteína en las muestras de aguacate.

La Tabla 4 detalla las concentraciones de proteínas totales para cada aguacate estudiado. Se observó un incremento en la concentración de proteína a medida que aumenta el porcentaje de materia seca y el fruto avanza hacia la senescencia.

Durante la etapa de consumo, se registró una concentración intermedia de proteína. Sin embargo, la senescencia presentó la concentración más alta: aproximadamente el doble que en la etapa de cosecha y 1.8 veces más que en la etapa de consumo.

Tabla 4. Contenido de proteínas en mesocarpio de aguacates poscosecha.

% Materia Seca	Concentración de proteína (mg/g de MS)	Etapos cosecha	Proteína (mg/g de MS) por etapa poscosecha
23.76	27.64 ± 1.2	Cosecha	27.64 ± 1.2 ^a
26.37	22.11 ± 0.5	Consumo	32.02 ± 0.21 ^b
27.42	26.62 ± 0.9		
29.64	35.05 ± 0.5		
30.07	44.28 ± 0.6		
30.31	58.71 ± 1.0	Senescencia	57.75 ± 0.39 ^c
32.28	67.94 ± 1.2		
34.22	46.58 ± 0.4		

*mg/g MS: Miligramos de proteína por gramos de materia seca.

Los valores promedio ± DE se analizaron por ANOVA seguido de prueba post-hoc Tukey. Letras distintas reflejan diferencia significativa entre las etapas poscosecha del aguacate. $n=5$, $p<0.0001$.

La literatura reporta un incremento constante en el contenido de proteínas solubles durante la maduración poscosecha del aguacate. Pedreschi, R., *et al.* (2014) registraron un aumento

de 17.8 a 34.8 mg/g de materia seca (MS) entre los 2 y 16 días poscosecha. Esta tendencia es consistente con lo observado por Blake (2010), quien, mediante el método de Bradford, reportó un incremento de 15 mg/g de MS al inicio del estudio hasta alcanzar 33 mg/g de MS a los 11 días poscosecha (Blake, R. J., *et al.*, 2010).

Los resultados en el presente trabajo coinciden con la tendencia ascendente reportada; sin embargo, los valores obtenidos (22.11 a 67.94 mg/g de MS entre los días 0 al día 19) superaron los niveles citados en la literatura. Este mayor contenido proteico podría atribuirse a una mayor síntesis de enzimas, diferencias genotípicas entre las variedades estudiadas o las condiciones de fertilización nitrogenada en el cultivo.

7.6. Proteínas solubles en el homogenado de aguacate poscosecha por electroforesis SDS-PAGE.

En la Figura 14 se observa un fotoluminograma representativo del patrón electroforético del homogenado de mesocarpio aguacate poscosecha con intervalo de 23.76 a 34.22 % de materia seca. En dicho análisis electroforético se pudieron observar las bandas de proteínas estimadas donde teóricamente se encuentran ubicados los pesos moleculares de las isoformas de las aciltransferasas DGAT y PDAT y

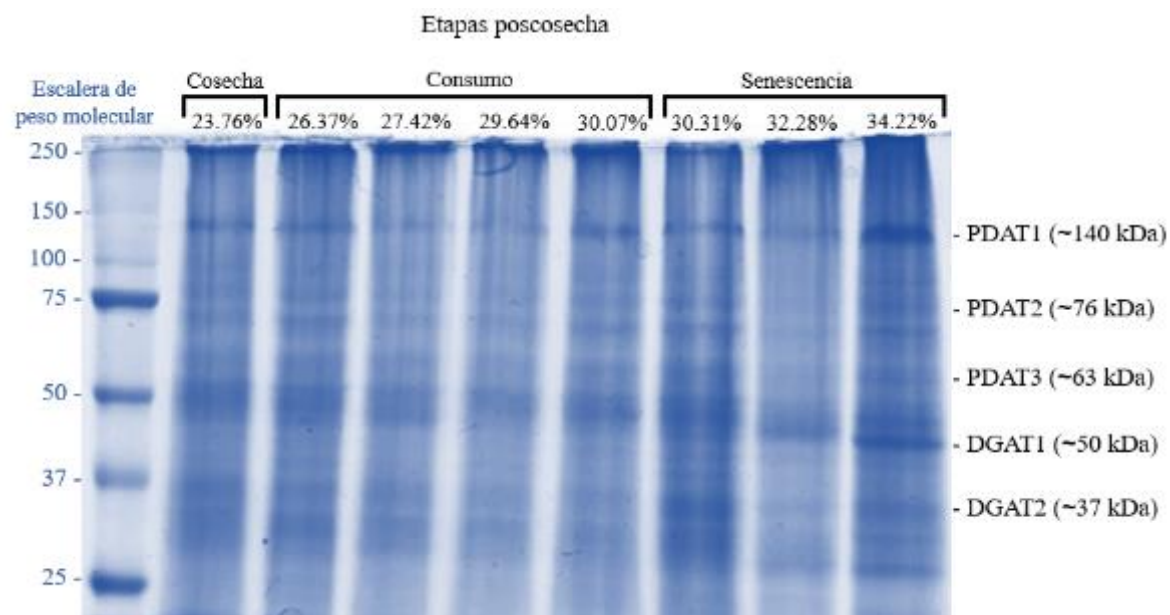


Figura 14. Análisis electroforético de la posible ubicación por peso molecular de las aciltransferasas DGAT y PDAT en mesocarpio de aguacate (*Persea americana* Mill var.

Hass) poscosecha. Pesos moleculares: DGAT1 (~ 50 kDa), DGAT2 (~ 37 kDa), PDAT1 (~ 140 kDa), PDAT2 (~ 76 kDa) y PDAT3 (~ 63 kDa). Se utilizaron extractos proteicos de 8 aguacates (80 µg de proteína total/carril) en diferentes estadios de maduración poscosecha (cosecha n=1, consumo n=4 y senescencia n=3).

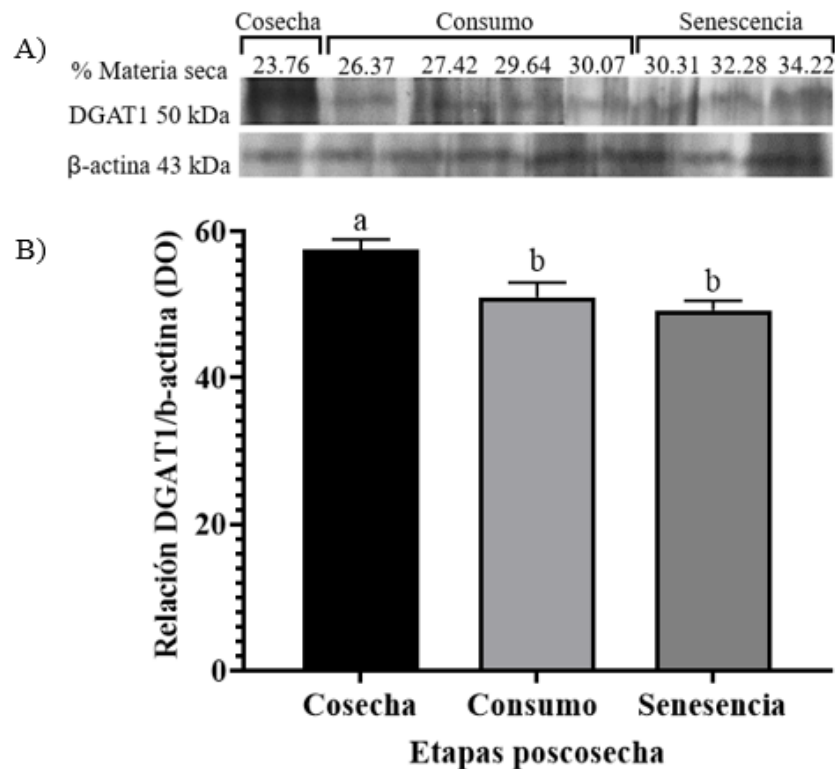
Un análisis bioinformático de secuencias de ADN complementario de longitud completa *in silico* reveló las masas moleculares estimadas para las enzimas DGAT1, DGAT2 y PDAT1 en aguacate: DGAT1 con 61.2 kDa, DGAT2 con 37.2 kDa y PDAT1 con 75.8 kDa (Behera, J., *et al.*, 2023). Estos datos concuerdan con los hallazgos de Cao, H. (2011), quien analizó 117 secuencias de DGAT1 y DGAT2 de 70 organismos (incluyendo plantas, animales, hongos y humanos) las cuales se encontraron presentes en varias especies, siendo DGAT1 la más conservada. Adicionalmente, Cao, H. (2011) reportó masas moleculares de 58.79 ± 4.8 kDa para DGAT1 y 38.92 ± 3.3 kDa para DGAT2, respectivamente. Un análisis proteico de 86 genes de PDAT de diversas especies de plantas y algas mostró que en las plantas la proteína hipotética tiene una masa molecular promedio de 74.7 kDa (Pan, X., *et al.*, 2015). Esta observación es relevante, pues sugiere la posibilidad de que la enzima PDAT1 en aguacate se encuentre en forma de dímero, especialmente si consideramos que en *Arabidopsis thaliana* se reportó una masa molecular de 140 kDa para esta misma enzima.

Demski (2020) clasificó las enzimas PDAT en dos familias, PDAT1 y PDAT2. Sin embargo, el número de isoformas de PDAT y sus patrones de expresión varían significativamente entre especies. Por ejemplo, en el aceite de semilla de algodón se identificaron dos isoformas de PDAT con masas moleculares promedio de 73.46 kDa para PDAT1 y 82.43 kDa para PDAT2. De manera similar, en el lino se detectaron hasta seis isoformas de PDAT (Zang, X., *et al.*, 2019).

7.7. Inmunoidentificación de enzimas aciltransferasas DGAT y PDAT.

La abundancia relativa de las isoformas de las enzimas DGAT y PDAT se cuantificó por densitometría óptica, utilizando β-actina como control de carga. Para la enzima DGAT, se identificaron dos isoformas mediante inmunodetección. De ellas, la isoforma DGAT1 presentó su máximo nivel de expresión en la etapa de cosecha (57.46 %), siendo este valor 1.2 veces superior al registrado durante la senescencia (48.18 %) y diferencias significativas

de $p < 0.05$ entre cosecha con consumo y senescencia (Gráfica 9). Estos resultados indican que la expresión de DGAT1 disminuye a medida que el fruto avanza en su maduración poscosecha debido a una disminución de la actividad de esta enzima porque el fruto ya no requiere seguir almacenando los ácidos grasos en forma de TAG.



Gráfica 9. Presencia y densitometría DGAT1 en poscosecha. A) Luminograma representativo de las muestras de mesocarpio en aguacate Hass en relación con β -actina como proteína de cargado (abajo). B) Densitometría DGAT1/ β -actina de acuerdo con etapas poscosecha. Los datos representan el promedio $\pm$ DE. Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra, $p < 0.001$ - $p < 0.05$. Letras diferentes sobre columnas indican que existe una diferencia significativa de la DGAT1 en las etapas poscosecha en mesocarpio de aguacate Hass.

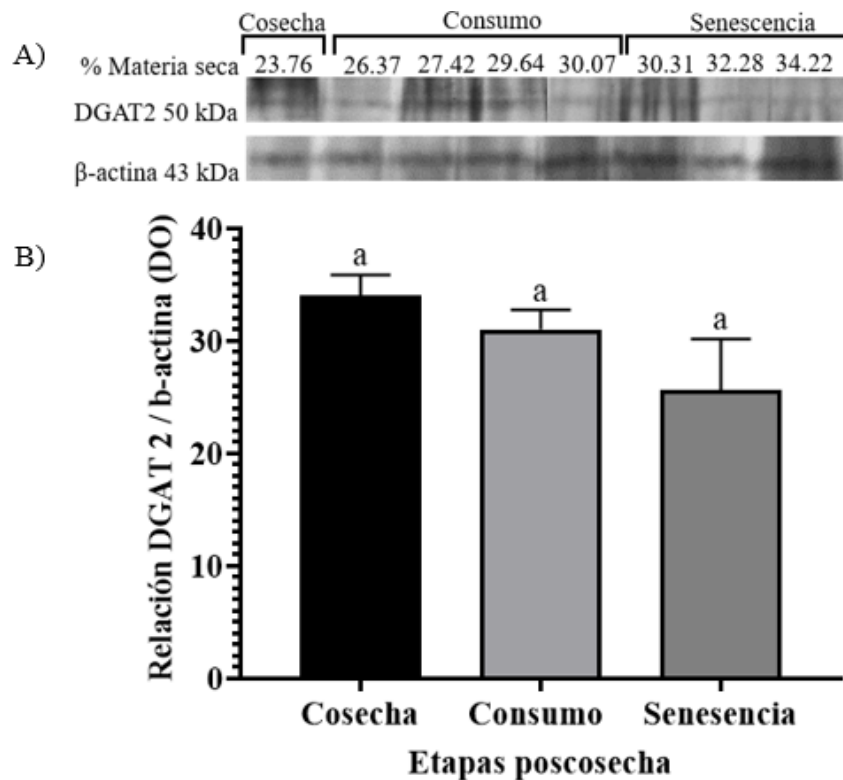
De acuerdo con un estudio llevado a cabo con secuencias de la enzima DGAT1 de aguacate expresadas en *Saccharomyces cerevisiae* y en hojas de *Nicotiana benthamiana* la enzima complementó la deficiencia de biosíntesis de TAG en la cepa de levadura H1246, elevó el

contenido lipídico celular total y se identificó su preferencia por el ácido oleico en comparación con el ácido palmítico (Behera, J., *et al.*, 2023).

En un estudio realizado en aceite de lino se inmunoidentificó la enzima DGAT1 y se encontró que esta enzima transfiere de manera inespecífica fracciones de acilo a AG, resaltando su capacidad para trabajar con distintos ácidos grasos como ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linoleico (Pan, X., *et al.*, 2013).

En el presente estudio la isoforma DGAT1 se expresó de manera constitutiva en todas las etapas poscosecha evaluadas (cosecha, consumo y senescencia). Sus niveles de expresión fueron significativamente más altos en la cosecha, para luego descender y mantenerse en niveles estables, sin diferencias significativas, durante el consumo y la senescencia, como se muestra en la Gráfica 9.

Por su parte, la isoforma DGAT2 mostró una expresión decreciente a lo largo del tiempo. Se detectaron sus niveles más altos en la cosecha (34.04 %) y en senescencia su abundancia relativa disminuyó notablemente (21.53-30.51 %) sin diferencias significativas entre las etapas poscosecha (Gráfica 10). Lo anterior puede estar relacionado a una disminución de la actividad de esta enzima a lo largo de la maduración poscosecha en el mesocarpio del fruto.



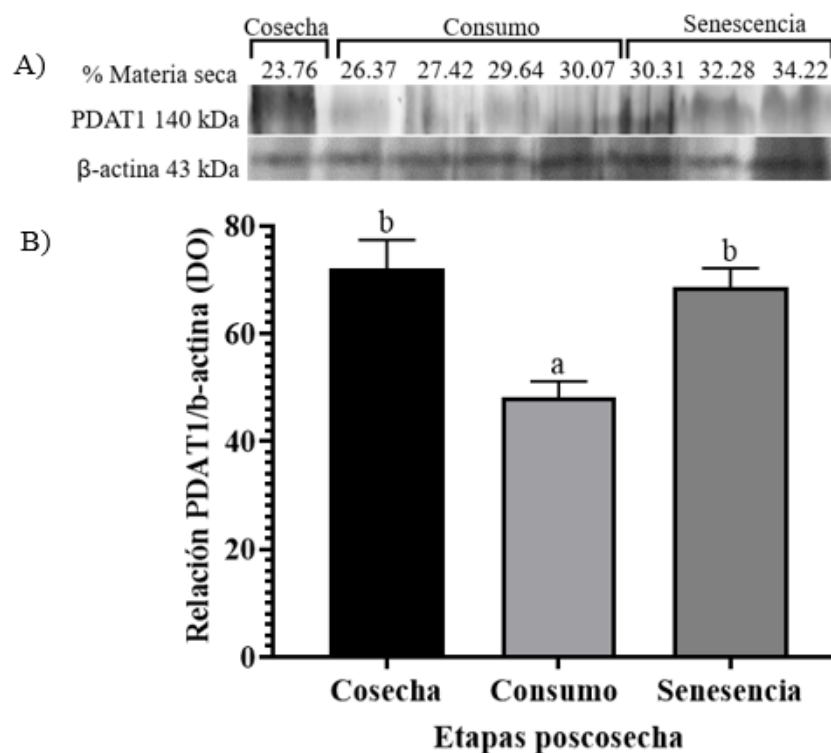
Gráfica 10. Presencia y densitometría DGAT2 en poscosecha. A) Luminograma representativo de las muestras de mesocarpio en aguacate Hass en relación con β -actina como proteína de cargado (abajo). B) Densitometría DGAT2/ β -actina de acuerdo con etapas poscosecha. Los datos representan el promedio $\pm$ DE. Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra, $p < 0.001$ - $p < 0.05$. La misma letra sobre columnas indica que no existe una diferencia significativa.

En el presente estudio, se confirma que DGAT1 es la isoforma dominante en el mesocarpio de aguacate durante la poscosecha, mostrando una mayor abundancia relativa que DGAT2. Este resultado a nivel de proteína podría asociarse con reportes previos a nivel de transcritos, donde el gen de DGAT1 exhibió una expresión al menos dos veces superior a la de DGAT2

durante el desarrollo del fruto (Kilaru, A., *et al.*, 2015), sin embargo, no siempre el transcrito completo llega a traducirse a proteína.

La predominancia de DGAT1 puede tener una base funcional. Se ha reportado que DGAT2 está implicada en la síntesis de ácidos grasos inusuales (p. ej., epoxi e hidroxil) en otras oleaginosas (Behera, J., *et al.*, 2023) y además se ha demostrado que tiene mayor actividad cuando se requiere una síntesis masiva de TAG en presencia de ácido esteárico. Dado que el perfil lipídico del aguacate carece de estos compuestos, es plausible que la ruta metabólica dependiente de DGAT1 sea la vía principal para la síntesis de TAG característicos del aguacate.

El análisis de inmunodetección para la enzima PDAT reveló la presencia de tres isoformas. La abundancia de PDAT1 fue mayor en la etapa de senescencia ($72.3.3 \pm 5.22$ %), indicando que, al momento del corte, el fruto está en su máximo vigor metabólico por una producción masiva de TAG por transferencia de lípidos de membrana (PDAT). Posteriormente, sus niveles disminuyeron en la etapa de consumo a 48.13 ± 2.99 %. Finalmente, en la senescencia, la expresión de la isoforma disminuyó a 68.50 ± 3.61 % como se pudo observar en la Gráfica 11. El análisis estadístico indica que se encontró diferencia significativa entre cosecha-consumo y consumo-senescencia. Los resultados nos indican que en las etapas poscosecha la actividad de la PDAT1 es necesaria para prolongar la vida media de los lípidos, ya que la actividad de esta enzima se caracteriza por actuar a través de los acilos contenidos en los fosfolípidos.



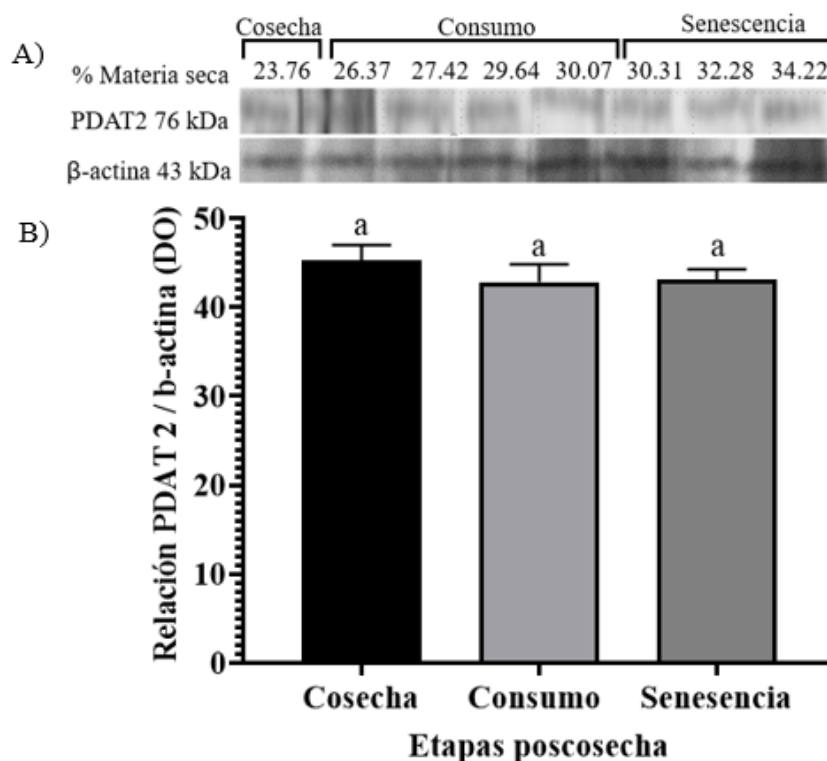
Gráfica 11. Presencia y densitometría PDAT1 en poscosecha. A) Luminograma representativo de las muestras de mesocarpio en aguacate Hass en relación con β -actina como proteína de cargado (abajo). B) Densitometría PDAT1/ β -actina de acuerdo con etapas poscosecha. Los datos representan el promedio $\pm$ DE. Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra, $p < 0.001$ - $p < 0.05$. Letras diferentes sobre columnas indican que existe una diferencia significativa de la DGAT1 en las etapas poscosecha en mesocarpio de aguacate Hass.

Behera, J., *et al.*, 2023, encontró que PDAT1 es funcional en los tejidos de aguacate sin semilla, la expresión de esta enzima aumentó el contenido total de lípidos en ~ 2 veces y su sobreexpresión transitoria elevó el contenido total de lípidos en hojas de *Nicotiana bethamiana*. En el aceite de *Ricinus communis* se encontró que las enzimas de PDAT transfieren directamente los ácidos grasos de la posición sn-2 de fosfatidilcolina (PC) a la posición sn-3 de DAG, para producir TAG y PDAT1 aumentó el porcentaje de ácidos hidroxilado (HFA) un 10% en el aceite de semilla (van Erp., H., *et al.*, 2010). Por otro lado, en aceite de lino se evaluó la presencia de las dos isoformas de PDAT y se encontró mayor

presencia de PDAT2 en comparación con PDAT1, además de demostrar la capacidad para sintetizar trinolenina, principal especie molecular de TAG en el aceite de lino y tener selectividad por sustratos de ácido α -linolénico (ALA) en comparación con otros ácidos grasos (Pan, X., *et al.*, 2013).

El presente trabajo constituye una contribución relevante al conocimiento científico, al identificar por primera vez la presencia proteica de las enzimas aciltransferasas durante las etapas de poscosecha en el mesocarpio del aguacate Hass.

La isoforma PDAT2 mostró niveles de expresión estables a lo largo de las etapas poscosecha y su abundancia relativa se mantuvo consistente por encima del 40 %. Aunque se observó un nivel máximo en la cosecha (45.18 %) y un mínimo durante el consumo (40.51 %), esta variación no fue estadísticamente significativa (Gráfica 12).



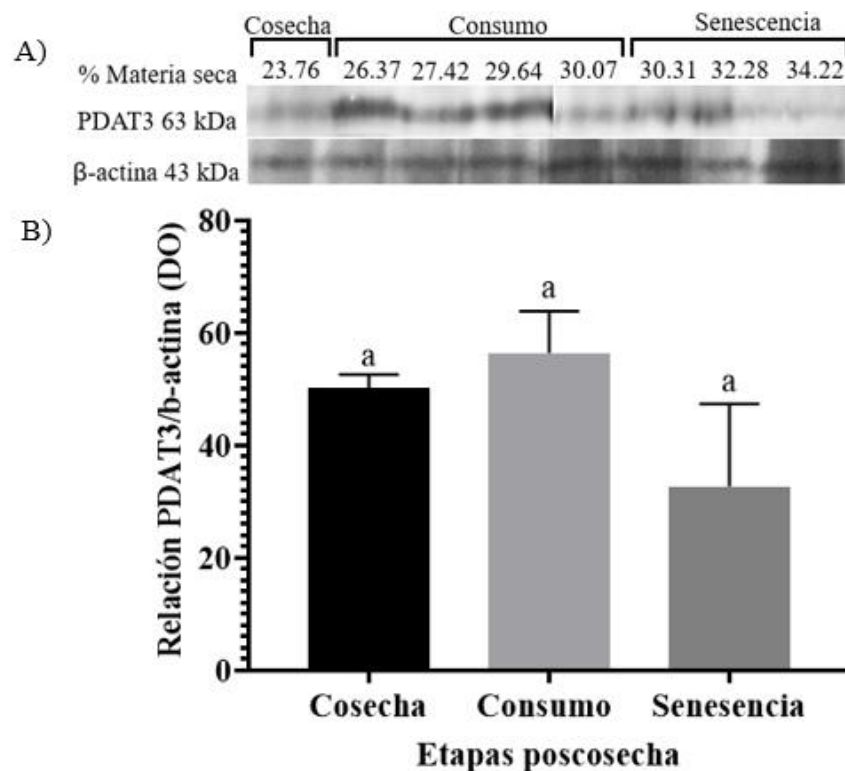
Gráfica 12. Presencia de isoforma PDAT2 y densitometría de PDAT2/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca. A) Luminograma representativo de la inmunodetección

de PDAT2 (arriba) en mesocarpio de aguacate Hass. β -actina como proteína de cargado (abajo). B) Densitometría de relación PDAT2/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca determinado en los mesocarpios de aguacate Hass. Los datos representan el promedio $\pm$ DE, ($p < 0.001$ - $p < 0.05$). Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra. La misma letra sobre columnas indica que no existe una diferencia significativa.

Se ha evidenciado que, en el aceite de *Ricinus communis*, la enzima PDAT2 no desempeña un papel fundamental en la síntesis de TAG, a pesar de su alta expresión durante el desarrollo de la semilla (van Erp., H., *et al.*, 2010). Este hallazgo podría ser similar a lo observado en nuestro estudio, donde esta isoforma está presente de forma constante en el mesocarpio, pero no muestra cambios en las etapas de poscosecha. En contraste, un estudio de caracterización de enzimas de síntesis de TAG en el aceite de *Linum usitatissimum* L. reveló un comportamiento distinto. Mediante Western blot, se determinó que PDAT2 presentó una mayor abundancia que PDAT1 en la cepa de levadura H1246, especialmente al ser cultivada con ácido α -linolénico (ALA), lo que indica una mayor acumulación de PDAT2 por parte de la cepa (Pan, X., *et al.*, 2013).

Con relación a los hallazgos anteriores, en el presente trabajo se observó una mayor presencia de PDAT1 (~85%) que de PDAT2 en el mesocarpio de aguacate. Además, PDAT1 fue evidente en la etapa de cosecha y en la de senescencia, mientras que PDAT2 (~45%) se mantuvo constante a lo largo de toda la poscosecha sin mostrar diferencias significativas.

La isoforma PDAT3 mostró un patrón de expresión decreciente durante la maduración poscosecha (Gráfica 13). Su máxima abundancia relativa (62.87 %) se detectó en la etapa de consumo, a partir de este punto, sus niveles disminuyeron significativamente, alcanzando su punto más bajo en la senescencia. El nivel de expresión en la etapa de consumo fue 2.9 veces superior al observado en la senescencia.



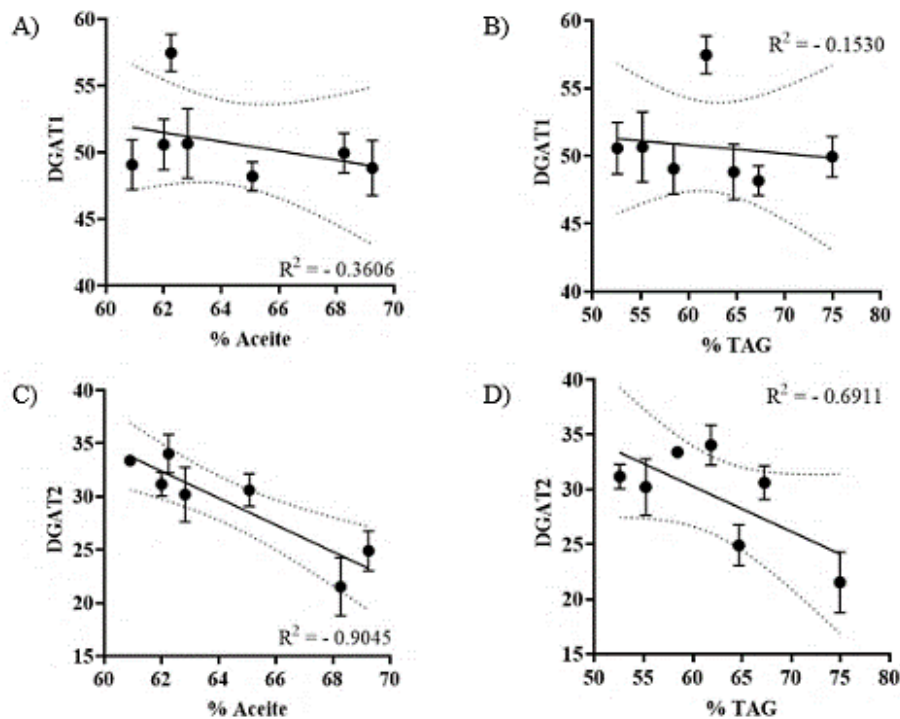
Gráfica 13. Presencia de isoforma PDAT3 y densitometría de la PDAT3/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca. A) Luminograma representativo de las muestras de mesocarpio en aguacate Hass en relación con β -actina como proteína de cargado (abajo). B) Densitometría de la presencia enzimática a través de la relación PDAT3/ β -actina de acuerdo con el porcentaje de materia seca determinado en los mesocarpios de aguacate Hass poscosecha. Los datos representan el promedio $\pm$ DE. Análisis estadístico por ANOVA de una vía con post-hoc Tukey, tres repeticiones del experimento en cada muestra, $p < 0.001$ - $p < 0.05$. Letras diferentes sobre columnas indican que existe una diferencia significativa de la PDAT3 en las etapas poscosecha en mesocarpio de aguacate Hass.

A nivel de presencia proteica de la enzima PDAT3 solo ha sido identificada y caracterizada en semillas maduras de *Linum usitatissimum* L., obteniendo un tamaño de 63.09 kDa y un punto isoelectrico de 6.19, además de 575 aminoácidos. Por lo tanto, estos resultados son relevantes, ya que representan la primera aportación sobre el comportamiento de la enzima PDAT3 en el mesocarpio del aguacate Hass durante las etapas poscosecha.

7.8. Correlaciones de isoformas DGAT y PDAT con porcentaje de aceite y contenido de TAG.

7.8.1. Isoformas de DGAT.

El análisis de la relación entre las isoformas de la enzima DGAT y la acumulación de lípidos reveló patrones distintos (Gráfica 14). La isoforma DGAT1 mostró una correlación negativa baja tanto con el contenido de aceite (coeficiente de -0.3606) como con el de TAG (coeficiente de -0.1530), esto sugiere que a medida que el aguacate acumula mayor cantidad de aceite y TAG, la presencia de DGAT1 tiende a disminuir. Esta correlación leve podría indicar que DGAT1 no es la isoforma predominante en la madurez poscosecha o que su función se limita a etapas tempranas de maduración.

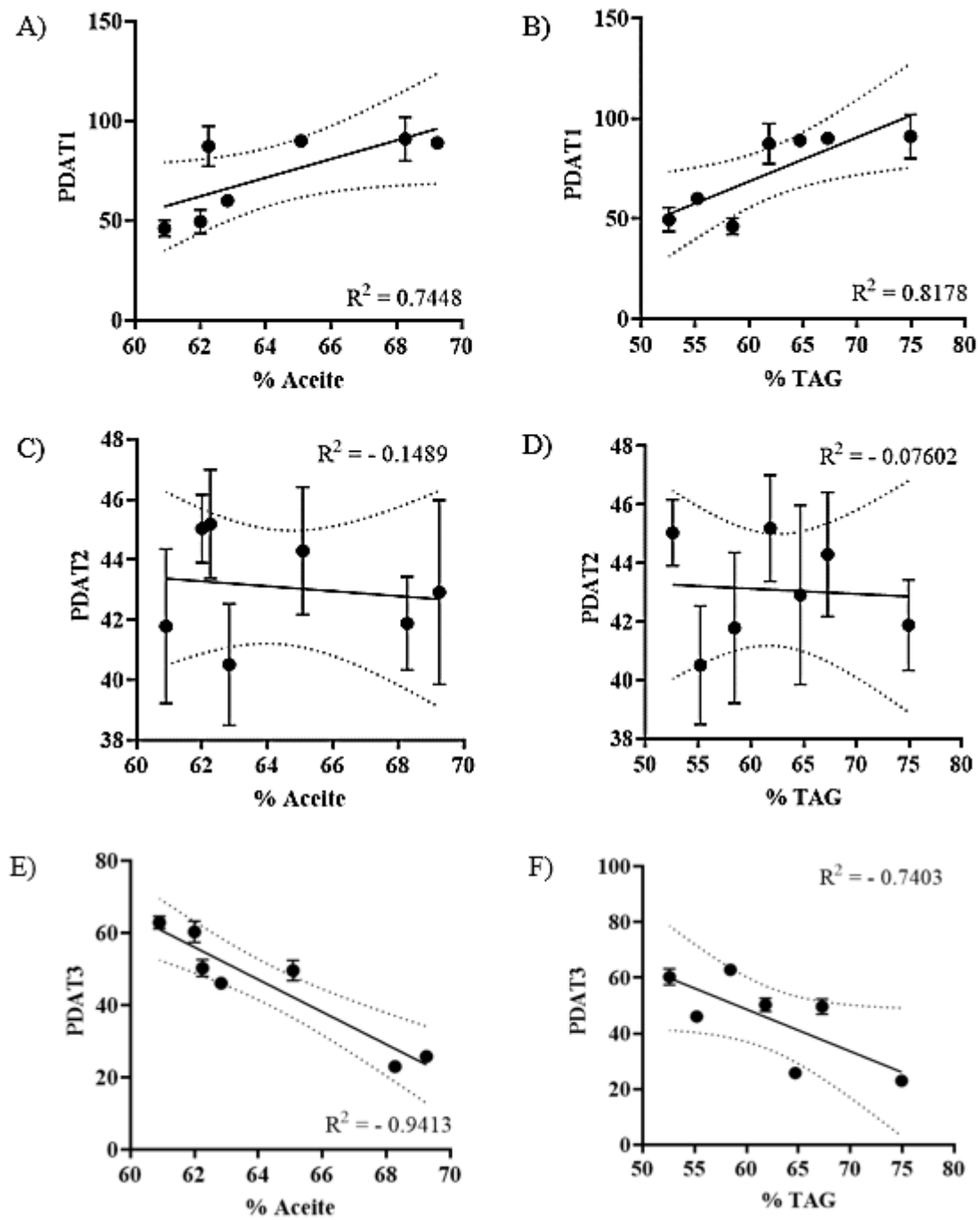


Gráfica 14. Correlación de las isoformas de DGAT con contenido de aceite y TAG. Los valores representan el promedio $\pm$ DE (n = 8). La relación entre variables se determinó mediante regresión lineal con correlación de Pearson ($p < 0.05$).

En contraste, la isoforma DGAT2 presenta una correlación negativa alta con el contenido de aceite (R^2 -0.9045) y con el de TAG (R^2 -0.7654), lo cual es un hallazgo clave, ya que indica una relación inversa bien definida: a medida que el aguacate madura y disminuye su contenido de lípidos (al ser consumidos en la respiración), la presencia de la DGAT2 aumenta. Este comportamiento propone que en el contexto de la maduración poscosecha del aguacate, la DGAT2 participa en la reorganización o regulación de los lípidos, más que en su acumulación inicial. La alta correlación negativa con el contenido de aceite y TAG subraya su importancia en la dinámica metabólica del aguacate, en donde la isoforma DGAT2 desempeña un papel más crucial en la biosíntesis masiva de aceite a medida que el fruto madura (Gráfica 14).

7.8.2. Isoformas de PDAT.

El estudio de las isoformas de la enzima PDAT en el mesocarpio del aguacate reveló patrones de correlación distintos con la acumulación de lípidos (Gráfica 15). La isoforma PDAT1 mostró una correlación positiva alta tanto con el contenido de aceite (R^2 0.7448), Gráfica 15A) como con la cantidad de TAG (R^2 0.8178, Gráfica 15B). Estos coeficientes indican que a medida que el aguacate madura y acumula lípidos, la presencia de la enzima PDAT1 también se incrementa de manera directamente proporcional. Este hallazgo sugiere que la PDAT1 es la principal isoforma implicada en la síntesis y almacenamiento de lípidos durante la maduración poscosecha. Es importante destacar que, de todas las isoformas de PDAT estudiadas, la PDAT1 fue la única que presentó una correlación positiva con la acumulación de aceite.



Gráfica 15. Correlación de las isoformas de PDAT con contenido de aceite y TAG. Los valores representan el promedio $\pm$ DE (n = 8). La relación entre variables se determinó mediante regresión lineal con correlación de Pearson ($p < 0.05$).

En contraste, las isoformas PDAT2 y PDAT3 mostraron una relación inversa con el contenido de lípidos. PDAT2 se encontró una correlación negativa y baja tanto con el contenido de aceite (R^2 -0.1489, Gráfica 15C) como con el de TAG (R^2 -0.0762, Gráfica 15D).

PDAT3 presentó una correlación negativa y alta con el contenido de aceite (R^2 0.9413, Gráfica 15E) y una correlación negativa alta con el TAG (R^2 -0.7403, Gráfica 15F). La alta correlación negativa de la PDAT3 indica que su presencia aumenta significativamente a medida que el contenido de aceite y TAG en el aguacate disminuyen. Esto sugiere que, a diferencia de la PDAT1, las isoformas PDAT2 y PDAT3 podrían no estar directamente involucradas en la biosíntesis de lípidos, sino que podrían tener una actividad enfocada en la movilización o degradación de los lípidos e incluso en otras funciones estructurales de las membranas durante la etapa de senescencia del fruto.

En este trabajo no se realizó la composición de los TAG, pero sí su cuantificación. Esto se debe a que las enzimas de interés, DGAT y PDAT, participan directamente en la formación de estos compuestos en el aguacate (Behera, J., *et al.*, 2023). La relevancia de este estudio radica en que, hasta ahora, no se había cuantificado la cantidad de TAG en aguacates poscosecha mientras se detectaban simultáneamente estas enzimas. Además, la investigación de la relación entre la cantidad de TAG y las isoformas de DGAT y PDAT es una novedad, ya que estas enzimas tampoco habían sido identificadas previamente en el tejido vegetal del aguacate durante la poscosecha.

Las correlaciones obtenidas arrojaron datos interesantes sobre la asociación de las enzimas con los porcentajes de TAG y aceite.

De acuerdo con los resultados, la isoforma DGAT1 mostró una regulación dependiente de la maduración, con una abundancia significativamente mayor en la etapa de cosecha en comparación con la senescencia. Esto sugiere que DGAT1 desempeña un rol principal durante la madurez fisiológica del fruto y su actividad se regula a la baja durante el almacenamiento y la senescencia.

En comparación, DGAT2 mostró una función más específica y regulada, manteniendo una alta abundancia en las etapas de cosecha y consumo. Esta distribución indica una mayor

participación en la síntesis y acumulación inicial de lípidos, cuya actividad se reduce cuando el fruto entra en las etapas finales de su vida útil.

A pesar de la alta abundancia de DGAT1 y DGAT2, ambas isoformas mostraron una correlación negativa con el contenido de aceite y de TAG. Este resultado sugiere que la ruta canónica de síntesis de TAG mediada por DGAT, si bien es crucial durante el desarrollo del fruto en el árbol, presenta una menor actividad o regulación a la baja durante la maduración poscosecha. Este resultado subraya la importancia de la regulación postraducciona l y demuestra que la abundancia de una enzima no siempre equivale a su actividad catalítica. La ruta de síntesis vía DGAT, aunque abundante, parece ser suprimida o menos activa después de la cosecha.

8. Conclusiones

8.2. Comportamiento y rol de las isoformas PDAT

El hallazgo más significativo es la fuerte correlación positiva de PDAT1 con el contenido de aceite ($R^2 = 0.7448$) y de TAG ($R^2 = 0.8178$). Este dato demuestra que la ruta metabólica mediada por PDAT es la vía anabólica predominante para la acumulación de lípidos en la etapa poscosecha. A medida que el aguacate madura e incrementa su materia seca, la actividad de PDAT1 impulsa la síntesis de aceite, el principal indicador de calidad y valor nutricional.

El análisis individual de las isoformas PDAT revela roles distintos:

- PDAT1: Inicialmente actúa como la principal enzima anabólica en la síntesis final de aceite en la cosecha. Posteriormente, durante la senescencia, se mantiene activa como parte del mecanismo de reciclaje y protección celular.
- PDAT2: Su presencia constante comprueba una función metabólica basal o de mantenimiento en el mesocarpio del aguacate durante su vida poscosecha.
- PDAT3: Mostró un patrón de expresión decreciente durante la madurez poscosecha. Esto indica que no es una enzima de mantenimiento general, sino que probablemente participa en rutas metabólicas específicas que generan o preservan atributos de

calidad característicos del fruto o en funciones estructurales intermembranales, siendo su rol crucial en esta etapa y disminuyendo al entrar en la senescencia.

Al igual que DGAT1 y DGAT2, las isoformas PDAT2 y PDAT3 también mostraron una correlación negativa con el aceite y los TAG, lo que sugiere que actúan como enzimas especialistas en etapas anteriores o en procesos metabólicos distintos a la acumulación masiva de aceite que ocurre durante la poscosecha.

Este trabajo es pionero al lograr la inmunoidentificación directa de las isoformas proteicas de PDAT y DGAT en el tejido de aguacate. A diferencia de estudios previos centrados únicamente en la expresión génica (ARNm), nuestro enfoque a nivel de proteína ofrece una visión más precisa de la actividad bioquímica realmente presente en el fruto.

Esta investigación redefine nuestra comprensión de la fisiología poscosecha del aguacate. Se reveló la compleja y coordinada dinámica de las aciltransferasas en el mesocarpio durante la maduración, identificando a la isoforma PDAT1 como la principal enzima responsable de la biosíntesis o mantenimiento de aceite y TAG una vez que el fruto ha sido cosechado. La calidad final del fruto, en términos de contenido y tipo de aceite, depende fundamentalmente de la actividad de la isoforma PDAT1.

Este conocimiento es relevante para el desarrollo de estrategias biotecnológicas y de manejo poscosecha orientadas a mejorar y optimizar la calidad, el valor nutrimental y la vida comercial de uno de los frutos más importantes a nivel mundial como lo es el aguacate.

9. Referencias.

- Aznar, J. A. (2013). Metabolismo de Acil-CoA y Acil-ACP en girasol. [Tesis de doctorado]. Universidad de Sevilla. <https://idus.us.es/handle/11441/51287>
- Banco Nacional de ADN. (2020). Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. Universidad de Salamanca. www.bancoadn.org
- Barrientos, A. F., García, E. & Avitia, E. (1996). Anatomía del fruto de aguacate ¿drupa o baya? Universidad Autónoma de Chapingo, Estado de México. 189-199. DOI: 10.5154/r.rchsh.1995.06.041
- Behera, J., Rahman, M., Shockey, J. & Kilaru, A. (2023). Acyl-CoA-dependent and Acyl-CoA-independent avocado acyltransferases positively influence oleic acid content in nonseed triacylglycerols. *Frontiers in plant science*, 13:1056582. DOI: 10.3389/fpls.2022.1056582
- Berasategi, I., Barriuso, B., Ansonera, D. & Astiasarán, I. (2012). Stability of avocado oil during heating: comparative study to olive oil. *Food chemistry*, 132 (1), 439-446. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.018
- Blakey, R. J., Bower, J. P. & Bertling, I. (2010). Post-harvest avocado physiology. South african avocado grower's association yearbook, 33:56-60. https://www.researchgate.net/publication/235370566_Postharvest_avocado_physiology
- Blakey, R. (2011). Management of avocado postharvest physiology. [Tesis de doctorado]. University of KwaZulu-Natal, South Africa. DOI: 10.13140/RG.2.1.3652.7121
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72: 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

- Cagliari, A., Margis, R., Dos Santos Maraschin, F., Turchetto, A. C., Loss, G., & Margis, M. (2011). Biosynthesis of triacylglycerols (TAGs) in plants and algae. *International Journal of Plant Biology*, 2(1), 40–52. <https://doi.org/10.4081/pb.2011.e10>
- Cao, H. (2011). Structure-function analysis of diacylglycerol acyltransferase sequences from 70 organisms. *BMC Research notes*, 21(4):249. DOI:10.1186/1756-0500-4-249
- Carvalho, C. P., Velásquez, M., & Cartagena, J. (2015). Fatty acid content of avocados (*Persea Americana* Mill. cv. Hass) in relation to orchard altitude and fruit maturity stage. *Agronomía colombiana*, 33, 220-227. DOI: 10.15446/agron.colomb.v33n2.49902
- Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.), Centro Nacional de Información Biotecnológica; [1988] – [citado el 24 de septiembre de 2025]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Cerdas, M. M., Calderón, M. M. & Díaz, E. (2006). Manual de manejo pre y postcosecha de aguacate (*Persea americana*). Universidad de Costa Rica. ISBN 9968-877-20-4. http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/aguacate-2006.pdf
- Chi, E. Y., Stone, S. J., Koliwad, S., Harris, C. & Farese, R. V. (2008). DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. *Journal of lipid research*, 49(11):2283-2301. DOI:10.1194/jlr.R800018-JLR200
- Méndez C., Ríos, D., Rodríguez, B. y Rodríguez, E. M. (2023). Study of environmental factors on the fat profile of Hass avocados. *Journal of Food Composition and Analysis*, 123. ISSN 0889-1575. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105544>.
- Dahlqvist, A., Ståhl, U., Lenman, M., Banas, A., Lee, M., Sandager, L., Ronne, H., & Stymne, S. (2000). Phospholipid: diacylglycerol acyltransferase: An enzyme that catalyzes the Acyl-CoA-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12), 6487–6492. <https://doi.org/10.1073/pnas.120067297>

- Demski, K., Łosiewska, A., Jasieniecka, K., Klińska, S. & Banaś, A. (2020). Phospholipid: Diacylglycerol Acyltransferase1 Overexpression Delays Senescence and Enhances Post-heat and Cold Exposure Fitness. *Frontiers in Plant Science*, 11, 611897. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.611897>
- Ezzeddine, K. (2018). Antioxidantes en el aguacate. [Tesis]. Universidad de la Laguna. [https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/9548/Antioxidantes en el Aguacate.pdf? sequence=1&isAllowed=y](https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/9548/Antioxidantes%20en%20el%20Aguacate.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Falarz, L., Xu, Y., Caldo, K. M., Garroway, C. J., Singer, S. & Chen, G. (2020). Characterization of the diversification of phospholipid: diacylglycerol acyltransferases in the green lineage. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 103 (6): 2025-2038. doi: 10.1111/tpj.14880.
- Flores, M., Saravia, C., Vergara, C., Avila, F., Valdés, H. Ortiz, J. (2019). Avocado oil: Characteristics, properties, and applications. *Molecules*, 24(11),1-21. <https://doi.org/10.3390/molecules24112172>
- Ford, N., Spagnuolo, P., Kraft, J. & Bauer, E. (2023). Nutritional Composition of Hass Avocado Pulp. *Foods*, 12(13): 2516. DOI: 10.3390/foods12132516
- Ghosal, A., Banas, A., Ståhl, U., Dahlgvist, A., Lindqvist, Y. & Stymne, S. (2007). *Saccharomyces cerevisiae* phospholipid: diacylglycerol acyltransferase (PDAT) devoid of its membrane anchor region is a soluble and active enzyme retaining its substrate specificities. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1771 (12), 1457-1463. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2007.10.007>
- Hernández, I., Fuentealba, C., Olaeta, J. A., Lurie, S., Defilippi, B. G., Campos, R., & Pedreschi, R. (2016). Factors associated with postharvest ripening heterogeneity of “Hass” avocados (*Persea americana* Mill). *Fruits*, 71(5), 259–268. <https://doi.org/10.1051/fruits/2016016>
- Hurtado, E., Fernández, A. & Carrasco, A. (2018). Avocado fruit— *Persea americana*. In *Exotic Fruits* (pp. 37–48). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138->

4.00001-0

- Ibarra, E., Méndez, A., Pérez, C. A., Albert, V. A., Mockaitis, K., Kilaru, A., López, R., Cervantes, J. I., & Herrera, L. (2015). Deep sequencing of the Mexican avocado transcriptome, an ancient angiosperm with a high content of fatty acids. *BMC Genomics*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S12864-015-1775-Y>
- Kader, A. A. (27 de febrero de 2024). Aguacate (palta). Postharvest research and extension center. Department of Plant Sciences. University of California, Davis: Department of Plant Sciences Department. <https://surl.lu/kqhkjk>
- Kanellis, A. K., Solomos, T. & Matto, A.K. (1989). Hydrolytic enzyme activities and protein pattern of avocado fruit ripened in air and in low oxygen with and without ethylene. *Plant physiology*, 90(1): 259-266. DOI: 10.1104/pp.90.1.259
- Kilaru, A., Cao, X., Dabbs, P. B., Sung, H. J., Rahman, M. M., Thrower, N., Zynda, G., Podicheti, R., Ibarra, E., Herrera, L., Mockaitis, K., & Ohlrogge, J. B. (2015). Oil biosynthesis in a basal angiosperm: Transcriptome analysis of *Persea Americana* mesocarp. *BMC Plant Biology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0586-2>
- Lager, I., Jeppson, S., Gippert, A. L., Feussner, I., Stymne, S. & Marmon, S. (2020). Acyltransferases regulate oil quality in *camelina sativa* through both acyl donor and acyl acceptor specificities. *Frontiers in plant science*, 14:11:1144. doi: 10.3389/fpls.2020.01144.
- Li, R., Yu, K. & Hildebrand, D. F. (2010). DGAT1, DGAT2 and PDAT Expression in seed and other tissues of epoxy and hydroxy fatty acid accumulating plants. *Lipids*. 45:145-157. DOI:10.1007/s11745-010-3385-4
- Lin, X., Zhang, H., Hu, L., Zhao, G., Svanberg, S. & Svanberg, K. (2020). Ripening of avocado fruits studied by spectroscopic techniques. *Journal of Biophotonics*, 13(8), e202000076. <https://doi.org/10.1002/JBIO.202000076>
- Liu, Q., Siloto, R. M. P., Lehner, R., Stone, S. J. & Weselake, R. J. (2012). Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase: Molecular biology, biochemistry and biotechnology.

In *Progress in Lipid Research* (Vol. 51, Issue 4, pp. 350–377).
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2012.06.001>

Luza, J. G., Lizana, L. A. & Masson, L. (1990). Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. *Acta Horticulture*. 269(20): 153-160. DOI: 10.17660/ActaHortic.1990.269.20

Morales, J. L., Mendoza, M. R., Coria, V. M., Aguirre, J. L., Sánchez, J. L., Tapia, L. M., Hernández, G. & Alcántar, J. J. (2017). Aguacate en Michoacán.
<https://drive.google.com/file/d/0BzrLcZgwqCAUQVFBX0dlMkhfM1k/view>

Neves, B. B., Pinto, S., Pais, R., Batista, H., Domingues, M. R. & Melo, T. (2024). Looking into the lipid profile of avocado and byproducts: Using lipidomics to explore value-added compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 23 (3).
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.13351>

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

Pan, X., Siloto, R., Wickramaratna, A., Mietkiewska, E. & Weselake, R. (2013). Identification of a pair of phospholipid: diacylglycerol acyltransferase from developing flax (*Linum usitatissimum* L.) seed catalyzing the selective production of trilinolenin. *Journal of biological chemistry*, 288(33): 24173-24188. DOI: 10.1074/jbc.M113.475699

Pande, S. V. & Murthy, M. S. (1994). A modified micro-Bradford procedure for elimination of interference from sodium dodecyl sulfate, other detergents, and lipids. *Analytical Biochemistry*, 220(2):424-426. <https://doi.org/10.1006/abio.1994.1361>

Pérez, R. (2012). Crecimiento y maduración del fruto en aguacate (*Persea americana* Mill.) cv Hass. Tesis. Universidad de Almería. <https://repositorio.ual.es/handle/10835/1913>

Pérez, S., Ávila & G. Coto, O. (2015). Cultivos Tropicales. *Redalyc*, 36, 14.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193239249016>

- Pedreschi, R., Uarrota, V., Fuentealba, C., Alvaro, J. E., Olmedo, P., Defilippi, B. G., Meneses, C. & Campos-Vargas, R. (2019). Primary metabolism in avocado fruit. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). *Frontiers Media S.A.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00795>
- Radenti, J. M., Cornaglia, M. V., Vescovo, M. B., Lehn, S. A., Balmaceda, G., Alejo, F. & Paleari, M. F. (2016). Fundamentos teórico-prácticos para auxiliares de laboratorio. [Manual]. Universidad Nacional de Rosario. <http://hdl.handle.net/2133/11504>
- Rosas, N., Saucedo, C., Saucedo, D., López, A., Valle, S., Ramírez, M. E., & Chávez, S. H. (2020). Maduración en poscosecha de frutos de aguacate cultivares Hass y Méndez tratados con etefón. *Acta Agronómica*, 69(4), 275-284. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n4.89994>
- Salameh, M., Nacouzi, D., Lahoud, G., Riachy, I. & El, W. (2022). Evaluation of Postharvest maturity indices of comercial avocado varieties grown at various elevations along lebanon's coast. *Frontiers plant science*, 15:13:895964. doi: 10.3389/fpls.2022.895964.
- Robayo, A. T. (2016). Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de aguacate, *Persea americana* Mill. (Lauraceae) e implementación de un método de extracción del aceite de aguacate como alternativa de industrialización.
- Rodríguez, C. E., Hernández, C., Treviño, V. & Díaz, R. I. (2017). Avocado fruit maturation and ripening dynamics of aliphatic acetogening and lipidomic profiles from mesocarp, idioblast and seed. In *BMC Plant Biology*. DOI: 10.1186/s12870-017-1103-6
- Rodríguez, P., Villamizar, J., Londoño, L., Tran, T. & Davrieux, F. (2023). Quantification of dry matter content in hass avocado by near-infrared sprectroscopy (NIRS) scanning diferent fruit zones. *Plants*, 12(17):3135. <https://doi.org/10.3390/plants12173135>
- tcnico-de-poscosecha-del-aguacate-hass
- Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. & Orr, R. B. (2021). *Campbell Biology*. Pearson.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2025). Aguacate: fruto de nuestra tierra, orgullo de México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Gobierno de México. Recuperado de [\[https://www.gob.mx/agricultura/articulos/aguacate-fruto-de-nuestra-tierra-orgullo-de-mexico?idiom=es\]](https://www.gob.mx/agricultura/articulos/aguacate-fruto-de-nuestra-tierra-orgullo-de-mexico?idiom=es)

Ståhl, U., Carlsson, A. S., Lenman, M., Dahlqvist, A., Huang, B., Banás, W, Banás, A. & Stymne. (2004). Cloning and functional characterization of a phospholipid: diacylglycerol acyltransferase from *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 135(3):1324-1335. DOI: 10.1104/pp.104.044354.

Tan, C. X., Tan, S. S. & Tan, S. T. (2017). Influence of geographical origins on the physiochemical properties of Hass avocado oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 94: 1431-1437. DOI: 10.1007/s11746-017-3042-7

Valdéz, R. C. (2017). Identificación de variaciones en la secuencia de los genes FAD2 y DGAT relacionados con el contenido de aceite de la pulpa de aguacate y su potencial nutrimental. [Tesis de maestría]. Instituto Politécnico Nacional. <https://www.ciidirsinaloa.ipn.mx/assets/files/ciidirsinaloa/docs/maestria/generaciones/Generacion2017.pdf>

Valencia, L. G. (2006). Caracterización de la enzima diacilglicerol aciltransferasa de embriones Inmaduros de maíz. [Tesis de posgrado]. Universidad Nacional Autónoma de México. Repositorio institucional: https://tesiunam.dgb.unam.mx/F?current_base=TES01&func=direct&doc_number=000604546

Van Erp, H., Bates, P. D., Burgal, J., Shockey, J. & Browse, J. (2010). Castor phospholipid: diacylglycerol acyltransferase facilitates efficient metabolism of hydroxy fatty acids in Transgenic *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 20:155(2):683-693. DOI: 10.1104/pp.110.167239

Vinuesa, P. (2016). Correlación: teoría y práctica. Universidad Nacional Autónoma de México.

https://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/R4biosciences/docs/Tema8_correlacion.html

- Wang, M., Yu, P., Chittiboyina, A. G., Chen, D., Zhao, J., Avula, B., Wang, Y. H. & Khan, I. A. (2020). Characterization, quantification and quality assessment of avocado (*Persea Americana* Mill.) oils. *Molecules*, 25 (6), 1453. <https://doi.org/10.3390/molecules25061453>
- Wen, C., Shui, Y. & Yong, H. (2025). Synergistic mechanism of DGAT and PDAT in shaping triacylglycerol diversity: evolutionary insights and metabolic engineering strategies. *Frontiers in plant science*, 16: 1598815. DOI: 10.3389/fpls.2025.1598815
- Yahia, E. M. & Woolf, A. (2011). Avocado. In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*. Volume 2. Acai to citrus (pp.125-185). Woohhead Publishing. https://www.researchgate.net/publication/277816547_Avocado
- Zang, X., Geng, X., Ma, L., Wang, N., Pei, W., Wu, M., Zhang, J. & Yu, J. (2019). A genome-wide analysis of the phospholipid: Diacylglycerol acyltransferase gene family in *Gossypium*. *BMC Genomics*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5728-8>
- Zapata, E. (2014). *Manual técnico de poscosecha del aguacate hass*. Corporación Para Investigaciones Biológicas. <https://es.slideshare.net/grupoterravocado/manual-tnico-de-poscosecha-del-aguacate-hass>
- Zhang, M., Fan, J., Taylor, D. C. & Ohlrogge, J. B. (2009). DGAT1 and PDAT1 acyltransferases have overlapping functions in *Arabidopsis* triacylglycerol biosynthesis and are essential for normal pollen and seed development. *Plant Cell*, 21(12), 3885–3901. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.071795>