



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS (PROPAC)

“Efecto de las aplicaciones de selenato de sodio en el metabolismo y fisiología de la maduración de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.)”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta
I.BQ. Tsiseje Benitez Marin

Dirigida por
Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

Querétaro, Qro. a 11 de Mayo del 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS (PROPAC)

“Efecto de las aplicaciones de selenato de sodio en el metabolismo y fisiología de la maduración de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.)”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta

I.BQ. Tsiseje Benitez Marin

Dirigida por

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva
Director

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Sinodal

Dra. Dulce María Rivera Pastrana
Sinodal

Dra. Jimena Esther Alba Jiménez
Suplente

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Mayo 2022
México

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Edmundo Mercado Silva, por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y por todo el apoyo y asesoramiento brindado para la culminación satisfactoria de este proyecto.

De igual forma, al Dr. Gerardo Nava, Dra. Dulce Rivera, Dra. Jimena Alba y al Dr. Ramón Guevara, por sus comentarios y asesorías para llevar a cabo este proyecto, así como por el tiempo dedicado a la revisión de este.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al CONACYT por la beca de maestría otorgada y por las facilidades dadas para la realización de este proyecto.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, Ramón, Esther, Lupita tomate, Lupita frambuesa y Cristian. Así como a los niños que hicieron su servicio en el laboratorio y me ayudaron durante los muestreos.

A Mayra y a Willy.

A mis padres y hermanos.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Generalidades del fruto de guayaba.....	3
2.1.2 Descripción taxonómica y botánica.....	4
2.2 Importancia económica de la producción en México.....	5
2.2.1 Producción de guayaba en México.....	5
2.2.2 Problemas generales de conservación.....	11
2.2.3 Cambios durante el desarrollo, maduración y deterioro del fruto.....	11
2.3 Métodos para incrementar la vida de anaquel.....	14
2.3.1 Factores poscosecha. Manipulación de la temperatura y del ambiente de conservación.....	14
2.3.2 Tratamientos precosecha.....	15
2.4 Estrés oxidativo.....	16
2.4.1 Tipos de ROS.....	18
2.4.1.1 Radical superóxido.....	18
2.4.1.2 Peróxido de hidrógeno.....	18
2.4.1.3 Radical hidroxilo.....	19
2.4.1.4 Oxígeno singulete.....	19
2.4.2 Mecanismos para contrarrestar la acumulación de ROS.....	19
2.4.2.1 Superóxido dismutasa (SOD).....	20
2.4.2.2 Catalasa.....	20
2.4.2.3 Glutación peroxidasa.....	20
2.4.2.4 Ascorbato.....	21

2.5 Selenio.....	22
2.5.1 Ruta metabólica del selenio en plantas	22
2.5.2 Efectos del selenio en el crecimiento y desarrollo de la planta.....	23
2.5.2.1 El papel antioxidante del selenio	23
2.5.2.2 El selenio y su relación con el etileno.....	25
3. JUSTIFICACIÓN.....	28
4. OBJETIVOS.....	29
4.1 Objetivo general.....	29
4.2 Objetivos específicos	29
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
5.1 Material biológico.....	30
5.2 Estrategia experimental	31
5.3 Métodos utilizados	32
5.3.1 Calidad visual	32
5.3.2 Métodos fisiológicos	32
5.3.2.1 Tasa de respiración y producción de etileno	32
5.3.2.2 Pérdida de peso	33
5.3.2.3 Sólidos solubles totales	33
5.3.2.4 Firmeza	33
5.3.2.5 Acidez titulable	34
5.3.2.6 Contenido de vitamina C	34
5.3.2.7 Capacidad antioxidante	35
5.3.3 Métodos bioquímicos.....	36
5.3.3.1 Análisis de enzimas antioxidantes.....	36
5.3.3.1.1 Catalasa	36
5.3.3.1.2 Superóxido dismutasa.....	37
5.3.3.1.3 Glutación peroxidasa	37
5.3.3.2 Determinación de proteína	38
5.3.5 Análisis estadístico	38
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
6.1 Efecto de la aplicación foliar de Na ₂ SeO ₄ en el metabolismo de frutos de guayaba.....	39
6.1.1 Efecto del selenio en el crecimiento del fruto.	39
6.1.2 Efecto de las aplicaciones de selenato en la tasa de respiración	42

6.1.3 Efecto del Na ₂ SeO ₄ en la producción de etileno	44
6.2 Efecto del Na ₂ SeO ₄ en la calidad de frutos de guayaba	46
6.2.1 Cambios en la calidad visual	46
6.2.2 Cambios en la firmeza de los frutos.....	48
6.2.3 Pérdida de peso.....	50
6.2.4 Cambios en el contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable de frutos de guayaba tratados con selenato de sodio	52
6.3 Efecto del Na ₂ SeO ₄ en el sistema antioxidante de frutos de guayaba.....	53
6.3.1 Efecto de la aplicación de selenato de sodio en el sistema antioxidante no enzimático. Contenido de ácido ascórbico (AA)	54
6.3.2 Cambios en el sistema enzimático antioxidante.	56
6.3.2.1 Cambios en la actividad de la enzima super óxido dismutasa (SOD). 56	
6.3.2.2 Actividad de la enzima catalasa (CAT)	59
6.3.2.3 Cambios en la actividad de glutatión peroxidasa (GSH-Px)	62
6.3.3 Cambios en la capacidad antioxidante de los frutos.....	64
7. CONCLUSIONES	67
8. ANEXOS.....	69
Anexo 1. Curva de calibración de etileno.....	69
Anexo 2. Curva de calibración de ácido ascórbico	70
Anexo 3. Curva de calibración de actividad antioxidante por DPPH.....	71
Anexo 4. Curva de calibración de actividad antioxidante por ABTS	72
Anexo 5. Curva de calibración de proteína	73
9. BIBLIOGRAFÍA.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales puntos de origen (•) y destino de guayaba en México (SIAP, 2015).....	10
Figura 2. Reacciones catalizadas por las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR) como mecanismo de defensa ante ROS utilizando como sustrato antioxidantes no enzimáticos como GSH (glutatión reducido). GSSG (glutatión disulfuro). Modificado de: Gill y Tuteja, 2010.	21
Figura 3. Rutas metabólicas de transformación del Se en plantas. Modificado de: Dumont y col., 2006.	23
Figura 4. Ciclo de Yang y su relación con la biosíntesis de etileno. 1. S-adenosil metionina sintasa; 2. ACC sintasa; 3. ACC oxidasa; 4. ACC -N-malonil transferasa; 5. MTA. nucleosidasa; 6. MTR cinasa; 7. Transaminasa; 8. Reacción espontánea (Botton y col., 2019).....	26
Figura 5. Estrategia experimental de la aplicación foliar de Na_2SeO_4 en árboles de guayaba. Falta poner capacidad antioxidante en evaluación del sistema antioxidante	31
Figura 6. Efecto de la aplicación de 0 y 5 mL^{-1} de Na_2SeO_4 en los cambios del diámetro ecuatorial de frutos de guayaba con diámetro inicial de 5 mm. Las barras verticales representan el error estándar de las muestras.	40
Figura 7. Tasa de respiración de los frutos de guayaba 'Media China' almacenados por 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), las barras verticales representan el error estándar de las muestras.	43
Figura 8. Tasa de producción de etileno de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L^{-1} y almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), las barras verticales representan el error estándar de las muestras.....	45

Figura 9. Cambios en la calidad visual de los frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ en precosecha almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C.	47
Figura 10. Cambios en la firmeza (N) de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05), las barras verticales representan el error estándar las muestras.	49
Figura 11. Pérdida de peso (%) de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. Las barras horizontales representan el error estándar las muestras.	51
Figura 12. Cambios en el contenido de ácido ascórbico de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.	55
Figura 13. Cambios en la actividad enzimática de superóxido dismutasa de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.	57
Figura 14. Cambios en la actividad enzimática de catalasa en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ durante su almacenamiento por 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.	60
Figura 15. Cambios en la actividad enzimática de glutatión peroxidasa en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L ⁻¹ de Na ₂ SeO ₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras horizontales representan el error estándar las muestras.	63
Figura 16. Curva de calibración de etileno.....	69
Figura 17. Curva de calibración de vitamina C	70
Figura 18. Curva de calibración de actividad antioxidante por DPPH.....	71
Figura 19. Curva de calibración de actividad antioxidante para ABTS	72

Figura 20. Curva de calibración de proteína73

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Taxonomía de la guayaba (Bandera y Perea, 2015)</i>	<i>4</i>
<i>Tabla 2. Principales cultivos nacionales perennes y su valor de producción para el año 2020 según datos del SIAP.....</i>	<i>6</i>
<i>Tabla 3 Volúmenes mensuales acumulados de producción para los cinco principales estados productores de guayaba en el año 2020.</i>	<i>7</i>
<i>Tabla 4. Porcentajes de la cosecha acumulada para los cinco principales estados productores de guayaba en el año 2020.....</i>	<i>8</i>
<i>Tabla 5. Gradiente de elución para la determinación de vitamina C por HPLC</i>	<i>35</i>
<i>Tabla 6. Cambios en la acidez titulable (AT) y el contenido de sólidos solubles totales (SST) en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio almacenados durante 15 días a 10°C y transferidos 5 días a 20°C.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 7. Comparación de la capacidad antioxidante de frutos de guayaba control y tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio almacenados 15 días a 10°C y transferidos 5 días a 20°C</i>	<i>65</i>

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

RESUMEN

La guayaba es un fruto de importancia económica y nutricional en México. No obstante, es un producto altamente perecedero, susceptible al daño mecánico y al daño por frío, lo que provoca altas pérdidas poscosecha para los productores y comercializadores. El Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de la UAQ, ha mostrado evidencias que las aplicaciones foliares de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio (Na₂SeO₄) retrasa el desarrollo y la cosecha hasta 45 días. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de esas aplicaciones en el proceso general de maduración y en la estructura del sistema de defensa al estrés oxidativo a través de la cuantificación del ácido ascórbico; las actividades de la glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa. En un huerto comercial, se hicieron aplicaciones foliares de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio 10 días después del amarre de frutos (0.5 cm de diámetro mayor), en la cosecha se colectaron 150 frutos y fueron llevados al laboratorio para su análisis de tasa de respiración, producción de etileno, calidad visual y fisicoquímica, firmeza, contenido de vitamina C y las actividades del sistema enzimático antioxidante glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa, y la capacidad antioxidante. La aplicación de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio en frutos de guayaba de 5 mm de diámetro máximo no afectó el crecimiento del fruto. Durante la conservación a 10 °C, no se afectó la tasa de respiración, pero disminuyó ligeramente la producción de etileno que retrasó el cambio de color y la maduración; además, se mantuvo una mejor firmeza de los frutos, disminuyó el contenido de ácido ascórbico e incrementó las actividades de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, lo cual indujo una mejor capacidad antioxidante total. El tratamiento con selenato de sodio puede ser una alternativa adecuada para mejorar la vida poscosecha de este fruto.

Palabras clave: *Psidium guajava*, selenato de sodio, estrés oxidativo, enzimas antioxidantes, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Guava is a fruit of economic and nutritional importance in Mexico. However, it is a highly perishable product, susceptible to mechanical damage and chilling injury, which causes high post-harvest losses for producers and marketers. The Postharvest Physiology and Biochemistry Laboratory of the UAQ has shown evidence that foliar applications of 5 mg L⁻¹ of sodium selenate (Na₂SeO₄) delays development and harvest up to 45 days. The objective of the present study was to evaluate the effects of Na₂SeO₄ applications on ripening process. Also, oxidative stress defense system was evaluated via ascorbic acid, glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase activity quantification. In a commercial orchard, foliar applications of 5 mg L⁻¹ of sodium selenate were made after fruit setting (fruit with 0.5 cm of greater diameter), at harvest, 150 fruits were harvested and taken to the laboratory for analysis of respiration rate, ethylene production, visual and physicochemical quality, firmness, and ascorbic acid content. Also, activity of antioxidant enzyme system as glutathione peroxidase, catalase and super oxide dismutase were evaluated. The application of 5 mg L⁻¹ of sodium selenate in guava fruits with a maximum diameter of 5 mm did not affect fruit growth. During storage at 10 °C, respiration rate was not affected; however, ethylene production decreased slightly, causing a delay in color change fruit, ripening, and loss of firmness; also, Na₂SeO₄ treatments decreased ascorbic acid content and increased the activities of super oxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase which induced a total antioxidant capacity. These results indicate that treatment with sodium selenate can be a suitable alternative to improve the postharvest life of this fruit.

Keywords: *Psidium guajava*, sodium selenate, antioxidant activity enzymes, antioxidant capacity, oxidative stress

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de guayaba supera los siete millones de toneladas. México ocupa el quinto lugar en la producción con 311 594 toneladas en el 2018 (SIAP, 2018). Es un fruto muy apreciado por sus características sensoriales y altos contenidos de vitamina C (200-300 mg 100 g⁻¹). Su consumo es principalmente en estado fresco y por ello, demanda procedimientos adecuados de conservación que permitan su distribución a los mercados de destino en volumen y precio adecuados (Prance, 2003). La problemática de manejo de este fruto en México es que la producción se concentra en los últimos meses del año lo cual genera sobre oferta de fruta y caída de precios, además de ser un fruto altamente perecedero debido a su susceptibilidad al daño mecánico y daño por frío que limita su comercialización y manejo poscosecha.

Para resolver esta problemática se han desarrollado diferentes trabajos tanto en precosecha como en poscosecha. Entre los trabajos precosecha que parcialmente resuelven parte de esta problemática incluye el control de riegos para forzar la floración y producción de fruta fuera de temporada y la aplicación de soluciones de calcio para mejorar la firmeza de la fruta (De Mello Prado y col., 2005; Goutam y col., 2010).

En trabajos previos del Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de la UAQ, se realizaron aplicaciones foliares de selenato de sodio observando que la cosecha se retrasó hasta dos meses después de los picos de producción, con frutos de mejor firmeza y menor tasa de maduración (Alba-Jiménez, 2018).

Se tiene antecedentes que la aplicación de selenio (Se) en tomate actúa como antioxidante y que tiene efectos importantes en la expresión de genes asociados a la síntesis de etileno en frutos de tomate (Pezzarozza y col., 2014; Zhu y col., 2017). Mediante estudios de expresión diferencial de genes de la 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa (ACS) y de 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidasa (ACO) en

frutos de tomate control y tratados se observó que las aplicaciones de Se foliar hubo una menor expresión de estas enzimas lo cual explico una mayor vida de anaquel de los frutos. En este estudio se aporta conocimiento de los cambios que ocurren en el proceso de maduración de los frutos de guayaba y los efectos que dichas aplicaciones tienen sobre el contenido de vitamina C y la respuesta del fruto al estrés oxidativo tomando como base las actividades enzimáticas de la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GSH-Px), así como los niveles de la capacidad antioxidante total y para atrapar especies reactivas de oxígeno del fruto.

Este trabajo, profundiza en el conocimiento de los efectos que tiene la aplicación foliar de selenato de sodio (Na_2SeO_4), en la fisiología poscosecha de los frutos, los cambios en la composición, la firmeza de los frutos, la capacidad antioxidante y la actividad de enzimas relacionadas al sistema de defensa contra el estrés oxidativo en frutos de guayaba cv 'Media China' y sentar bases para un manejo óptimo de esta tecnología de producción de fruta fuera de temporada.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del fruto de guayaba

2.1.1 Origen y distribución del cultivo

La guayaba (*Psidium guajava*) es un fruto importante de climas tropicales y subtropicales alrededor del mundo, aunque su origen es incierto se le ha ubicado en Mesoamérica en un área comprendida entre México y Perú (Mata y Rodríguez 1990). Desde donde fue llevada a diferentes continentes, y actualmente se cultiva y comercializa en diferentes regiones del mundo. A pesar de que el lugar de origen se ubica en el continente americano, la FAO reporta al continente asiático como el principal productor y consumidor de este fruto, en el año 2019 la India ocupó el primer lugar en producción, estimándose que obtuvo el 52% de la producción global total (Tridge, 2021.)

A los frutos tropicales se les ha dividido en 2 grupos, mayores y menores, esto con base en el volumen de producción alcanzado. La FAO clasifica a la guayaba dentro de los frutos tropicales mayores, donde la ubica en un grupo junto con el mango y mangostán, dentro de los reportes no se requiere la información de producción exacta para cada fruto, por lo que el volumen oficial de producción se desconoce, sin embargo, se estima que dentro de este grupo el mango ocupa el 75 % de producción total, la guayaba el 15 % y el 10 % restante el mangostán (FAO, 2021). En el 2020, México tuvo una producción de 2.37 millones de toneladas de mango, mangostán y guayaba, ubicando a nuestro país en el tercer lugar de producción a nivel global en este grupo (FAO, 2018). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera reportó un volumen de producción nacional que alcanzó las 287,243.02 toneladas en el año del 2020 (SIAP, 2020).

Aproximadamente el 70 al 80 % de la producción en México se consume en fresco y también puede ser procesada en jugos, ates, jaleas, etc., es rico en provitamina A, vitamina B y C. La variedad cultivada más importante en México es la 'Media

China', pero a nivel mundial hay una gran diversidad de variedades con frutos diversos en color de la pulpa, forma y tamaño (Prance, 2003).

2.1.2 Descripción taxonómica y botánica

La guayaba pertenece a la familia *Myrtaceae*, la cual comprende 131 géneros y 4620 especies (FACENA, 2015), la Tabla 1 señala la clasificación taxonómica de esta planta.

Tabla 1. Taxonomía de la guayaba (Bandera y Perea, 2015)

Nombre Científico:	<i>Psidium</i>
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Myrtales
Familia:	Myrtaceae
Tribu:	Myrteae
Género:	<i>Psidium</i>
Especie	<i>Psidium guajava</i>

El guayabo es un árbol pequeño, aunque puede alcanzar hasta 10 m de altura, con tallos ramificados, de consistencia dura y leñosa con colores que van del café grisáceo al café claro, sus hojas son opuestas, oblongas con un largo que va desde los 7.5 a los 18 cm de largo y un ancho de 8 cm aproximadamente, pubescentes, con nervaduras sobresalientes y paralelas en el envés. Sus flores son blancas, estas pueden estar solas o en grupos de dos o tres en el extremo de cada yema floral. Posterior a la floración, el fruto requiere de aproximadamente 120 a 190 días para su completo desarrollo dependiendo de las condiciones climáticas de las zonas de cultivo (Mercado-Silva y col., 1998).

El fruto es una baya carnosa, ovoide o periforme, con múltiples semillas, éste puede llegar a pesar hasta 500 g, siendo más común encontrarlas en un rango de 60 a 120 g dependiendo de la variedad y el ambiente, tiene piel delgada cuyo color varía conforme transcurre el proceso de maduración, cambiando desde el verde oscuro al amarillo, en la pulpa podemos observar variaciones de color entre rojo, rosa, blanco o amarillo, con sabor dulce a ligeramente ácido y aroma fuerte y penetrante (Morton, 1987).

Según datos del SIAP, (2019) para una adecuada producción, la geografía del terreno debe tener las siguientes características: altitud sobre el nivel medio del mar de 0 a 1400 msnm, con precipitaciones de 600 a 1000 mm, la temperatura ambiental estar entre 16 a 34 °C, con suelos francos, limosos, y franco-arcillosos que tengan un pH de 4.5 a 8 y profundidad mayor a 60 cm (SIAP, 2019).

2.2 Importancia económica de la producción en México

2.2.1 Producción de guayaba en México

A nivel mundial, México es uno de los cinco principales productores de guayaba, para el año 2019 fue el 4° productor por debajo de India, Indonesia y China, siendo notable que la India produce aproximadamente 10 veces más que México (TRIDGE, 2021).

A nivel nacional y de acuerdo con los datos del Sistema de Información Agropecuaria (SIAP) la producción alcanzada a nivel nacional en el año 2020 fue de 287 243 toneladas, siendo los estados de Michoacán (172 730 ton), Aguascalientes (62 897 ton) y Zacatecas (32 252 ton) quienes concentraron el 93 % de la producción (SIAP, 2020). Para ese año, la superficie sembrada a nivel nacional fue de 20 873 ha y el valor de la producción alcanzó los 1 664 millones de pesos (SIAP, 2020).

Aunque esta producción puede cambiar ligeramente en diferentes temporadas, para el año 2020 la participación porcentual de cada uno de los estados fue la siguiente:

Michoacán (60%), Aguascalientes (22%) y Zacatecas (11%) (SIAP, 2020). Es decir que estos tres estados concentraron el 93 % de la producción. Durante el año 2020 la derrama económica de este cultivo en el país fue de 1 504 364. 70 y Michoacán alcanzó 826 050. 93 miles de millones de pesos equivalentes al 55 % de ese valor (SIAP, 2020).

En nuestro país se cultivan tres variedades de guayaba. En el 2020 la superficie dedicada a la producción de esas variedades fue “China” (1291.5 ha), “Media China” (17,853.77 ha) y “Criolla” (1169.15 ha), siendo la segunda la que cuenta con el 90% del área de cultivo (Mondragón-Jacobo y col., 2008) (SIAP, 2020).

De acuerdo con el valor de producción agrícola para el 2020, el Anuario estadístico de la producción agrícola, señala que la guayaba ocupó el número 22 dentro de los cultivos perennes (Tabla 2); lo cual resalta su importancia económica en el país y en particular para los principales estados productores (SIAP, 2020).

Tabla 2. Principales cultivos nacionales perennes y su valor de producción para el año 2020 según datos del SIAP

	Cultivo	Valor Producción (miles de Pesos)
1	Aguacate	49,369,370.99
2	Caña de azúcar	42,640,394.69
3	Agave	33,403,629.49
21	Durazno	1,792,183.61
22	Guayaba	1,664,607.62
	Total	287,249,621.37

La producción de guayaba enfrenta problemas de oferta y demanda que afectan los precios durante la comercialización. Esto se debe a que el grueso de la producción se concentra en los últimos meses del año (octubre-diciembre) (González y col., 2002), provocando una caída de precios en el mercado y su consecuente efecto en toda la cadena de comercialización. La concentración de la cosecha en los últimos meses del año se aprecia en la Tabla 3 que resume los volúmenes de cosecha en los diferentes meses del año 2020. En la Tabla 4 se expresan los porcentajes de la cosecha total en los diferentes meses del año.

Tabla 3. Volúmenes mensuales acumulados de producción para los cinco principales estados productores de guayaba en el año 2020.

Meses	Michocán	Ags	Zac.	México	Jal	Gro.
1	12,298.14	0	0	0	0	35.55
2	15,996.04	0	0	0	0	1,035.07
3	22,655.66	22,000.00	2,710.00	0.00	0.00	1,035.07
4	30,100.66	22,000.00	5,300.00	2,556.00	681.78	1,075.16
5	45,774.42	22,000.00	9,622.95	7,045.76	1,249.14	1,085.97
6	76,890.69	22,000.00	9,622.95	7,831.34	1,453.68	1,114.58
7	88,413.51	22,000.00	9,622.95	8,062.41	1,984.38	1,139.24
8	98,779.56	22,000.00	14,002.85	8,073.71	2,159.66	1,144.54
9	113,429.54	22,960.00	14,002.85	8,704.63	2,265.77	2,053.54
10	154,920.26	39,300.60	25,112.85	9,229.91	2,959.95	2,069.36
11	165,625.05	65,219.50	28,271.78	9,507.32	3,255.67	2,085.86
12	166,163.04	92,617.74	32,252.48	9,731.03	3,500.67	2,139.49

Tabla 4. Porcentajes de la cosecha acumulada para los cinco principales estados productores de guayaba en el año 2020.

Meses	Michoacán	Ags.	Zac.	México	Jal	Gro.
1	7.4012488	0	0	0	0	1.66161094
2	9.62671362	0	0	0	0	48.3792867
3	13.6345965	23.7535487	8.40245463	0	0	48.3792867
4	18.1151356	23.7535487	16.4328449	26.2664898	19.4757004	50.2530977
5	27.5478951	23.7535487	29.8363103	72.4050794	35.6828836	50.7583583
6	46.2742437	23.7535487	29.8363103	80.4780172	41.5257651	52.0955929
7	53.2088905	23.7535487	29.8363103	82.852586	56.6857202	53.248204
8	59.4473717	23.7535487	43.4163512	82.9687094	61.6927617	53.4959266
9	68.2640014	24.7900672	43.4163512	89.4522985	64.7238957	95.9826875
10	93.2338864	42.4331235	77.8633147	94.8502882	84.553814	96.722116
11	99.6762276	70.4179351	87.6576933	97.7010656	93.0013397	97.4933278
12	100	100	100	100	100	100

En el estado de Michoacán, (principal estado productor de guayaba), del 53 al 99 % de la cosecha se recoge en los meses de julio a noviembre; mientras que para Aguascalientes del 75 al 100 % de la producción se recoge en los meses de septiembre a diciembre; para Zacatecas del 57 al 100 % de la producción se recoge también entre los meses de septiembre y diciembre. Claramente los datos de los tres principales estados productores señalan una concentración importante de la producción en los meses de septiembre a diciembre. También Jalisco aporta del 53 al 100 % de su producción en los meses de julio a diciembre. Esta concentración de la cosecha provoca una mayor oferta de fruta con la consecuente caída de precios en el mercado. Es interesante notar que Michoacán ha logrado distribuir su producción en un mayor periodo de tiempo y que el Edo de México cosecha el 75-

90% de su fruta entre los meses de mayo y agosto; de igual forma el estado de Guerrero cosecha el 50 a 95% de su fruta en los meses abril a septiembre.

Para resolver el problema de concentración de la producción y su caída de precios, los productores aplican diferentes técnicas en la producción de la fruta como el manejo de estrés de sequía a través de la suspensión de riegos para mover las fechas de floración y así obtener frutos fuera de temporada. Otro procedimiento aplicado es la poda programada para inducir floraciones en diferentes periodos del año y así lograr producciones fuera de temporada (Mata y Rodríguez, 1990; Adhikari and Kandel 2015; Carballosa-De la Paz et al 2019).

2.1.2 Comercialización de guayaba en México

Como se ha mencionado, la concentración de la cosecha en unos meses del año tiene efectos importantes en los precios al productor (se pagan los precios más bajos con alta oferta de fruta). La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGARPA) realiza evaluaciones mensuales de los márgenes de comercialización de guayaba. Para el mes de diciembre, la participación de los costos en la cadena de comercialización en el precio de fruta al consumidor fueron 17.6 % al productor, 43.4 % al mayorista y 39 % al menudeo. En ese mes, los precios pagados al productor variaron de 3-3.85 pesos/kg; mientras que los precios pagados al mayorista variaron de 6.97-21 pesos/kg y para el consumidor final los precios variaron de 16-27 pesos/kg.

En el mes de mayo, la participación de los costos en la cadena de comercialización en el precio de fruta al consumidor final fueron 27.5 % al productor, 28.5 % al mayorista y 44 % al menudeo. No obstante, en ese mes, los precios pagados al productor variaron de 3.35-5.50 pesos/kg; mientras que los precios pagados al mayorista variaron de 8.92-21 pesos/kg y para el consumidor final los precios variaron de 15.21-29.32 pesos/kg. De acuerdo a estos datos, los precios pagados al productor son los más bajos aún en temporada de poca oferta y el consumidor también paga aproximadamente el mismo precio quedando los mayores márgenes de comercialización entre los comercializadores al mayoreo.

La guayaba producida en los principales estados productores tiene distintos mercados de destino en el país (Figura 1), y los sistemas de distribución son variables, en las que dominan los compradores que asisten a los centros de acopio donde adquieren la fruta ya empacada y la trasladan a los mercados de destino; también hay cadenas de supermercados que a través de contratos establecen volúmenes y precios de compra durante el año y también hay productores con medios de transporte que llevan su fruta hasta los mercados de destino. En estos sistemas, los márgenes de comercialización varían para el productor los cuales son considerablemente menores que eventualmente pueden no cubrir los costos de la cosecha, quedando la misma en los campos de producción contribuyendo de esta manera a pérdidas precosecha de la fruta.



Figura 1. Principales puntos de origen (•) y destino de guayaba en México (SIAP, 2015).

2.2.2 Problemas generales de conservación

Además de las presiones de la oferta y la demanda, este fruto también enfrenta problemas de manejo como es su alta perecibilidad (4 días a temperatura ambiente o 2 semanas a 10°C) y su alta sensibilidad al daño mecánico. Estos problemas se ven potenciados por la gran tendencia de cosechar la fruta en estado maduro o amarillo disminuyendo su potencial de vida de anaquel. La nula o escasa aplicación de sistemas de pre enfriado en las zonas productoras provoca que el fruto sea transportado con el calor de campo que acelera su proceso de maduración.

Durante su comercialización hay un escaso uso de sistemas de conservación en refrigeración y cuando estos son utilizados, no se tiene en cuenta su sensibilidad al daño por frío y que obliga a conservarlo a 10 °C (Alba-Jiménez y col., 2018).

2.2.3 Cambios durante el desarrollo, maduración y deterioro del fruto

El conocimiento de los eventos del desarrollo y maduración del fruto, así como la aplicación de diferentes tecnologías de conservación poscosecha, son herramientas que pueden ser utilizadas para resolver los problemas de manejo que este fruto presenta.

El desarrollo del fruto de guayaba consta de varias etapas, estas abarcan desde la floración hasta la senescencia; la duración de estos eventos está afectada por varios factores como el clima o factores ambientales (Mercado-Silva y col., 1998; Coronado, 2014). Durante las primeras etapas del desarrollo del fruto y durante el pico climatérico de la maduración se tiene la mayor actividad metabólica (Mercado-Silva y col., 1998), durante estas etapas se llevan a cabo procesos metabólicos básicos, como la respiración que implica la degradación de carbohidratos y generación de metabolitos precursores para las reacciones de síntesis de compuestos indispensables de la estructura celular, hasta reacciones de biosíntesis asociadas a la maduración del fruto.

El cambio de color en el pericarpio y endocarpio se observa cuando se da un incremento en el contenido de carotenoides, también se observan cambios en el contenido de sólidos solubles y acidez titulable, los cuales son utilizados como parámetros para determinar el índice de madurez del fruto (Kader, 1992; Medina y Herrero, 2016).

En la guayaba existen varios índices de cosecha que permiten identificar el momento apropiado para la cosecha, ya que un producto cosechado inmaduro es más susceptible al daño por frío que aquél que es cosechado en la etapa de maduración ideal o madurez fisiológica; un producto cosechado en madurez de consumo tiene menor vida de anaquel que aquel cosechado en madurez fisiológica. Se entiende como madurez fisiológica al estado de desarrollo donde el fruto es capaz de continuar su maduración normal hasta su senescencia separado del árbol (Kitinoja y Kader, 2015; Coronado, 2014).

Determinar el estado de maduración ideal del fruto puede ser un proceso complicado, en el caso de la guayaba, existen varios parámetros a tener en cuenta al momento de la cosecha. Mercado-Silva y col., (1998) correlacionaron de manera satisfactoria la maduración con el cambio de color en el fruto en la variedad 'Media China', señalando que el color puede ser un buen indicador de madurez, así el cambio de color verde oscuro a verde amarillento es un índice de cosecha apropiado y no destructivo, aunque se puede correlacionar con otras mediciones, como el contenido de sólidos solubles, la acidez titulable y la firmeza del fruto (Coronado, 2014).

Uno de los factores a considerar durante la maduración del fruto y que influye en la vida poscosecha es la tasa de respiración. Durante este proceso las macromoléculas, como carbohidratos, proteínas y lípidos, son utilizadas por el fruto como sustrato, degradándose hasta moléculas simples. Para llevar a cabo este proceso el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, teniendo como producto final agua y CO₂, con liberación de energía (Kader y Saltveit, 2003). La producción de CO₂ sigue patrones diferentes dependiendo del tipo de fruto, y de acuerdo con

esto, los frutos de guayaba se pueden clasificar como climatéricos. La guayaba presenta un incremento en la tasa de respiración durante la etapa de maduración, que se acompaña de una mayor producción de etileno (Kader y Yahia, 2011^a ; y Mercado-Silva y col., 1998).

El etileno es la hormona clave asociada al proceso de maduración del fruto y crecimiento de la planta, existen diversos factores, bióticos y abióticos, que inducen su síntesis en los diferentes tejidos. Dependiendo de la concentración de esta molécula (C₂H₄) se provocan cambios que pueden ser benéficos o perjudiciales, ya que está implicada en una gran variedad de eventos fisiológicos entre ellos la maduración (Chen y col., 2018).

Las diferentes variedades de guayaba muestran un comportamiento no homogéneo en cuanto a su tasa de respiración y producción de etileno. García-Velasco (1997); Mercado-Silva y col., (1998) y Azzolini y col. (2005) indicaron, mediante el uso de bloqueadores de la acción del etileno, la importancia que tiene el etileno en el proceso de maduración de la guayaba y que solo requiere los niveles de producción que el propio fruto tiene y que por ello no responde a las aplicaciones exógenas de esta fitohormona por lo que se considera como un fruto no climatérico.

Durante los cambios ocurridos en el proceso de maduración del fruto, la firmeza de la guayaba se ve notablemente disminuida, el ablandamiento del fruto ocasiona grandes pérdidas en la cadena de distribución del producto, por lo que el estudio de los mecanismos que rigen este cambio en el fruto es de vital importancia. En diversos estudios se menciona que el proceso de senescencia en los frutos es un fenómeno oxidativo, dónde se requiere de la acción de especies reactivas de oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido, por lo que es probable que el sistema antioxidante de las plantas sea de vital importancia, este incluye enzimas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasa (POD), y otras enzimas que junto con agentes antioxidantes como el glutatión, ácido ascórbico y otros compuestos fenólicos protegen a la célula del daño oxidativo (Jiménez y col., 2002). La producción excesiva de ROS, durante la respiración,

puede dañar proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, y como consecuencia afectar la integridad y funcionalidad de las membranas ocasionando la pérdida de firmeza (Mondal y col., 2004; Mondal y col., 2009).

2.3 Métodos para incrementar la vida de anaquel

2.3.1 Factores poscosecha. Manipulación de la temperatura y del ambiente de conservación.

Uno de los métodos más utilizados en poscosecha para alargar la vida de anaquel del producto es el almacenamiento a bajas temperaturas, ya que la temperatura es el factor individual externo más importante que disminuye el metabolismo y retrasa el deterioro del fruto (Singh, 2011).

A bajas temperaturas se reduce la actividad metabólica, decrece la incidencia de enfermedades poscosecha y retrasa el desarrollo, Al disminuir la temperatura ambiental, también se incrementa la humedad relativa del aire con lo que se reduce la pérdida de agua; mientras que a altas temperaturas se reduce la humedad relativa y se incrementan las velocidades de todos los factores de deterioro. Una temperatura elevada incrementa la tasa de respiración consumiéndose mayor cantidad de peso seco y disipándose una mayor cantidad de calor; que incrementa la velocidad de deterioro, sin embargo, temperaturas muy bajas (menores a 8 °C, factor dependiente del fruto) pueden causar daño por frío (Singh, 2011). A este respecto, el fruto de guayaba es sensible al daño por frío cuando se somete a temperaturas por debajo de 8 °C, observándose alteraciones en la estructura de las membranas microsomales, así como en el metabolismo de los lípidos de la membrana (Benito-Bautista, 2002; Alba-Jiménez y col., 2018).

El almacenamiento también provoca pérdida de peso, a medida que aumenta la temperatura y disminuye la humedad relativa del sistema de almacenamiento, se ve incrementada la pérdida de peso. Suárez y col. (2009) indicaron que en guayaba cv “Criolla Roja”, almacenada 20 días a 12, 17 y 27°C, incrementó su pérdida de peso

y disminuyó más rápidamente la firmeza del fruto a mayor temperatura. Así las altas temperaturas activan el metabolismo del fruto, provocando cambios fisiológicos y bioquímicos, mientras que bajas temperaturas de almacenamiento, retrasan el proceso de maduración al disminuir la tasa de respiración y la pérdida de firmeza del fruto (Coronado, 2014).

En conjunto con el manejo de bajas temperatura y la modificación del ambiente de conservación, se ha implementado el uso de atmósferas controladas (Benito-Bautista y Mercado-Silva, 1997; Sing y Pal, 2008), la aplicación de ceras (Espinoza-Zamora y col., 2010), uso de bloqueadores de la acción del etileno (Ortíz-Hernández y col., 2010) con el fin de modificar el metabolismo del fruto y así retrasar su senescencia e incrementar la vida de anaquel.

2.3.2 Tratamientos precosecha.

Para que un producto fresco sea llevado a la cadena de comercialización y entregado al consumidor con la calidad requerida, se hace uso de diversas tecnologías, entre estas se encuentran los tratamientos precosecha que implican aplicaciones de compuestos químicos, como el nitrato de calcio, ya sea de manera foliar o al suelo, estos han mejorado la calidad de los frutos, reportando una menor pérdida de peso, menor pérdida de firmeza y la reducción del deterioro (de Mello Prado y col., 2005; Goutam y col., 2010).

Además de las aplicaciones de nitrato de calcio que retrasan la senescencia del fruto y mantienen la firmeza; también se ha investigado los efectos de otros elementos que también participan en el metabolismo del fruto, tal es el caso del selenio, del cual se conoce que por sí solo este elemento presenta actividad antioxidante ayudando a controlar los efectos de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Se ha observado que la aplicación de selenito de sodio en dosis de 5 mg L⁻¹ en plantas de tomate aumentó la actividad de enzimas antioxidantes como

catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa (Castillo-Godina y col., 2016).

Por otro lado, Zhu y col., en 2017 mostraron que un pretratamiento foliar con selenato de sodio a una concentración de 1 mg L^{-1} retrasa la maduración y mantiene la calidad en frutos de tomate mediante el incremento en el mecanismo antioxidante de los frutos; así mismo estos autores observaron que derivados de la aplicación de este elemento, las expresiones de genes de la ACC sintasa y de la ACC oxidasa se disminuyeron provocando menor síntesis de etileno y señalaron que esta disminución de expresión de genes explica el mecanismo del Se para retrasar la maduración de los frutos, así mismo, Alba-Jiménez (2018) también observó que la aplicación foliar de 5 mg L^{-1} de selenato de sodio, cuando los frutos tenían un diámetro menor de 0.5 cm, retrasó el desarrollo de los frutos hasta 60 días respecto del control.

2.4 Estrés oxidativo

La presencia de especies reactivas de oxígeno en plantas, está asociada a eventos de generación y control importantes en la fisiología de las plantas y son parte de mecanismos de señalización y respuesta en diferentes etapas de crecimiento y desarrollo (Janků y col., 2019), su producción y control está altamente regulado por rutas enzimáticas específicas en diferentes compartimentos de la célula.

La maduración y senescencia de los frutos se describe como un proceso oxidativo que provoca alteraciones en el metabolismo del fruto, involucrando la activación de diferentes sistemas enzimáticos, entre ellos las enzimas del sistema antioxidante y otros metabolitos secundarios (Hodges, 2003). Como consecuencia de este proceso se generan especies reactivas de oxígeno (ROS) que son moléculas altamente reactivas derivadas del oxígeno, las cuales actúan como oxidantes en la célula (Orabi y Abouhoussein, 2019).

Las ROS se producen de manera constante en los sistemas biológicos, para su control, la planta cuenta con un sistema de defensa antioxidante; pero este puede

ser rebasado y alcanzar a un estado donde las ROS superan la capacidad que tiene el fruto para neutralizarlas induciendo su senescencia (Mondal y col, 2004).

El estrés oxidativo se puede definir como el momento donde las ROS superan al sistema antioxidante, provocando la peroxidación lipídica, desnaturalización de proteínas y mutaciones en el DNA, como consecuencia de estas alteraciones en el metabolismo celular causan un daño molecular que una vez acumulado genera la muerte celular. También puede ser definido como un factor que causa daño celular, similar al estrés por sequía, por salinidad, etc., que activa cascadas de señalización y respuestas de defensa (Demidchik, 2015, Orabi y Abouhoussein, 2019).

Existen diferentes factores que contribuyen a un incremento en la generación de ROS, entre estos se encuentran factores intrínsecos del fruto u hortaliza, como el genotipo, y factores extrínsecos derivados del manejo poscosecha, desde la etapa de madurez en la que se encuentra el fruto, las operaciones de manejo en campo, temperatura y atmósfera de almacenamiento, entre otras (Hodges, 2004).

Las plantas comúnmente tienen dos formas principales de lidiar con el estrés oxidativo, pueden evitarlo o tolerarlo, sin embargo, durante la poscosecha los productos hortofrutícolas tienen limitado su sistema para regular la producción de ROS. Debido a esto, dependen de sus recursos o son necesarias las acciones externas para disminuir el estrés oxidativo.

Algunas plantas han evolucionado debido a que constantemente tienen que lidiar con diferentes factores de estrés, esto por medio de mecanismos como la modificación morfo-anatómica, hormonal y bioquímica que les permite sobrellevar y prosperar aún en condiciones de estrés (Dar y Rhesi., 2021). El hecho de que el estrés oxidativo pueda desencadenar cascadas de señalización y respuestas de defensa ha generado un enfoque de estudio sobre los cambios a nivel molecular en los genes de respuesta al estrés, ya que al inducir el estrés de manera controlada se pueden obtener productos con una mayor capacidad para sobrellevar los efectos negativos de las ROS.

2.4.1 Tipos de ROS

2.4.1.1 Radical superóxido

El radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) se forma a partir de la activación del oxígeno triplete (O_2) cuando este acepta un electrón. Este proceso se puede dar por diferentes medios, diversas moléculas se pueden oxidar en presencia de oxígeno y dar lugar a la formación de superóxido, así como durante la cadena de transporte de electrones, esta última se cree que es la principal fuente de superóxido, ya que del 1 al 5 % de electrones se pierden y algunos de estos electrones parecen tener como objetivo activar el oxígeno y generar el superóxido. El $O_2^{\cdot-}$ participa en varias reacciones, sin embargo, la principal es la que da lugar al radical hidropéroxilo ($HO_2^{\cdot-}$). Dos moléculas de este radical pueden reaccionar y formar O_2 y H_2O_2 , esta reacción se conoce como dismutación del superóxido. Si bien el radical superóxido no posee por sí solo la capacidad de generar cambios químicos en macromoléculas es uno de los principales agentes en el estrés oxidativo (Demidchik, 2015; Engwa, 2018).

2.4.1.2 Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es una especie reactiva de oxígeno que no es radical libre, por lo que es una de las ROS más estables. Esta molécula tiene diferentes funciones en la célula, ya que además de ser una fuente de estrés oxidativo, participa en diferentes cascadas de señalización (Černý y col., 2018). Existen diferentes fuentes de generación de H_2O_2 , siendo las principales la fotorespiración, la cadena de transporte de electrones y reacciones redox en el apoplasto. El H_2O_2 es un oxidante débil y no puede modificar químicamente el ADN, aminoácidos ni lípidos. Es considerado una ROS debido a que una acumulación excesiva de este puede dar lugar a un incremento en la formación del radical hidroxilo, además de que no posee impedimentos para atravesar las membranas celulares y acumularse en diferentes partes de la célula (Demidchik, 2015; Černý y col., 2018; Engwa, 2018).

2.4.1.3 Radical hidroxilo

El radical hidroxilo es uno de los principales agentes causantes de daño oxidativo a proteínas y ácidos nucleicos, así como uno de los principales causantes de la peroxidación lipídica. Posee un par de electrones no apareados que pueden reaccionar con O₂ y debido a su corta vida (10⁻⁹ s) es uno de los radicales más reactivos. Una de las principales vías de síntesis es a través de la reacción de Fenton en presencia de H₂O₂ y metales de transición. Tiene una alta importancia debido a que su acumulación ocasiona daños al aparato fotosintético resultando en el mal funcionamiento de los cloroplastos (Demidchik, 2015; Meitha y col., 2020).

2.4.1.4 Oxígeno singulete

El oxígeno singulete es un subproducto de la fotosíntesis, donde el oxígeno se encuentra en el estado más bajo de excitación. Se forma principalmente cuando las plantas se someten a un exceso de luz, donde se forma a través del fotosistema II en las membranas tilacoides, por lo que su acumulación afecta la eficiencia de la fotosíntesis, llevando a la muerte celular, además puede ocasionar daños en membranas, proteínas y ácidos nucleicos. Su acumulación es contrarrestada por β-carotenos en el centro de reacción del fotosistema II, agua, tocoferol, plastoquinol o flavonoides (Demidchik, 2015; Dmitrieva y col., 2020; Meitha y col., 2020).

2.4.2 Mecanismos para contrarrestar la acumulación de ROS

Las plantas poseen sistemas de defensa enzimáticos y no enzimáticos que le confieren protección ante ROS (Blokhina y col., 2003), entre estos se encuentran enzimas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR), dehidroascorbato reductasa (DHAR), glutatión reductasa (GR), glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y peroxidasas (POX), así como compuestos no enzimáticos como el ascorbato (AsA) y glutatión (GSH) (Hasanuzzaman y col., 2012).

2.4.2.1 Superóxido dismutasa (SOD)

La superóxido dismutasa se encuentra en la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo. Cataliza la dismutación de $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 y O_2 en todos los compartimentos celulares, reduciendo así la formación de radical hidroxilo. Se encuentra presente en células aerobias y en subcompartimentos celulares sensibles al estrés oxidativo como cloroplastos, mitocondrias, núcleo, peroxisomas, citoplasma y apoplastos). Los genes que codifican para esta enzima son sensibles al estrés por factores ambientales, por lo que un incremento en su actividad se correlaciona con una mayor tolerancia al estrés (Sharma y col., 2012).

2.4.2.2 Catalasa

La producción de H_2O_2 es contrarrestada en gran parte por la catalasa, disminuyendo los niveles intracelulares de este compuesto a través de la degradación del H_2O_2 en oxígeno y agua con una alta eficiencia. Se encuentra predominantemente en los peroxisomas, donde captura el H_2O_2 formado durante la fotorespiración y β -oxidación de ácidos grasos (Arora y col., 2002; Ahmad y col., 2011).

2.4.2.3 Glutación peroxidasa

La glutación peroxidasa (GSH-Px) es una enzima antioxidante primaria responsable de la desintoxicación por radicales libres. A expensas de peróxidos, GSH-Px cataliza la oxidación de GSH (glutación reducido) a GSSG (glutación disulfuro) que posteriormente es reducido por GR (glutación reductasa) para formar nuevamente GSH (Maiorino y col., 1995).

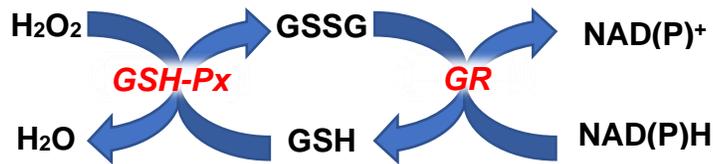


Figura 2. Reacciones catalizadas por las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR) como mecanismo de defensa ante ROS utilizando como sustrato antioxidantes no enzimáticos como GSH (glutatión reducido). GSSG (glutatión disulfuro). Modificado de: Gill y Tuteja, 2010.

A su vez, las NADPH oxidasas, o las oxidasas homólogas de la explosión respiratoria (Rbohs) tienen un rol primario en la generación de ROS (Suzuki y col, 2011), así una menor expresión de los genes rboh1 probablemente causa una disminución en las ROS durante el proceso de maduración.

2.4.2.4 Ascorbato

El ascorbato tiene diferentes roles de respuesta al estrés abiótico, entre ellos se encuentra su rol como antioxidante, es uno de los principales antioxidantes no enzimáticos en la célula. Su método de acción puede ser directo o indirecto a través del ciclo glutatión-ascorbato, logrando un efecto sobre ROS radicales y no radicales. Puede mitigar el efecto de las ROS en cloroplastos mediante la reacción de Mehler, donde participan enzimas como la SOD y APX. El ascorbato se encuentra presente en casi todos los compartimentos celulares (apoplasto, citosol, vacuola, mitocondria, cloroplastos), a nivel intracelular se encuentra en su mayoría de forma reducida a excepción de cuando la planta está sometida a estrés oxidativo, mientras que en la matriz extracelular su estado depende de la edad del tejido y el grado de estrés al que la planta haya sido sometida (Horemans y col., 2000; Zechmann, 2011; Venkatesh y Park, 2014; Xiao y col., 2021).

2.5 Selenio

El selenio (Se) es un elemento traza esencial para los seres vivos, su absorción y metabolismo dependen del tipo de planta, el estado de desarrollo, así como del órgano donde se encuentre, aunque en la mayoría de las plantas se acumula más en brotes y hojas que en la raíz (Zayed y col., 1998).

La biodisponibilidad de este elemento depende del estado de oxidación, o forma química en que se encuentre, estas pueden ser: selenato (6^+), selenito (4^+), Se elemental (0) y selenuro (2^-), aunque las formas predominantes en los suelos cultivados suelen ser selenito y selenato inorgánicos (Hasanuzzaman y col., 2010).

En plantas superiores, se ha propuesto que el selenio es absorbido a través de transportadores de sulfatos en la membrana plasmática de la raíz (Arvy, 1993), sin embargo, la absorción y movimiento del selenio en la planta, dependerá de la forma química en que se encuentre; y se ha señalado que el selenato se transporta más rápidamente que el selenito elemental o el selenio orgánico (Zayed y col., 1998), de igual forma su capacidad de acumularse es mayor en la forma de sal (De Souza y col., 1998).

2.5.1 Ruta metabólica del selenio en plantas

Como ya se ha mencionado, la planta puede absorber distintas formas químicas del selenio, en el caso de absorción de selenato, este se reduce a selenito y posteriormente a selenuro por medio del glutatión reducido (GSH), posteriormente el selenuro es transformado a Se-Cys y puede ser metabolizado a Se-Met de una forma similar a sus análogos de azufre (S). Una vez que se encuentra en forma de Se-Met o Se-Cys puede formar: Se-adenosil-Se-Met, Se-MeSeMet que posteriormente es convertida a Se-MeSeCys y γ -glu-SeMeSeCys (Figura 2) (Dumont y col., 2006). Como puede observarse, este elemento tiene amplia interacción con metabolitos de la síntesis del etileno, específicamente con el

aminoácido metionina que es el precursor de dicha fitohormona, debido a esta interacción puede ser un factor importante en el proceso de maduración al disminuir los niveles de metionina disponible para la síntesis de etileno.

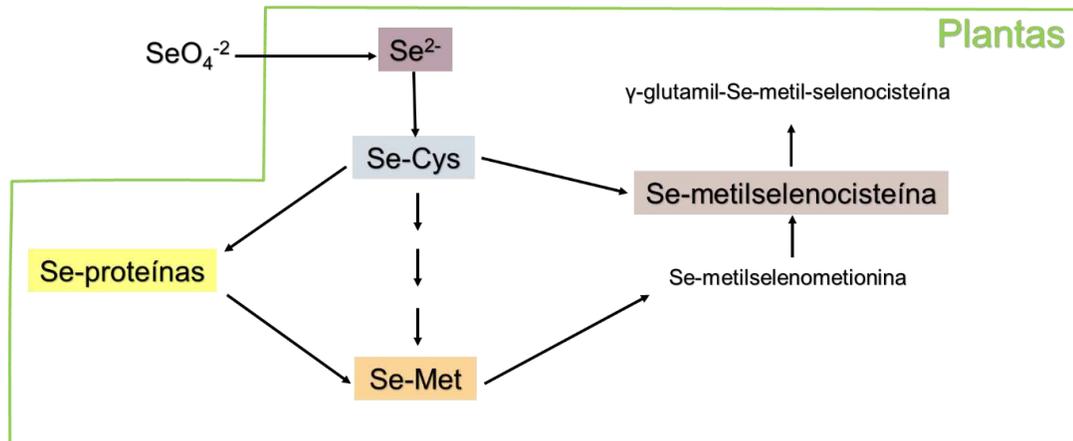


Figura 3. Rutas metabólicas de transformación del Se en plantas. Modificado de: Dumont y col., 2006.

2.5.2 Efectos del selenio en el crecimiento y desarrollo de la planta

Las respuestas que se generen en la planta por las aplicaciones de Se, dependerán, entre otros factores, de la concentración del selenio. En concentraciones traza, es importante para un crecimiento y desarrollo normal, en concentraciones moderadas se puede almacenar para mantener funciones homeostáticas y en altas concentraciones puede ser tóxico (Hamilton, 2004).

2.5.2.1 El papel antioxidante del selenio

Se ha demostrado que el selenio, además de promover el crecimiento y desarrollo celular en las plantas, también incrementa la resistencia y la capacidad antioxidante en plantas sometidas a estrés (Hartikainen y Xue, 1999; Djanaguiraman y col., 2005; Peng y col., 2002).

Esto se debe a que forma parte de 25 selenoproteínas que incluyen: glutatión peroxidasa, yodotirodina deiodinasas, y tiorredoxina reductasas, las cuales están implicadas en mecanismos redox de regulación y protección celular (Rayman, 2012; Janků y col., 2019)

De igual forma, se ha reportado que a bajas concentraciones de selenio puede contrarrestar los efectos inducidos por diferentes factores de estrés, como metales pesados, sequía, salinidad, estrés hídrico, senescencia, estrés por frío, entre otros (Kumar y col., 2012; Hasanuzzaman y Fujita, 2011; Hartikainen y col., 2000; Chu y col., 2010). Sin embargo, a altas concentraciones puede ser tóxico, actuando como prooxidante y causando daño a la planta (Hasanuzzaman y col., 2010).

Hartikainen, y col., (2000) reportaron su acción como antioxidante, al inhibir la peroxidación lipídica en centeno a concentraciones de 0.1 y 1.0 mg Se kg⁻¹. De igual forma, Xue y col. (2001) señalaron que la capacidad antioxidante del selenio se da por un incremento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD). De igual forma, estudios recientes señalan un efecto promotor del selenio a 1 ppm de la actividad de las enzimas del sistema antioxidante como catalasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa y peroxidasa en frijol mungo bajo estrés salino (Kaur y Nayyar, 2015).

A su vez, Zhu y col. (2017) señalaron que el selenio suprime la acumulación de ROS en frutos de tomate por medio de la inducción de sistemas de defensa, tanto enzimáticos como no enzimáticos, ya que también observan un incremento en la actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR), así como una disminución en las enzimas oxidasas homologas Rboh1 asociadas al pico climático de respiración.

En 2018, Alba-Jiménez observó un retraso de 60 días en el desarrollo de los frutos y una mejor resistencia mecánica en poscosecha al aplicar diferentes concentraciones de selenato de sodio vía foliar, así mismo un incremento en la actividad de la enzima catalasa. No obstante, esta autora no señaló los mecanismos por los cuales este elemento contribuyó a generar esas respuestas.

2.5.2.2 El selenio y su relación con el etileno

El etileno es una fitohormona responsable de cambios en la germinación, floración, desarrollo y maduración del fruto, el inicio de respuestas de defensa en la planta, así como de la “comunicación” con otras fitohormonas (Stepanova y Alonso, 2005; Abeles y col., 2012; Suttle, 2017). Si bien tiene un papel importante en el crecimiento y desarrollo de la planta, también puede inducir el deterioro. El conocimiento genético de las enzimas de biosíntesis y de los mecanismos involucrados en su respuesta ha llevado a la obtención de plantas transgénicas con diferentes niveles de producción de esta fitohormona (Czarny y col., 2006). Desde el punto de vista del manejo poscosecha de frutos climatéricos, el etileno es la fitohormona que desencadena el proceso de maduración y por ello es un factor que afecta directamente la calidad y vida de anaquel del fruto.

Este es un compuesto favorable para procesos de desverdizado de cítricos, donde el etileno acelera la degradación de clorofila, sin embargo, en otros productos agrícolas como el brócoli o vegetales de hoja verde ocasiona el deterioro (Pathak y col., 2017).

Para la biosíntesis de etileno, se requiere en primer lugar de S-adenosil metionina (SAM), la cual también participa en diferentes rutas metabólicas como precursor. El aminoácido metionina es el precursor de SAM, y requiere de la acción de la enzima S-adenosil metionin sintasa para catalizar esta reacción. Posteriormente SAM es convertida en ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y 1-metiltioadenosina (MTA) por acción de la ACC sintasa (ACS), ésta reacción es considerada como el paso limitante en la síntesis de etileno. Mientras que la MTA es reciclada, en el ciclo de Yang, para mantener estables los niveles de metionina durante la producción de etileno, el ACC es oxidado a etileno, y otros productos, en presencia de oxígeno a través de la reacción catalizada por la ACC oxidasa (ACO) (Botton y col., 2019) (Figura 4).

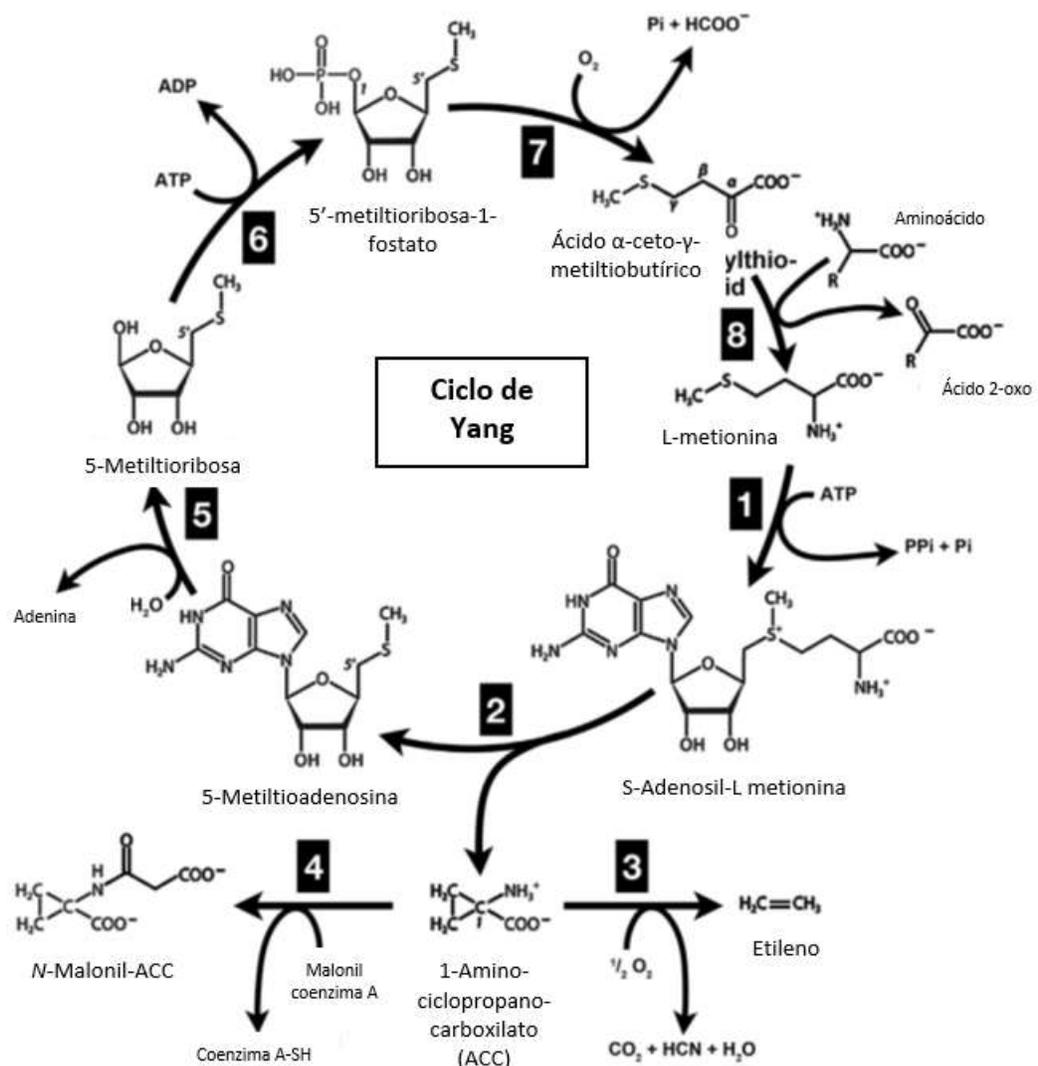


Figura 4. Ciclo de Yang y su relación con la biosíntesis de etileno. 1. S-adenosil metionina sintasa; 2. ACC sintasa; 3. ACC oxidasa; 4. ACC -N-malonil transferasa; 5. MTA nucleosidasa; 6. MTR cinasa; 7. Transaminasa; 8. Reacción espontánea (Modificado de Botton y col., 2019).

Con el conocimiento de la ruta de síntesis del etileno y la aplicación de técnicas moleculares para el estudio de expresión de genes, se han desarrollado diferentes alternativas que pueden desembocar en un mejor control de estos procesos con impactos importantes en la vida de anaquel del fruto (Czarny y col., 2006).

El selenio no sólo está implicado en la capacidad antioxidante de la planta, sino que también se ha visto que puede regular la expresión de genes asociados a la síntesis de etileno. En tomate se han investigado 4 genes pertenecientes a la familia ACO, entre ellos, ACO1 tiene una expresión predominante, mientras que ACS2 y ACS4 rigen la producción de etileno al pasar al sistema 2 (Nakatsuka y col., 1998). En un estudio realizado en tomate suplementado con Se, se observó una disminución en la producción de etileno y una menor tasa de respiración, lo cual se asoció a una menor expresión de los genes ACO1, ACS2 y ACS4 (Zhu y col., 2017).

Anteriormente, Pezzarossa y col., (2014) habían probado en tomate una solución de nutrientes adicionada con Se, observándose que los frutos tratados con estas soluciones biosintetizaron menores concentraciones de etileno. También, Pezzarossa y col., (2012) observaron en pera y durazno que la aplicación de Se retrasaba la maduración, hipotetizando que el Se acumulado en el fruto podía reducir la síntesis de etileno en poscosecha.

De acuerdo con los antecedentes planteados, el selenio puede influir de diferentes maneras en el metabolismo del fruto, por una parte, incrementando el sistema antioxidante al formar parte de las proteínas que mitigan el efecto de las ROS y, por otro lado, al interactuar con el aminoácido necesario para la síntesis de etileno, la metionina, o bien mediante la supresión de genes que codifican para síntesis de etileno, ACS y ACO.

De acuerdo con estos antecedentes, se identifica que hay un vacío de información sobre los efectos que tiene las aplicaciones precosecha de selenato de sodio en plantas de guayabo sobre la actividad antioxidante, la síntesis de etileno y su impacto en la calidad y vida de anaquel del fruto. Por ello este trabajo se enfocó al estudio de los efectos de la aplicación precosecha de selenato de sodio en la fisiología poscosecha de los frutos (tasa de respiración, producción de etileno, pérdida de peso, retención de firmeza); sus efectos en el estrés oxidativo y su acción sobre el sistema enzimático de defensa contra el estrés oxidativo y asociar estos cambios con la calidad y vida de anaquel de los frutos.

3. JUSTIFICACIÓN

México es el tercer productor de guayaba en el mundo, con una producción alrededor de las 300 000 toneladas en el 2020. No obstante, este cultivo enfrenta fuertes problemas de oferta concentrada en los últimos tres meses del año, una alta susceptibilidad al daño mecánico y al daño por frío. La implementación de técnicas precosecha que modifiquen el desarrollo del fruto y permitan la producción de frutos fuera de temporada ofrecerá ventajas económicas a los productores y posibilidades de colocar su fruto en mercados distantes.

Por otro lado, al incrementar el conocimiento sobre los efectos de la aplicación del Na_2SeO_4 , para controlar el metabolismo y fisiología poscosecha de la guayaba, permitirá el diseño de estrategias de manejo de huertos y procedimientos de manejo de los frutos con posibles ventajas competitivas en su comercialización.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de las aplicaciones foliares de selenato de sodio (Na_2SeO_4) en el metabolismo y fisiología de la maduración de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.).

4.2 Objetivos específicos

Comparar la calidad de los frutos de guayaba control y con aplicaciones de Na_2SeO_4 .

Comparar la tasa de respiración y producción de etileno de los frutos control y tratados con Na_2SeO_4 .

Comparar la actividad no enzimática y enzimática del sistema antioxidante, ácido ascórbico, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa de frutos control y con aplicaciones de Na_2SeO_4 .

Comparar la capacidad antioxidante para atrapar especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante total de frutos procedentes de árboles control y tratados.

Proponer un mecanismo de acción de Se en la maduración de frutos de guayaba y su respuesta al estrés oxidativo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material biológico

El experimento se llevó a cabo en una huerta ubicada en el municipio de Jungapeo, Michoacán México. En dicha huerta se seleccionaron al azar 6 árboles de guayaba “Media China” de edad y vigor uniforme. Estos se dividieron en 2 subconjuntos de tres árboles, los cuales fueron asperjados foliarmente con soluciones de Na_2SeO_4 (0 y 5 mg L^{-1}). Las aplicaciones se realizaron en el mes de noviembre cuando los frutos se encontraban en un tamaño de 5 mm de diámetro.

5.2 Cosecha y manejo de los frutos

Los frutos se cosecharon en estado de madurez fisiológica indicado por un color verde-amarillo durante el mes de julio, de cada tratamiento se cosecharon todos los frutos y se colocaron en cajas de madera forradas con un material suave para evitar el daño mecánico, y se transportaron de la huerta al laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, el transporte se realizó a temperatura ambiente (25°C) y al llegar al laboratorio se colocaron a 12°C por 24 horas para retirar el calor de campo. Transcurridas las 24 horas, se seleccionaron 75 frutos de cada tratamiento en un mismo estado de madurez y libres de defectos, y se almacenaron a 10 °C con 90% HR por distintos periodos de tiempo, transcurridos los 15 días los frutos se transfirieron a 20 °C con 75 % HR por 5 días más. En cada muestreo, (0, 5, 10, 15 y 20 días), se tomaron 15 frutos por tratamiento para evaluar calidad visual, pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno, firmeza, solidos solubles totales (°Brix), acidez titulable, capacidad antioxidante y actividad enzimática (glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa).

5.2 Estrategia experimental

La figura 5 muestra la estrategia experimental utilizada.

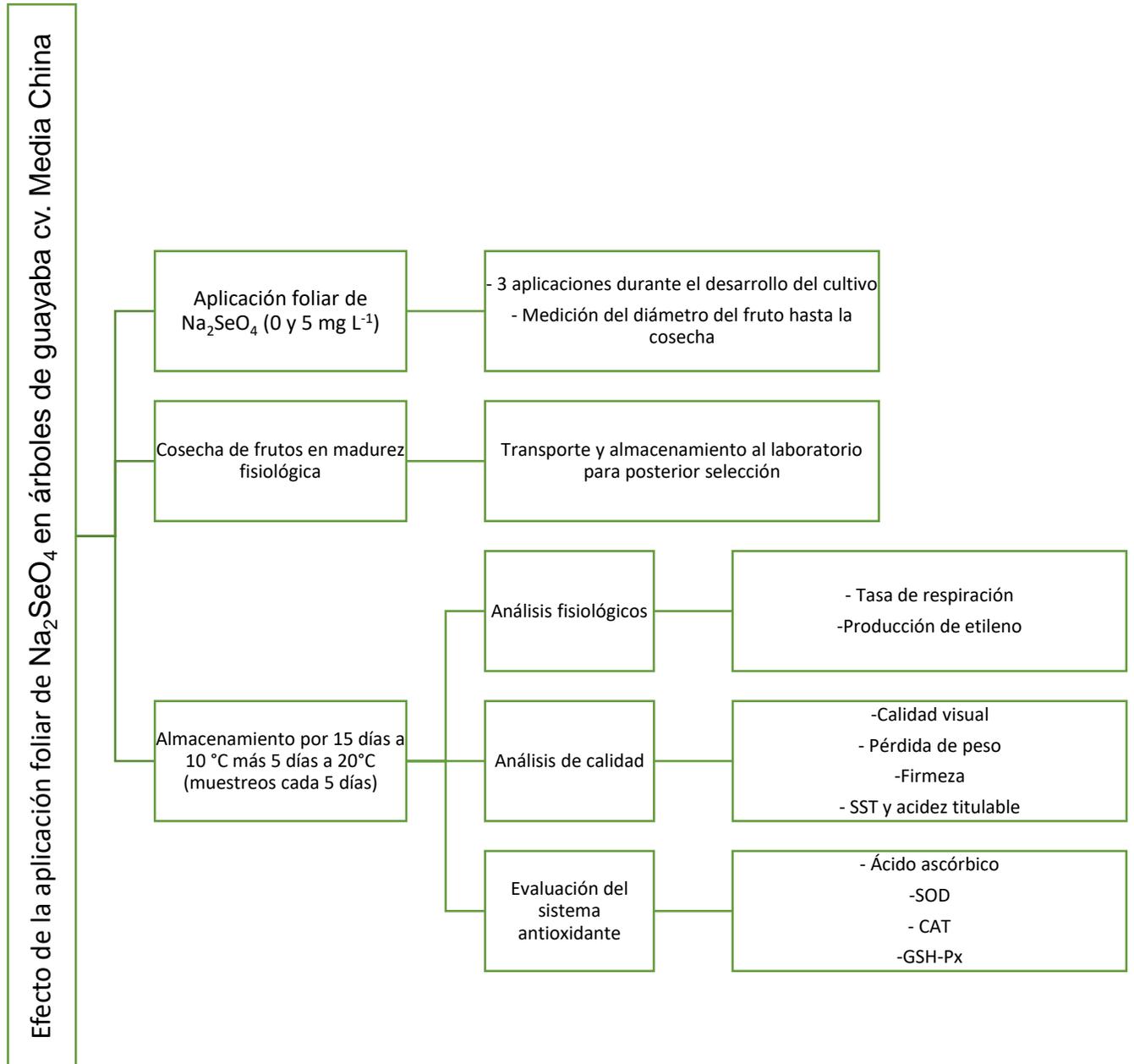


Figura 5. Estrategia experimental de la aplicación foliar de Na₂SeO₄ en árboles de guayaba. Falta poner capacidad antioxidante en evaluación del sistema antioxidante

5.3 Métodos utilizados

5.3.1 Calidad visual

Se tomaron fotografías de los frutos intactos en cada uno de los muestreos por medio de una cámara digital (Rebel T7i Canon Inc, Tokyo, Japan). Cada 5 días se tomaron 5 frutos por tratamiento, con el mismo grado de madurez y para cada uno se tomaron 2 fotografías de manera longitudinal en lados opuestos del fruto. Se evaluó la calidad visual en cuanto a ausencia de golpes o daños, pudriciones y desarrollo de color.

5.3.2 Métodos fisiológicos

5.3.2.1 Tasa de respiración y producción de etileno

La tasa de respiración fue determinada mediante el método estático; se tomaron 6 frutos por tratamiento con el mismo estado de madurez, cada fruto fue pesados individualmente, colocados en frascos de volumen conocido y cerrados con tapas adaptadas para toma de muestra del aire del espacio de cabeza y colocados a 20 °C. Después de un periodo de tiempo establecido, se determinó el contenido de CO₂ y O₂ en la atmósfera interna utilizando un analizador de gases MOCON®, Modelo 325. El cálculo de la tasa de respiración se realizó con la siguiente ecuación:

$$TR = \left(\frac{\% CO_2}{100}\right) \left(\frac{V}{W * t}\right)$$

Donde %CO₂ es el porcentaje obtenido con el analizador, V es el volumen total del recipiente, W es el peso del tomate y t es el tiempo de permanencia del tomate dentro del contenedor.

Para la determinación de etileno, se tomó 1 mL de aire de los recipientes sellados, y se inyectó en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 7890B) equipado con detector de ionización de llama, una columna capilar HP-PLOT/Q (30 m x 0.53 mm de diámetro x 40 µm de espesor de película) con un flujo de gas acarreador de

8.6 mL/min y una rampa de temperatura para el horno de 60°C por 2 min y 240°C por 7min, la temperatura del inyector se mantuvo a 60°C con un Split de 18:1 (González-Orozco, 2018).

La identificación se realizó comparando el tiempo de retención y su espectro de absorción con el de un estándar de etileno. Para la cuantificación se utilizó una curva estándar de etileno (Anexo 1) a diferentes concentraciones (1 a 32 ppm) las cuales se corrieron en el equipo bajo las mismas condiciones descritas. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{L etileno kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

5.3.2.2 Pérdida de peso

Los frutos se pesaron individualmente al inicio y después de cada muestreo en una balanza digital (Ohaus Scout Pro 400 g x 0.01 g); la diferencia de peso inicial (P_i) y final (P_f) de cada fruto representa el peso perdido durante el almacenamiento, y se expresó como porcentaje de pérdida de peso respecto del peso inicial utilizando la siguiente expresión (Mahajan y col., 2011):

$$\%PP = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

5.3.2.3 Sólidos solubles totales

Para la determinación de sólidos solubles totales se siguió el método 932.12 de la A.O.A.C (2005). A 5 g de pulpa se añadieron 10 mL de agua destilada, la mezcla se homogenizó en un ULTRA-TURRAX T25; se colocó una gota del homogenizado en un refractómetro (Hanna Instruments HI 96801), previamente calibrado y se registraron los datos como °Brix.

5.3.2.4 Firmeza

La firmeza se determinó mediante una prueba de compresión (Alba-Jiménez, 2018) en un analizador de textura CT3 (Brookfield) equipado con una sonda cilíndrica

plana de acrílico de 50.8 mm de diámetro y 20 mm de altura, con las condiciones siguientes: velocidad de prueba 2 mm s⁻¹, hasta alcanzar 3% de deformación respecto del diámetro ecuatorial máximo del fruto; registrándose la fuerza máxima en newtons (N) necesaria para alcanzar dicha deformación.

5.3.2.5 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó de acuerdo al método 942.15 de la AOAC (2005). Se homogenizaron 5 g de pulpa del fruto con 30 mL de agua destilada y se filtró para retirar los sólidos. Se tomaron 10 mL del filtrado y se colocaron en un matraz Erlenmeyer, se adicionaron 2 gotas de fenolftaleína (1% p/v en etanol), la mezcla se tituló con una solución de NaOH 0.1 N hasta obtener un vire de incoloro a rosa. El contenido de acidez se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{\text{Título (ml)} * N (\text{NaOH}) * \text{Vol. aforado (ml)} * \text{eq ácido cítrico} * 100}{\text{Vol. muestra (ml)} * \text{Peso de la muestra (g)} * 1000}$$

5.3.2.6 Contenido de vitamina C

El contenido de vitamina C se determinó por HPLC de acuerdo al método reportado por Melfi y col. (2018). Se obtuvo un extracto acuoso con 3 g de muestra y agua grado HPLC, el extracto se homogenizó a 10000 rpm durante un minuto utilizando un ULTRA TURRAX T25, posteriormente se centrifugó a 10000 rpm por 10 min. El sobrenadante se filtró con una membrana de nylon y fue colocado en un vial para su análisis. Se utilizó un HPLC (Waters 2965) con detector con arreglo de diodos (Waters 2998) y una columna Symmetry C18 (9100 x 4.6 mm), donde se inyectaron 30 µL del sobrenadante recuperado. Como eluyentes se utilizaron acetonitrilo y ácido fórmico al 0.1% con un flujo de 0.5 mL min⁻¹. La corrida se realizó en 18 min. En la tabla 3 se muestra el gradiente de elución.

Tabla 5. Gradiente de elución para la determinación de vitamina C por HPLC

Tiempo (min)	% Ácido fórmico al 0.1%	% Acetonitrilo
0	100	0
4.5	100	0
5	75	25
6	75	25
7	20	80
11	20	80
12	0	100
13	0	100
15	100	0
18	100	0

La identificación del compuesto se realizó comparando el tiempo de retención y su espectro de absorción con el de un estándar de ácido ascórbico. Para la cuantificación se utilizó una curva de estándar de ácido ascórbico (Anexo 2) a diferentes concentraciones (0.01 a 0.09 mg mL⁻¹) las cuales se corrieron en el equipo bajo las mismas condiciones descritas. Los resultados fueron expresados en mg de vitamina C (ácido ascórbico) por 100g de fruto fresco.

5.3.2.7 Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó mediante dos métodos (DPPH y ABTS).

El método del DPPH, descrito por Brand-Williams y col. (1995) se realizó de la siguiente forma: Se realizó un extracto metanólico a partir de 5 guayabas por tratamiento (2 g/fruto), se adicionaron 20 mL de metanol al 80% y se homogenizó por 1 min, posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante. Se tomaron 100 µL del sobrenadante previamente diluido (1:10), se

le adicionaron 2.9 mL de la solución de DPPH, se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó la lectura en un espectrofotómetro (PerkinElmer Lambda™ 365 UV/VIS) a 517 nm, empleando como blanco metanol al 80% (v/v). La determinación de la actividad antioxidante se realizó con una curva de calibración de Trolox de 0.1 a 0.6 $\mu\text{mol EqTrolox mL}^{-1}$ (Anexo 3).

El método del ABTS descrito por Miller y Rice-Evans (1996) con modificaciones. Se realizó un extracto metanólico de la forma previamente descrita en el método de DPPH. A 20 μL del extracto previamente diluido (1:10), se le adicionaron 200 μL de la solución de ABTS, se agitó y se mantuvo en oscuridad durante 6 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (PerkinElmer Lambda™ 365 UV/VIS) a 734 nm, utilizando como blanco metanol al 80% (v/v). La determinación de la actividad antioxidante se realizó con una curva de calibración de Trolox de 0.05 a 0.3 $\mu\text{mol EqTrolox mL}^{-1}$ (Anexo 4).

5.3.3 Métodos bioquímicos

5.3.3.1 Análisis de enzimas antioxidantes

5.3.3.1.1 Catalasa

La actividad de catalasa se determinó por el método descrito por Blackwell y col. (1990), con ligeras modificaciones. 5 g de fruta congelada se homogenizaron en 50 mL de acetona a 4 °C y se filtraron. El residuo se lavó dos veces con 25 mL de acetona a 4 °C y se dejó secar. El polvo seco sirvió de base para extraer la enzima. 0.5 gr de polvo de acetona se homogenizaron con 10 mL de buffer de extracción (0.1 M Tris/HCl pH 8.5, 5 mM β -mercaptoetanol) y después se centrifugó por 20 min a 10000 rpm a 4 °C. El sobrenadante constituyó el extracto enzimático crudo.

La mezcla de reacción consistió en 2.7 mL de 10 mM Tris/HCl pH 8.5 y 0.1 mL de 0.88% H_2O_2 en 100 mM Tris/HCl pH 8.5; a la cual se agregaron 0.2 mL de extracto

enzimático. La actividad de catalasa se monitoreo a 240 nm por 10 min a temperatura ambiente (24-26 °C) con un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda™ 365. Una unidad de actividad de CAT específica fue reportada como la descomposición de 1 μmol de H_2O_2 por minuto por gramo de proteína ($1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g proteína}^{-1}$) (Rivera-Pastrana y col., 2013).

5.3.3.1.2 Superóxido dismutasa

La actividad de superóxido dismutasa se determinó de acuerdo al método de Tejacal, y col. (2005). La actividad de SOD, se obtuvo mediante la inhibición de la reducción fotoquímica del azul de nitrotetrazolio (NBT). La enzima se extrajo a partir de 0.5 gr de polvo de acetona, homogenizado con 10 mL de buffer fosfato 50 mM pH 7.8 y centrifugado 20 min a 10000 rpm a 4 °C. El sobrenadante constituyó el extracto enzimático. El buffer de reacción consistió en 27 mL de buffer fosfato 50 mM pH 7.8, 0.1 mM EDTA, 1.5 mL de solución de L-metionina (30 mg mL^{-1}), 1 mL de NBT (1.41 mg mL^{-1}) y 0.75 mL de solución X-100 tritón al 1%. Para la reacción a 0.03 mL de solución de riboflavina ($4.4 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$), se añadieron 0.4 mL de extracto enzimático y 2.57 mL del buffer de reacción, y posteriormente, se expuso a luz fluorescente emitida por una lámpara de 20 W por 15 min a temperatura ambiente (24-26 °C), la absorbancia se midió a 560 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda™ 365. Una unidad de actividad específica de SOD se definió como la concentración de extracto enzimático que inhibe 50 % la formación de NBT por minuto por gramo de proteína ($\text{U min}^{-1} \text{ g proteína}^{-1}$) (Rivera-Pastrana y col., 2013).

5.3.3.1.3 Glutación peroxidasa

Para la actividad de glutatión peroxidasa se empleó el método descrito por Önder y col. (2021) con ligeras modificaciones. La enzima se extrajo a partir de 0.2 g de polvo de acetona, homogenizado con 10 mL del buffer de extracción (0.1 M Tris-

HCl pH 7.8, 2 mmol EDTA y 2 mmol de β -mercaptoetanol). Posteriormente, se centrifugó a 4°C y 20,000 g por 20 min, el sobrenadante constituyó el extracto enzimático. La mezcla de reacción consistió en un buffer 0.1 M Tris-HCl pH 7, 1 mM NaN₃, 0.15 mM NADPH, 0.4 mM EDTA, 1 mM GSH, 1 U glutatión reductasa, 1 mM H₂O₂, and 100 μ L del extracto enzimático. La reacción inició con la adición de H₂O₂. La actividad de la GSH-Px se determinó por la formación de NADP⁺ a 340 nm. Una unidad de GSH-Px específica fue reportada como la formación de 1.0 M de NADP⁺ a partir de NADPH por minuto por gramo de proteína (U min⁻¹ g proteína⁻¹).

5.3.3.2 Determinación de proteína

Se determinó proteína para realizar la estimación de la actividad específica de las enzimas previamente descritas utilizando el método de Bradford (1976). A partir de una solución estándar de 1 mg mL⁻¹ de seroalbúmina bovina, se realizó una curva de calibración de 5 a 50 μ g mL⁻¹ (Anexo 5), utilizando como blanco agua destilada. Se tomaron 100 μ L de muestra (extracto enzimático y soluciones estándar) y se añadieron 100 μ L del reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich). A los 5 minutos de reacción se leyó la absorbancia a 595 nm en un lector de microplaca BIO-RAD. Los resultados fueron expresados en μ g mL⁻¹ y se utilizaron para determinar la cantidad de proteína en el extracto enzimático.

5.3.5 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de cada tratamiento fueron analizados a través de un análisis de varianza para comparar el efecto de los tratamientos mediante comparación de medias a través de la diferencia significativa (LSD) a través de la prueba T de Student ($\alpha = 0.05$) utilizando el paquete estadístico JMP 6.0. La unidad experimental consistió de 5 frutos por réplica y se tomaron 3 réplicas por tratamiento para evaluar las variables de respuesta.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Efecto de la aplicación foliar de Na_2SeO_4 en el metabolismo de frutos de guayaba.

6.1.1 Efecto del selenio en el crecimiento del fruto.

El selenio en dosis adecuadas puede mejorar el rendimiento y la calidad de los frutos; sin embargo, en dosis mayores puede ser tóxico para la planta afectando la síntesis de biocompuestos como la clorofila, la estructura y funcionalidad de proteínas a las cuales se puede incorporar (Mimmo, y col., 2017; Wrobel y col., 2020).

El monitoreo del crecimiento de los frutos después de la aplicación de Na_2SeO_4 y los frutos control se muestra en la Figura 6. La aplicación foliar de 5 mg L^{-1} de selenato de sodio no tuvo un efecto significativo en el crecimiento del fruto; tanto los frutos control como los tratados mostraron el mismo patrón de crecimiento doble sigmoideal reportado en frutos de guayaba cv “Media China” por Mercado-Silva y col, 1998, y el tamaño de los frutos fue similar hasta los 120 días de crecimiento de los frutos..

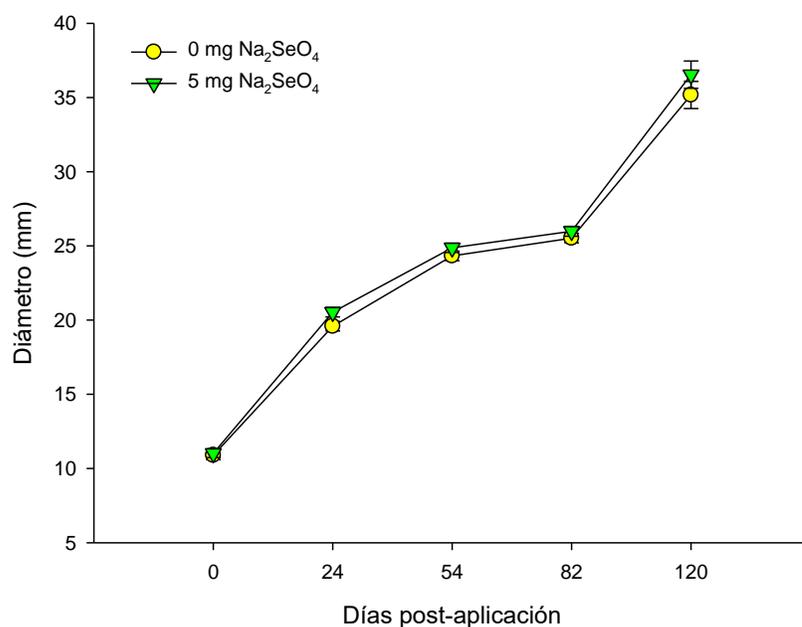


Figura 6. Efecto de la aplicación de 0 y 5 mL⁻¹ de Na₂SeO₄ en los cambios del diámetro ecuatorial de frutos de guayaba con diámetro inicial de 5 mm. Las barras verticales representan el error estándar de las muestras.

El efecto del tratamiento de selenato de sodio sobre el crecimiento de frutos de guayaba no ha sido reportado anteriormente; no obstante, Alba-Jiménez (2018) indicó un retraso de 45 días en la maduración de los frutos tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio. Por ello, se esperaba que la tasa de crecimiento en los frutos tratados de este experimento fuera menor que los frutos control y que su cosecha también mostrara un retaso similar al señalado por dicha autora. Aunque el experimento se realizó en dos huertos diferentes, los resultados no mostraron diferencias entre los tratamientos.

Para tratar de explicar las posibles causas de las diferencias entre estos estudios, se debe anotar que el huerto donde Alba Jiménez realizó sus experimentos está ubicado en la Comunidad de La Florida del mismo municipio de Jungapeo Michoacán. Mientras que los trabajos de este estudio se realizaron en La Soledad y La Granja de ese mismo municipio ubicados a 20 y 35 km de distancia de La Florida. Las características del suelo y la geografía eran diferentes; el huerto de la Florida tenía un suelo un poco más profundo, menos rocoso, de mayor humedad (ubicado más cerca del río Tuxpan); mientras que los huertos de la Soledad y La Granja eran huertos de mayor inclinación, con suelos poco profundos, muy rocosos y de poca humedad. Los tres huertos son manejados por propietarios diferentes. Estas características, no consideradas en el desarrollo de este trabajo, pudieron ser las causas de los resultados encontrados.

Los retrasos en el crecimiento y maduración provocados por las aplicaciones de selenato de sodio han sido informados en otros productos; Pezzarossa y col., (2014) y Pucinelli y col., (2018) reportaron que 1 y 1.5 mg Se L⁻¹, respectivamente, aplicados en un cultivo hidropónico de tomate retrasó la madurez de cosecha, sin afectar el rendimiento total del cultivo.

En estudios sobre biodisponibilidad y absorción de Se en plantas de soya, cultivadas en diferentes tipos de suelo (amarillo café con pH 5.68 y calcáreo aluvial pH 7.87), fue significativamente diferente (Deng, et al., 2021); la absorción y biodisponibilidad en suelos calcáreos aluviales (pH 7.87) fue 3.2 veces mayor respecto de la observada en suelos amarillo café (pH 5.68). En este mismo estudio, se señaló que la fertilización con S influyó negativamente con la biodisponibilidad del Se. Estos datos pudieran explicar por qué los resultados de crecimiento observados en este trabajo no fueron similares a los observados por Alba Jiménez (2018).

Gupta & Gupta (2017) señalaron que la absorción y transporte de Se depende de la especie de planta, la fase de desarrollo, forma y concentración del Se, condiciones fisiológicas de la planta, salinidad y pH del suelo, presencia de otras sustancias, actividad de los transportadores de membrana y de los mecanismos de translocación de la planta. En suelos alcalinos el Se se encuentra como selenato y en suelos ácidos se encuentra como selenito; estas dos formas difieren en su movilidad y absorción dentro de la planta. La translocación de una molécula de estos compuestos depende de la velocidad de carga del xilema y de la velocidad de transpiración (Renkema y col., 2012). El selenito es transportado por medio de transportadores de fosfato (Li y col., 2008) mientras que el selenato es transportado mediante canales y transportadores de sulfato (Zhao y col., 2005).

Respecto de la nutrición con sulfatos (fuente de S para la planta), estudios recientes con soya cultivada en suelos ácidos (pH 5.65) y alcalinos (pH 7.87) con y sin aplicaciones de fertilizantes con azufre, indican que en suelos calcáreos la absorción de Se fue 3.2 veces mayor que la observada en suelos ácidos y que la aplicación de sulfatos como fertilizante (S), redujo la absorción de Se en las plantas (Deng y col., 2021). Nuestros experimentos realizados en huertos diferentes a los utilizados por Alba-Jimenes (2018) pudieron tener un pH ácido y con suministro adecuado de S lo cual podría haber dificultado la absorción y transporte del Se evitando los retrasos en el crecimiento y obteniendo los resultados anotados en este reporte.

El hecho de que en este experimento no se retrasara el desarrollo del fruto plantea la posibilidad que los efectos del Se en el crecimiento de los frutos de guayaba pudieran estar asociados a otros mecanismos entre los cuales la absorción del Se podría verse modificado por distintas composiciones del suelo donde se cultivaron los árboles en los diferentes experimentos.

La argumentación anterior, hace notar la necesidad de un estudio más profundo que implique las diferentes zonas de cultivo, análisis de suelos, contenido de Se en la planta, la aplicación de selenato en diferentes etapas de desarrollo del fruto, así como la fertilización dada al cultivo por el productor. La importancia de esto radica en que, durante la absorción y metabolismo del selenio en la planta, la disponibilidad de diversos elementos puede afectar la absorción del selenio y por lo tanto los efectos de este en la planta se pueden ver modificados.

6.1.2 Efecto de las aplicaciones de selenato en la tasa de respiración

Uno de los parámetros importantes a evaluar y monitorear cambios en el metabolismo de los frutos es la respiración. Esta función se puede ver alterada por distintos factores biológicos y ambientales como el tipo de fruto, (climatérico o no climatérico), y la temperatura, humedad relativa, el daño mecánico, entre otros.

La tasa de respiración de los frutos tratados en pre cosecha con $5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SeO}_4$ y almacenados 15 días a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ y después transferidos 5 días a $20 \text{ }^\circ\text{C}$. indicó que al inició del almacenamiento, los frutos tratados con selenato tuvieron una tasa de respiración significativamente mayor y que después esta diferencia ya no se observó aunque si hubo una tendencia a mostrar valores más altos los frutos tratados con selenato (Figura 7). Estos datos sugieren que la aplicación de Na_2SeO_4 en dosis de 5 mg L^{-1} no afecta la tasa de respiración de frutos de guayaba durante el almacenamiento.

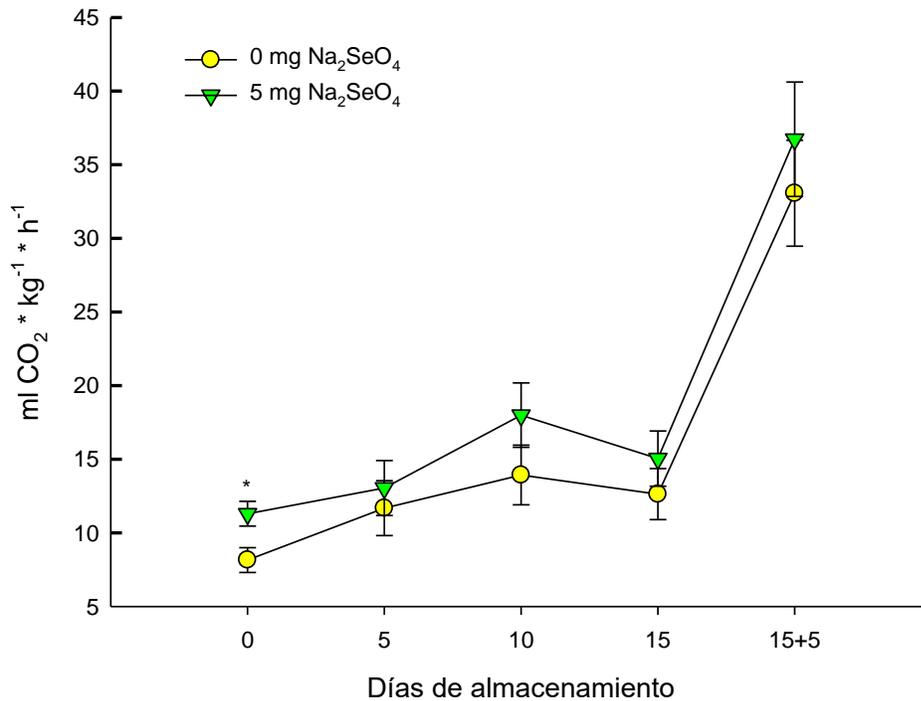


Figura 7. Tasa de respiración de los frutos de guayaba ‘Media China’ almacenados por 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), las barras verticales representan el error estándar de las muestras.

La respiración es un proceso biológico que implica la degradación controlada de compuestos orgánicos como carbohidratos, lípidos, ácidos orgánicos y en ocasiones proteínas, generando moléculas más simples como CO₂ y H₂O, produciendo una liberación de energía acoplada a la síntesis de ATP, esta energía es utilizada para el desarrollo y mantenimiento de la planta. Debido a esta degradación de compuestos, una alta tasa de respiración implica una menor vida de anaquel en productos perecederos como frutas y hortalizas.

En cultivos de tomate la adición de 1 y 1.5 mg Se L⁻¹ mostró una menor tasa de respiración (Zhu y col., 2017; Puccinelli y col., 2018), generando así un producto con mayor vida de anaquel.

Recientes investigaciones de metabolómica y RNA-Seq, indicaron que las aplicaciones de Se en forma de nanomateriales a dosis de 10 mg L^{-1} en hojas de rábano (*Raphanus sativus* L. var. radculus pers) incrementaron la glucólisis, el TCA e incrementaron 3.2 veces la producción de flavonoides y 1.4 veces la producción de aminoácidos (Cheng y col., 2022). Todos estos datos sugieren considerables discrepancias en la literatura sobre los efectos de este elemento; puesto que algunas sugieren incrementos en el crecimiento y metabolismo de producto, otros indican reducción de estos parámetros. En guayaba, Alba-Jiménez (2018) sugiere un retraso en la maduración y desarrollo de la fruta y este estudio no muestra efectos significativos en la misma variedad de guayaba. La respuesta a estas discrepancias pudiera ser dada con un estudio más profundo que incluya los análisis de suelo y programas de fertilización de azufre.

6.1.3 Efecto del Na_2SeO_4 en la producción de etileno

En la figura 8 se muestra la producción de etileno de frutos control y tratados con Na_2SeO_4 , durante el almacenamiento a $10 \text{ }^\circ\text{C}$. Durante los primeros 13 días no se observaron diferencias significativas en la producción de etileno entre los tratamientos. No obstante, después del día 13 se presentó el pico climatérico de producción de etileno, observándose que los frutos tratados con selenato de sodio mostraron una menor tasa de producción de etileno respecto de los frutos no tratados, (43 y $34 \text{ } \mu\text{L etileno kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente). Esta producción de etileno alcanzó un máximo en los frutos transferidos por 5 días a temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ sin observarse diferencias significativas en ambos tratamientos.

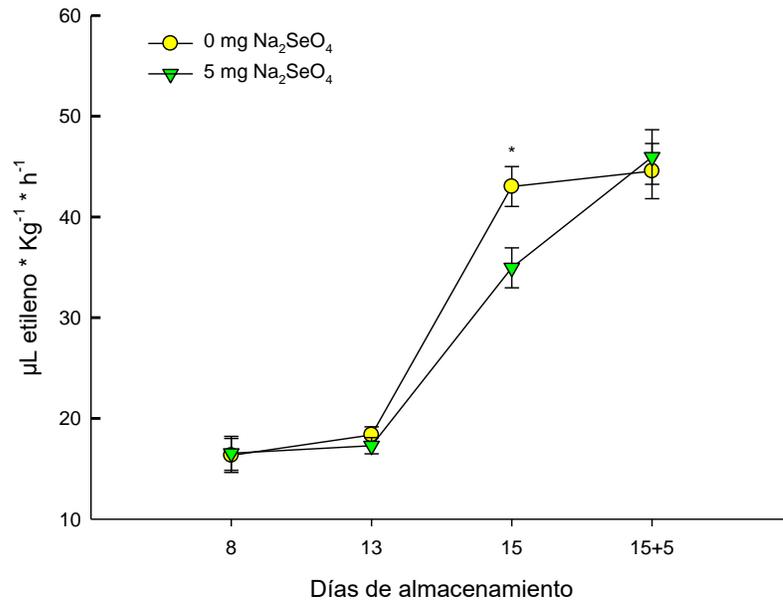


Figura 8. Tasa de producción de etileno de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ y almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), las barras verticales representan el error estándar de las muestras.

El etileno es una fitohormona que participa en distintos procesos durante la maduración y senescencia de los frutos; en frutos climatéricos, el incremento en la tasa de respiración (pico climatérico) es provocado por un incremento en la tasa de producción de etileno. Mercado-Silva y col (1998) describieron este pico de respiración y etileno en frutos de guayaba 'Media China' almacenados a 25 °C e indicaron que los frutos producidos en la estación primavera verano mostraban sus picos climatéricos a los 5 días de almacenamiento mientras que los frutos producidos en la estación otoño. Invierno lo presentaron a los 7 y 8 días. Los frutos almacenados a 10 °C, presentaron el incremento en la producción de etileno el día 15 de almacenamiento tanto en frutos tratados como en frutos control. Los frutos tratados con Na₂SeO₄, la producción de etileno fue menor y ambos tratamientos alcanzaron su máximo hasta la transferencia a 20 °C, donde no se observaron diferencias entre los tratamientos.

Aunque el fruto de guayaba se ha descrito como fruto climatérico, su sensibilidad al etileno ambiental no es dependiente de la concentración de esta fitohormona (García Velasco 1997) y cada fruto inicia su climatérico cuando se encuentra en la etapa de madurez fisiológica.

La menor producción de etileno, en el día 13 de almacenamiento, en los frutos tratados con Na_2SeO_4 puede indicar un retraso del proceso de maduración de los frutos como se mostrará en la evolución de la calidad visual de los frutos, no obstante, este retraso en la maduración no estuvo completamente asociado al proceso de crecimiento descrito en la primera sección de resultados.

En tomate, Zhu y col., (2017) describieron un retraso en la maduración y biosíntesis de etileno e indicaron que la disminución de la síntesis de etileno se debió a una represión de la expresión de los genes de ACC sintasa y ACC oxidasa. Por su parte Puccinelli y col., (2018), también indicaron un retraso en la maduración de esta hortaliza. En este experimento, como ya se ha relatado, se esperaba que el selenato de sodio retrasara el desarrollo del fruto y que una vez que este alcanzara su crecimiento completo y su etapa de madurez fisiológica empezara su proceso de maduración. Aunque esto no fue observado, la menor producción de etileno en el climatérico de los frutos tratados parece indicar que el selenato tuvo un efecto parcial sobre la producción de etileno en los frutos de guayaba producidos en dos huertos con tipos de suelo diferentes al utilizado por Alba–Jiménez (2018)

6.2 Efecto del Na_2SeO_4 en la calidad de frutos de guayaba

6.2.1 Cambios en la calidad visual

La calidad visual o apariencia de frutas y hortalizas, es de gran importancia debido a que es uno de los principales factores que influyen en la decisión de compra del consumidor (Kyriacou y Rouphael, 2018). La figura 9 muestra los frutos tratados con 0 y 5 mg de Na_2SeO_4 . Durante el almacenamiento a 10 °C, los frutos tratados con

selenio mostraron un retraso en el proceso de maduración, reflejado como un retraso en el cambio de color verde a amarillo, este retraso se hizo más notorio desde el día 10 y continuó hasta el día 15 de almacenamiento a 10 °C, no obstante, durante la transferencia por 5 días a 20 °C no se observaron diferencias entre los tratamientos. Esto coincide con lo observado por Alba- Jiménez en el 2018, en frutos de guayaba tratados con 1 y 5 mg Se L⁻¹.



Figura 9. Cambios en la calidad visual de los frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ en precosecha almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C.

El ligero retraso en el proceso de cambio de color visual de los frutos tratados con selenato parece estar asociado a la menor producción de etileno descrita en la sección anterior. Es importante mencionar que dentro de los procesos que inicia el etileno durante la maduración es el desverdizado de los frutos, a través de la degradación enzimática de la clorofila que da lugar al desenmascarado de pigmentos amarillos y la síntesis de carotenoides.

Este retraso en la maduración puede deberse parcialmente al efecto antioxidante que puede tener el selenio en las células, al incrementar la actividad de enzimas del

sistema antioxidante, principalmente GSH-Px, donde actúa como cofactor. La menor producción de etileno y el correspondiente retraso en la maduración fue reportado en tomate por Pezzarossa y col (2014) y por Zhu y col., (2017) quienes señalaron que la menor producción de etileno se debió a una menor expresión de genes de la síntesis de etileno (ACC sintasa y ACC oxidasa). Aunque en este estudio no se evaluaron la expresión de estos genes, es probable que este retraso en la maduración se explique también por ese mecanismo.

6.2.2 Cambios en la firmeza de los frutos

La pérdida en la firmeza de los frutos está asociada a la degradación enzimática de los polímeros de la pared celular y/o a la pérdida de turgencia de los tejidos a causa de la pérdida de agua o la transpiración de los frutos (Proctor y Peng, 2006; Jackman y col., 1992). Esta pérdida de firmeza es uno de los principales factores que afecta la vida de anaquel de frutos y hortalizas.

Aunque los valores de firmeza de los dos tratamientos fueron estadísticamente iguales al inicio del almacenamiento; este factor se redujo diferencialmente a medida que transcurrió el almacenamiento a 10 °C (Figura 10). La reducción de este parámetro fue más rápida para los frutos control; mientras que los frutos tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio, mostraron valores significativamente mayores que los frutos control, aunque estos fueron iguales al control cuando los frutos se transfirieron a 20 °C. Estos resultados dan soporte a lo observado en el proceso de cambio de color visual señalado en la sección anterior.

En el día 5 de almacenamiento a 10 °C, los valores de firmeza entre los frutos tratados con Na₂SeO₄ y control fueron 38 y 32 N, respectivamente, esto representó un 14 % más firmeza en los frutos tratados. Para el día 10, los frutos tratados tuvieron 28% más firmeza que los frutos control, (32 N y 23 N, respectivamente). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Alba-Jiménez en 2018 quien

reportó que frutos de guayaba tratados con Na_2SeO_4 tuvieron una mayor resistencia mecánica.

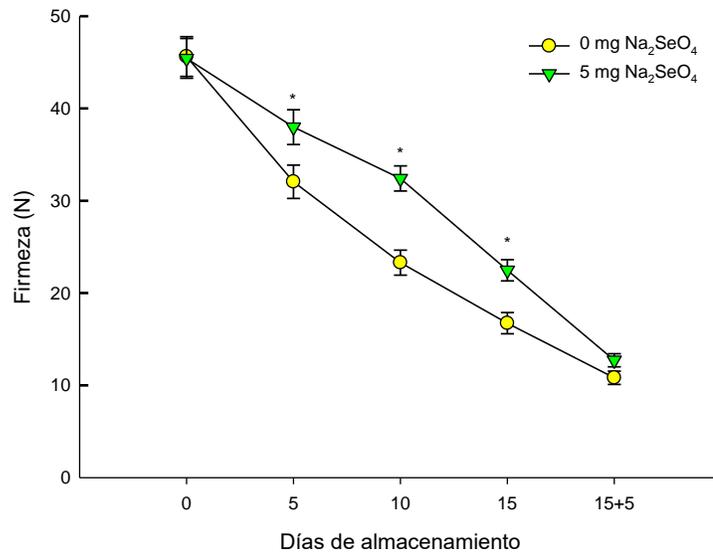


Figura 10. Cambios en la firmeza (N) de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L^{-1} de Na_2SeO_4 almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), las barras verticales representan el error estándar las muestras.

Puccinelli y col., (2018) también observó una retención diferencial de la firmeza en frutos de tomate tratados con 1 y 1.5 mg L^{-1} de selenato de sodio reportando una mejor firmeza en la concentración más alta; también de forma interesante, señalaron un efecto diferencial de estas aplicaciones respecto del momento de cosecha; los frutos cosechados a los 85 días después del trasplante tuvieron una mayor firmeza que los frutos cosechados a los 63 días. Estos autores no comentan estas diferencias, aunque si explican que la mejor firmeza de los frutos tratados con selenato pudiera deberse a un mayor espesor de la cutícula de los frutos que posiblemente disminuyó la pérdida de agua manteniendo la firmeza de la fruta.

Como consecuencia de una menor velocidad de pérdida de firmeza durante el almacenamiento, se incrementa la vida de anaquel. Estas mismas observaciones fueron registradas en frutos de tomate, pera, y durazno después de la aplicación de Se en precosecha (Zhu y col., 2017; Pezzarossa y col., 2012; Wu y Tian, 2009).

6.2.3 Pérdida de peso.

Durante el almacenamiento de los frutos tanto a 10 °C como en la transferencia a 20 °C se observó un incremento gradual en la pérdida de peso, sin haber diferencias estadísticamente significativas entre el control y los frutos tratados con selenato de sodio (Fig. 11). La pérdida de peso fue notablemente mayor a la reportada en la literatura para otros frutos; Zhu y col., (2017) indicaron pérdidas de peso de 3 % en frutos de tomate tratados con 1 mg L⁻¹ de selenato de sodio y 5 % en frutos control después de 20 días de almacenamiento a 25 °C.

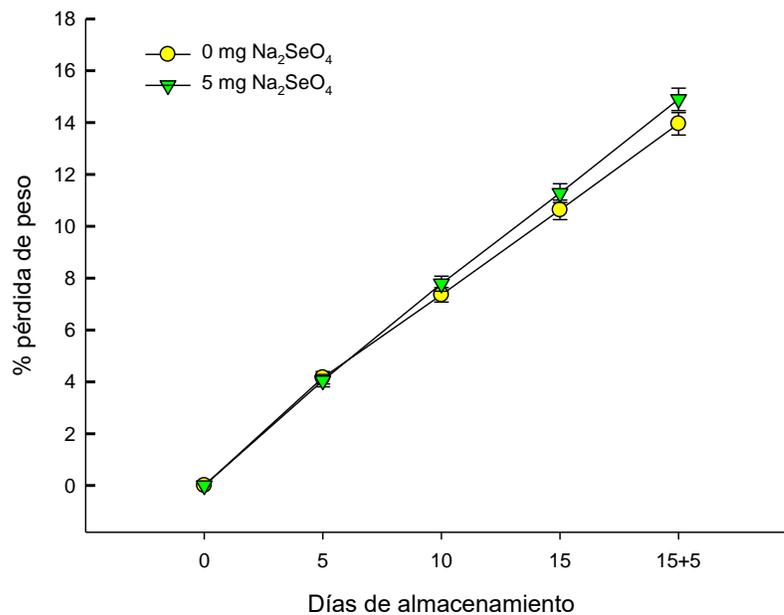


Figura 11. Pérdida de peso (%) de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. Las barras horizontales representan el error estándar las muestras.

Los datos registrados en este trabajo y los reportados por Alba-Jiménez (2018) señalan una fuerte tendencia de la guayaba a perder peso durante su almacenamiento, lo cual parece indicar una mayor actividad metabólica de los mismos.

Por su parte, Alba-Jiménez (2018) tampoco observó diferencias en la pérdida de peso en frutos de guayaba almacenados 15 días a 10 °C y tratados con 0-5 mg L⁻¹ de selenato de sodio. No obstante, el porcentaje de pérdida de peso registrado por esta autora (8-9 %) fue notablemente menor al registrado en este trabajo (11-12%).

Durante la transferencia a 20 °C, esta autora registró una menor pérdida de peso en los frutos tratados con 5 mg L⁻¹ (16 %) dato que es similar al registrado en este trabajo. No obstante, en los frutos control, esta autora registró pérdidas de peso más altas (20 %) que las observadas en este trabajo (14 %).

El comportamiento de pérdida de peso durante el almacenamiento fue prácticamente lineal ($y = 0.7142x + 0.2699$; $R^2 = 0.9956$); mientras que Alba-Jiménez (2018) muestra un incremento notable de pérdida de peso al transferir los frutos a 20 °C, el cual no fue observado en este trabajo.

El comportamiento de pérdida de peso no parece correlacionarse con la tasa de respiración ni con la producción de etileno o con los cambios en la firmeza de los frutos tratados y no tratados con selenato de sodio; pero si tiene alguna relación con el crecimiento de los frutos. De manera interesante, este comportamiento se añade al no retraso del crecimiento de los frutos que previamente había observado Alba-Jiménez (2018). Nuevamente, esto parece señalar algún efecto del origen de las muestras utilizadas en este estudio y comentado en la sección de crecimiento de los frutos.

6.2.4 Cambios en el contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable de frutos de guayaba tratados con selenato de sodio

La acidez titulable y el contenido de sólidos solubles totales se modifican a medida que cambia la maduración de los frutos climatéricos. La acidez titulable de los frutos control y tratados con selenato de sodio se incrementó conforme transcurrió el almacenamiento sin observarse diferencias significativas entre ambos tratamientos (Tabla 6). El contenido de sólidos solubles totales, también se incrementó durante el almacenamiento; no obstante, este incremento mostró diferencias significativas entre los tratamientos, los frutos tratados con selenato de sodio alcanzaron valores menores que los mostrados por los frutos control.

Tabla 6. Cambios en la acidez titulable (AT) y el contenido de sólidos solubles totales (SST) en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio almacenados durante 15 días a 10°C y transferidos 5 días a 20°C

Días de almacenamiento					
Tratamiento	AT (meq ácido cítrico)				
	0	5	10	15	15+5TA
0 mg Na₂SeO₄	0.7695 ^a	0.8368 ^a	0.9065 ^a	0.9588 ^a	0.9339 ^a
5 mg Na₂SeO₄	0.8019 ^a	0.8729 ^a	0.9464 ^a	0.9638 ^a	0.9289 ^a
	SST (°Brix)				
	0	5	10	15	15+5TA
0 mg Na₂SeO₄	12.7 ^a	13.5 ^a	13.5 ^a	15.7 ^a	14.3 ^a
5 mg Na₂SeO₄	12.6 ^a	12.4 ^b	13.5 ^a	13.9 ^b	13.7 ^b

^aValores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$)

Alba-Jiménez, (2018) también indicó incrementos en el contenido de acidez titulable en los frutos control, mientras que los frutos tratados con selenato de sodio tuvieron un máximo en el día 10 y disminuyó al final del almacenamiento. El incremento en la acidez de los frutos de guayaba está asociado a un aumento en el contenido de ácidos orgánicos, como el ácido ascórbico y ácido cítrico, siendo la guayaba uno de los frutos con altos contenidos de ácido ascórbico (Prance, 2003).

Los cambios en el contenido de sólidos solubles en los frutos tratados con selenato coincide con lo observado por Alba-Jiménez (2018) aunque sus datos fueron más bajos que los observados en este trabajo. Estos cambios indican un efecto del selenato en el metabolismo de los frutos lo cual se asocia con una menor producción de etileno y el menor cambio de color durante la maduración de los frutos indicado en la sección de cambios de calidad visual.

Los frutos climatéricos, como la guayaba, se caracterizan por diversos cambios bioquímicos en poscosecha, entre estos se encuentra el aumento de °Brix a medida que incrementa el estado de madurez (Gill y col., 2014). No obstante, este proceso se ve ligeramente alterado por las aplicaciones del selenato de sodio.

6.3 Efecto del Na_2SeO_4 en el sistema antioxidante de frutos de guayaba.

Durante la maduración de los frutos climatéricos, como la guayaba, hay un incremento en la tasa de respiración que se asocia a un incremento en la producción de especie reactivas de oxígeno. La capacidad que tiene el tejido para soportar el estrés oxidativo generado por la respiración dependerá de la capacidad de respuesta que tenga el fruto durante la maduración (Meitha y col., 2020).

Esta capacidad de respuesta al estrés oxidativo está asociada a dos factores: a) contenido y biosíntesis de compuestos antioxidantes que limitan la acción de las especies reactivas de oxígeno y b) al sistema enzimático encargado de degradar las especies reactivas de oxígeno generadas durante la respiración (Hodges y col., 2004, Gómez y Lajolo, 2008; Engwa, 2018).

En este conjunto de fenómenos fisiológicos que ocurren durante la maduración de la guayaba, es importante conocer que efectos tuvo la aplicación de selenato de sodio en los mecanismos de respuestas al estrés oxidativo.

6.3.1 Efecto de la aplicación de selenato de sodio en el sistema antioxidante no enzimático. Contenido de ácido ascórbico (AA)

El ácido ascórbico o vitamina C, además de ser un indicador de calidad en frutas y hortalizas actúa como uno de los sistemas antioxidantes no enzimáticos (Uddin y col., 2002; Gómez y Lajolo, 2008). La guayaba es un fruto con alto contenido de ácido ascórbico, por lo que la actividad antioxidante de este es particularmente importante. El contenido de ácido ascórbico se incrementó durante el almacenamiento a 10 °C; no obstante, los frutos tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio mostraron un menor contenido respecto del mostrado por los frutos control (Figura 12).

Aún cuando los frutos tratados con selenato de sodio, mostraron un menor contenido de ácido ascórbico que los frutos control; ambos frutos tuvieron la capacidad de sintetizar este ácido durante el almacenamiento. No obstante, la menor biosíntesis de este ácido en los frutos tratados seguramente tiene impactos negativos en la capacidad antioxidante para atrapar especies reactivas de oxígeno.

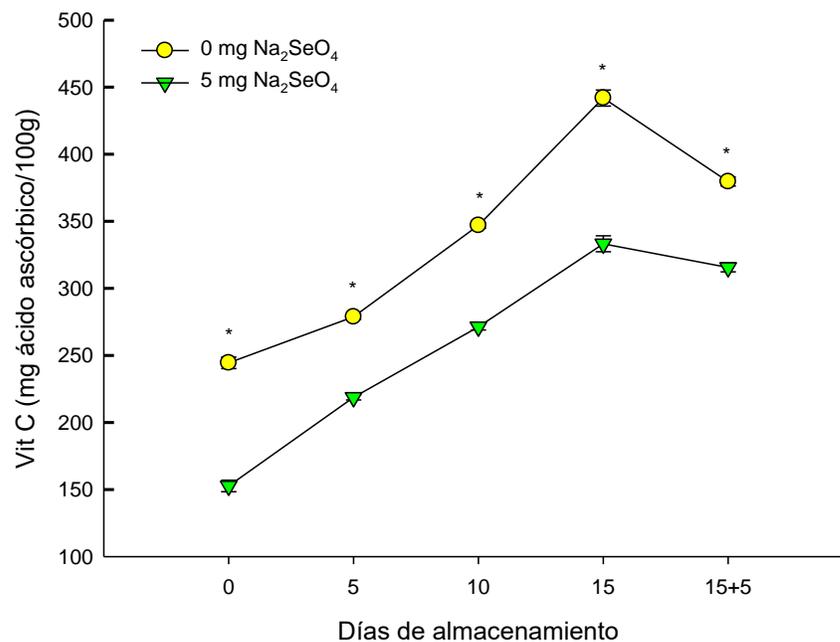


Figura 12. Cambios en el contenido de ácido ascórbico de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.

Durante la transferencia a 20 °C hubo una disminución en el contenido de ácido ascórbico.

El incremento de ácido ascórbico durante la maduración del fruto ya ha sido reportado por diversos autores (Mercado y col., 1998; Rashida y col., 1997) así como la disminución durante la senescencia del fruto (Gomez y Lajolo, 2008).

El contenido de ácido ascórbico en frutos control se incrementó de 244 a 442 mg AA 100 g⁻¹ mientras que en frutos tratados con Na₂SeO₄ este incremento varió desde 153 a 333 mg AA 100 g⁻¹, esto representó una disminución de 25 a 48% de esta vitamina. Estos resultados difieren de los reportados para tomate y lechuga, donde la suplementación con 1 mg L⁻¹ de selenato de sodio incrementó el contenido de esta vitamina en plantas de tomate (Zhu y col., 2017; Hernández y col., 2019; Ríos y col., 2009). Como se ha mencionado, el selenio puede actuar como antioxidante o prooxidante, esto dependerá de factores como la concentración de Se en la célula y si esta tiene o no la capacidad para acumular especies orgánicas de selenio. Esto parece indicar que la aplicación de 5 mg L⁻¹ tuvo un efecto prooxidante que disminuyó los contenidos de ácido ascórbico en el fruto.

El efecto protector y prooxidante del selenio en el contenido de ácido ascórbico se ha visto en plántulas de arroz sometidas a 1, 2.5 y 5 ppm de selenato de sodio, donde a 1 ppm de Se el contenido de AA se incrementó respecto del control y un efecto prooxidante se observó a partir de 2.5 ppm disminuyendo los contenidos de ácido ascórbico y la actividad de la glutatión S transferasa. No obstante, en plántulas estresadas con mayores dosis de selenio (2 y 5 ppm) y en presencia de 50 μM de ácido ascórbico hubo un incremento en las actividades de las enzimas antioxidantes ascorbato peroxidasa y glutatión reductasa y la concentración endógena de AA se incrementó 2.1 y 5.3 veces, respectivamente (Sharma y col., 2014).

Los resultados descritos anteriormente, sugieren que la concentración de 5 mg L⁻¹ tuvo un efecto prooxidante en los frutos de guayaba disminuyendo su contenido de ácido ascórbico. Aunque después del almacenamiento a 10 °C el contenido residual de esta vitamina continúa siendo alto. Este es el primer reporte sobre los efectos de la aplicación de selenato de sodio sobre el contenido de esta vitamina en frutos de guayaba.

6.3.2 Cambios en el sistema enzimático antioxidante.

Como respuesta a la generación de especies reactivas de oxígeno generadas durante la respiración de la fruta en el proceso climatérico de maduración se expresan genes y se generan enzimas encargadas de la eliminación de estas especies reactivas. Dentro de ese conjunto de enzimas se encuentra la superóxido dismutasa, la catalasa, la peroxidasa, la glutatión reductasa entre otras. Cada una de ellas tiene un papel importante en el control del estrés oxidativo de los tejidos (Meitha y col., 2020).

Al selenio se le han adjudicado efectos positivos en el desarrollo de plantas, así como efectos negativos en la mismas (Kaur y col., 2014). Es por ello que en este trabajo se comparó el efecto de la aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio en los sistemas enzimáticos antioxidantes en los frutos obtenidos de esas plantas.

6.3.2.1 Cambios en la actividad de la enzima super óxido dismutasa (SOD).

La enzima SOD es la encargada de la dismutación del anión superóxido (O₂⁻) en O₂ o H₂O₂ que posteriormente será transformado por la catalasa en agua y oxígeno molecular (Bowler y col., 1992). A pesar de que el estrés oxidativo es una consecuencia del proceso de maduración y senescencia de los frutos, la enzima SOD tiene un papel esencial al disminuir el daño celular causado por el radical superóxido. En frutos de guayaba se ha reportado que esta enzima incrementa

ligeramente mientras alcanza la madurez de consumo y posteriormente hay una disminución en la actividad mientras llega a la senescencia del fruto, como consecuencia se da una acumulación de radical superóxido, lo que lleva a incrementar el estrés oxidativo y el deterioro de los frutos (Mondal y col., 2009).

Los frutos control y tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio tuvieron actividades estadísticamente diferentes durante su almacenamiento a 10 °C y su posterior transferencia a 20 °C. Los frutos tratados con selenato de sodio y almacenados 15 días a 10 °C, mostraron una actividad específica de SOD mayor que los frutos no tratados. Este comportamiento se invirtió al transferir los frutos de 10 a 20 °C, los frutos control mostraron una actividad mayor que los frutos tratados con selenato de sodio (Figura 13)

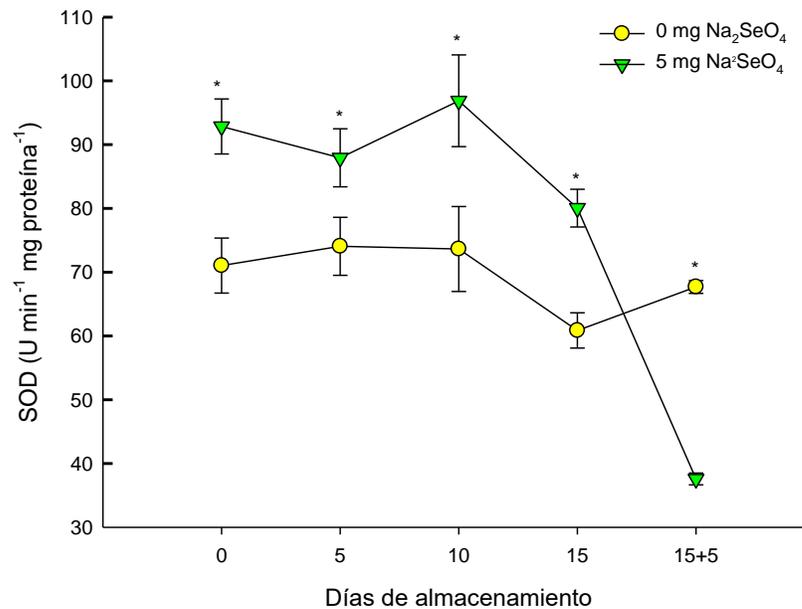


Figura 13. Cambios en la actividad enzimática de superóxido dismutasa de frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.

El tratamiento con pequeñas dosis de selenio ha demostrado tener un efecto positivo en la actividad de esta enzima, en plantas de fresa sometidas a estrés por sequía y aplicaciones de 50-100 mg Se L⁻¹ la actividad de SOD se incrementó un 23% (Zahedi y col., 2020). En plantas de quinoa, el tratamiento con 2, 5, 10 y 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio ocasionó un incremento gradual en la actividad de SOD, sin embargo, este incremento en la actividad se puede deber a que, en concentraciones de selenio más altas, este elemento actúa como prooxidante incrementando también la cantidad de H₂O₂ lo que podría inducir una mayor actividad de la SOD (Khalofah y col., 2021).

Alba-Jiménez y col., (2018) trabajando con frutos de guayaba procedentes de la Florida en Jungapeo, Mich., no observaron cambios en la actividad de SOD durante el almacenamiento a 10 °C en frutos de guayaba procedentes de plantas asperjadas con 1, 3 y 5 mg L⁻¹. No obstante, en los frutos procedentes de plantas tratadas con selenato de sodio y transferidos de 10 a 20 °C observó menores actividades de SOD como lo observado en este trabajo. No obstante, nuestros datos difieren de lo encontrado por esta autora durante el almacenamiento a 10 °C, donde se registraron actividades mayores y estadísticamente diferentes de lo observado con los frutos control. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que las aplicaciones de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio en plantas de la zona de Jungapeo, Michoacán si tuvo un efecto potenciador de la actividad de esta enzima durante el almacenamiento a 10 °C que probablemente mejoró su respuesta al estrés oxidativo generado por el almacenamiento a baja temperatura.

Se ha propuesto que el selenio puede disminuir los niveles del radical superóxido por la dismutación espontánea a H₂O₂ sin que sea necesaria la catálisis por medio de la SOD (Feng y col., 2013), por lo que al disminuir los niveles del anión O₂⁻ traería como consecuencia una menor actividad de SOD (Hartikainen y col., 2000; Hashem y col., 2013). La concentración de selenio aplicada tiene un papel diferencial en las respuestas de promoción del crecimiento o toxicidad a la planta. Silva y col. (2018), aplicaron dosis desde 0 a 1600 g de selenito de sodio ha⁻¹ vía foliar en garbanzo y

observaron que la actividad de la SOD varía dependiendo de la concentración de selenito aplicada; hubo un máximo cuando las dosis de selenio fueron de 1200 g ha⁻¹, seguidas por las dosis de 100 y 800 g ha⁻¹; las demás dosis aplicadas no mostraron diferencias con el grupo control.

6.3.2.2 Actividad de la enzima catalasa (CAT)

La función de esta enzima en el sistema de defensa antioxidante consiste en eliminar la especie de reactiva de oxígeno, peróxido de hidrógeno generada, por la acción de la SOD, en agua y oxígeno molecular (Feng y col., 2018); contribuyendo así a disminuir el estrés oxidativo de los frutos durante su maduración (Meitha y col., 2020) o sometidos al tratamiento de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio.

La actividad específica de la catalasa en frutos tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio y control tendió a incrementarse a partir del día 5 de almacenamiento a 10 °C y alcanzó un máximo el día 15 para posteriormente disminuir hasta valores similares al día 0 (Figura 14) en los frutos transferidos a 20 °C. Siguiendo ese comportamiento, los frutos control mostraron menor actividad en comparación con los frutos tratados con selenato de sodio.

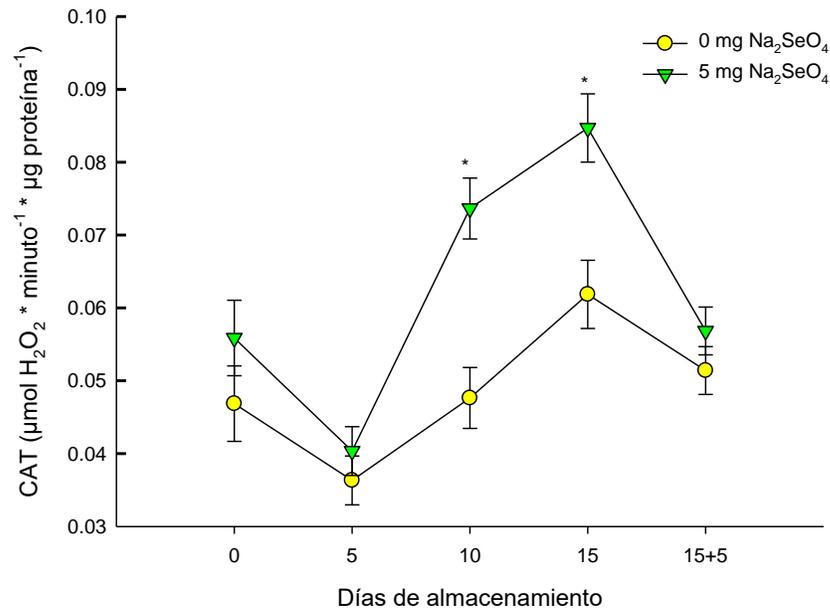


Figura 14. Cambios en la actividad enzimática de catalasa en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ durante su almacenamiento por 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras verticales representan el error estándar las muestras.

Este comportamiento concuerda con lo reportado por Mondal y col., en 2009 en frutos de guayaba en cv L-49 y Hisar Safeda sin tratamiento de selenato, donde se señala que la actividad de la catalasa también tuvo un máximo de actividad en la etapa de cambio de color y disminuyó en frutos maduros y sobre-maduros. De acuerdo con estos datos, la actividad de la catalasa cambia de acuerdo con el estado de madurez de la fruta; no obstante, la aplicación de 5 mg L⁻¹ de selenato parece promover una mayor generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) como el H₂O₂ que induce una mayor actividad de esta enzima como mecanismo de respuesta al estrés oxidativo (Ríos y col., 2008). Este es el primer reporte sobre los efectos de la aplicación foliar de selenato de sodio en frutos de guayaba que soportan la evidencia que las aplicaciones foliares de selenato de sodio a 5 mg L⁻¹ inducen estrés oxidativo en los frutos, pero incrementan su capacidad de respuesta a dicho estrés.

Los frutos tratados con Na_2SeO_4 mostraron una mayor actividad respecto de los frutos control, con una diferencia estadísticamente significativa en los días 10 y 15 de almacenamiento, con una diferencia de 175% más actividad. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Castillo-Godina y col., 2016 donde en frutos de tomate generados de plantas que fueron tratados con 5 mg L^{-1} de selenito de sodio (Na_2SeO_3) se indujo un incremento de hasta 352.7% en la actividad de catalasa respecto de los frutos de plantas no tratadas con este elemento.

Durante la maduración de los frutos se desarrollan numerosas reacciones bioquímicas, que generalmente van acompañadas de la liberación de ROS, generando un estrés oxidativo en la célula. Como respuesta del tejido para contrarrestar la acumulación de ROS se activan diferentes mecanismos antioxidantes, uno de estos es el incremento en la actividad de enzimas como la CAT, esta actúa como uno de principales defensas contra el estrés oxidativo provocado por la presencia de peróxido de hidrogeno (Zimmerman y col., 2006).

Estos datos sugieren que el incremento en la actividad de catalasa puede darse como respuesta primaria al tratamiento con selenio incrementando la formación de ROS, lo que originó un incremento en la concentración de H_2O_2 , que es utilizado como sustrato por la catalasa generando H_2O y O_2 (Mostofa y col., 2017; Gouveia y col., 2020). Debido a esto, a pesar del incremento en la formación de ROS, el incremento en la actividad enzimática de catalasa puede compensar y mejorar la respuesta al daño oxidativo provocado por el H_2O_2 a la estructura celular.

Alba-Jiménez (2018) también determinó diferencias significativas de la actividad de esta enzima en frutos de guayaba procedentes de plantas tratadas con 1, 3 y 5 mg de selenato de sodio. Nuestros resultados concuerdan con lo anotado por esta autora y señalan que las aplicaciones de selenato mejoran el sistema enzimático para resistir el estrés oxidativo generado por el almacenamiento a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ y por el proceso de maduración de los frutos.

6.3.2.3 Cambios en la actividad de glutatión peroxidasa (GSH-Px)

Esta enzima tiene un doble papel, participa en el sistema de defensa enzimático contra el estrés oxidativo degradando el peróxido de hidrógeno en agua utilizando glutatión reducido o tiorredoxina como donadores de electrones; y también se le ha descrito un papel importante como proteína sensora del estado redox de las células (Passaia y Margis-Pinheiro, 2015). No obstante, esta enzima es inducible por la presencia de selenio en los tejidos (Zhao y col., 2018).

Durante el almacenamiento a 10 °C de los frutos de guayaba procedentes de plantas control y tratadas foliarmente con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio, se observó un incremento de la actividad GSH-Px a lo largo del almacenamiento en refrigeración y una vez que los frutos fueron transferidos a 20 °C la actividad disminuyó ligeramente (Figura 15). La actividad fue mayor en el día 10 en los frutos tratados con selenato de sodio (246 %) respecto de los frutos control. Durante la transferencia a 20 °C, las actividades disminuyeron en ambos tratamientos, aunque los frutos procedentes de plantas tratadas con selenato mantuvieron una mayor actividad (235%) que los frutos control.

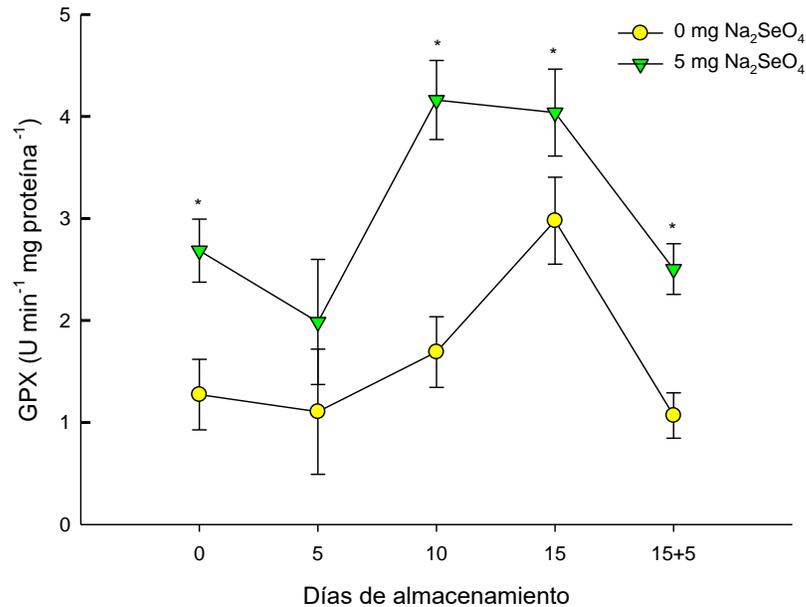


Figura 15. Cambios en la actividad enzimática de glutatión peroxidasa en frutos de guayaba tratados con 0 y 5 mg L⁻¹ de Na₂SeO₄ almacenados 15 días a 10 °C y transferidos 5 días a 20 °C. (*) Diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05); las barras horizontales representan el error estándar las muestras.

En 1999, Hartikainen y col., reportaron la presencia de una GSH-Px dependiente de selenio en plantas de forraje (raigrás), ya que en las plantas tratadas con selenio se registró un incremento en la actividad de esta enzima respecto del grupo control. De igual forma, en frutos de tomate tratados con 1 mg Se L⁻¹ se observó un incremento de hasta 3 veces la actividad de GSH-Px con respecto a los frutos control (Zhu y col., 2017).

Las altas actividades de glutatión peroxidasa en los frutos de guayaba tratados con selenato de sodio pareciera ser un mecanismo de respuesta para controlar el exceso de especies reactivas de oxígeno provocado por las aplicaciones foliares de selenato y/o si esta alta actividad fuera el resultado de la transformación de la proteína nativa a seleno proteína con una mayor capacidad catalítica.

En este estudio no se evaluó, si la enzima glutatión peroxidasa era una selenoproteína o si la proteína nativa se transformó en selenoproteína después del tratamiento con selenato de sodio. En cualquier caso, los frutos mostraron una mejor capacidad para resistir el estrés oxidativo y/o un mejor control el estado redox de los frutos.

6.3.3 Cambios en la capacidad antioxidante de los frutos

Se evaluó la capacidad antioxidante durante 15 días de almacenamiento a 10 °C y la transferencia a 20 °C; la capacidad para atrapar radicales libres se evaluó mediante el método DPPH y la capacidad antioxidante total se estimó por el método ABTS⁺.

La capacidad para atrapar radicales libres fue estadísticamente menor en los frutos procedentes de árboles de guayaba asperjados con solución acuosa de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio y almacenados a 10 °C por 15 días en comparación con los frutos no tratados (Tabla 7). Esto parece explicarse por el menor contenido de ácido ascórbico que mostraron los frutos tratados con selenato.

Por otro lado, la capacidad antioxidante total de los frutos procedentes de árboles asperjados con selenato de sodio fue estadísticamente mayor hasta los 10 días de almacenamiento a 10 °C respecto de los frutos no tratados. No obstante, después de 15 días a 10 °C y en las transferencias a 20 °C, la capacidad antioxidante total fue estadísticamente similar en ambos tratamientos. La alta capacidad antioxidante total parece explicarse por las altas actividades de enzimas antioxidantes como SOD, catalasa y glutatión peroxidasa. No obstante, esas altas actividades al final del almacenamiento refrigerado y en las transferencias a 20 °C, también parecen indicar un alto estrés oxidativo que puede estar asociado a las etapas finales de la maduración de los frutos (Meitha y col., 2020).

Tabla 7. Comparación de la capacidad antioxidante de frutos de guayaba control y tratados con 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio almacenados 15 días a 10°C y transferidos 5 días a 20°C

Días de almacenamiento					
Tratamiento	Capacidad para atrapar radicales libres DPPH (μmol Trolox * 100g)				
	0	5	10	15	15+5TA
0 mg Na₂SeO₄	3362 ^a	3300 ^a	3577 ^a	3717 ^a	3798 ^a
5 mg Na₂SeO₄	2891 ^b	3274 ^a	3408 ^b	3372 ^b	3768 ^a
	Capacidad antioxidante total ABTS (μmol Trolox * 100g)				
	0	5	10	15	15+5TA
0 mg Na₂SeO₄	1885 ^b	2001 ^b	2071 ^b	2186 ^a	2486 ^a
5 mg Na₂SeO₄	2250 ^a	2218 ^a	2276 ^a	2228 ^a	2463 ^a

^aValores con la misma letra, de la misma columna y método son estadísticamente iguales (p<0.05)

En la técnica con DPPH se registraron valores más bajos en los frutos tratados con Na₂SeO₄ durante los 15 días de almacenamiento a 10 °C, y una vez que los frutos fueron transferidos a 20 °C no existió diferencia significativa. Este resultado se puede deber a diversos factores, entre ellos la longitud de onda a la cual se realiza la lectura, ya que dentro del espectro visible puede haber interferencias con carotenoides y antocianinas que podrían encontrarse en el extracto metanólico. Aunado a esto, la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH tiene entre sus limitaciones que es un radical estable que no tiene similitud con los radicales peroxilo involucrados en la peroxidación lipídica. Esto es importante porque muchos antioxidantes que reaccionan con los radicales peroxilo pueden reaccionar lentamente o bien, ser inertes al DPPH (Prior, Wu y Schaich, 2005).

El radical ABTS⁺ a pesar de ser menos estable que el DPPH, es soluble en medios polares y no polares, además de no verse afectado por la fuerza iónica. Debido a esta característica se pueden medir compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Prior, Wu y Schaich, 2005). En el análisis con ABTS⁺ la capacidad antioxidante de

los frutos tratados con Na_2SeO_4 fue mayor durante los primeros 10 días de almacenamiento, mientras que al día 15 y 15+5 a 20°C no se registraron diferencias significativas.

De forma general, los datos obtenidos en este trabajo, permiten indicar que las aplicaciones foliares de 5 mg L^{-1} de selenato de sodio en arboles de guayabo con frutos en desarrollo, permitió obtener fruta con mayor resistencia al estrés oxidativo, mejor firmeza y una mejor vida de anaquel.

7. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten señalar lo siguiente:

La aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio en plantas de guayabo con frutos de 5 mm de diámetro máximo no afectó el crecimiento del fruto ni la tasa de respiración y disminuyó ligeramente la producción de etileno respecto de los frutos control.

La menor producción de etileno en los frutos tratados con selenato de sodio, retrasó el cambio de color de los frutos y mantuvo una mejor firmeza durante su almacenamiento a 10 °C.

Los frutos tratados con 5 mg L⁻¹ alcanzaron valores menores de sólidos solubles totales lo cual parece indicar que este tratamiento alteró el metabolismo de carbohidratos en los frutos, y puede ser explicado por la menor producción de etileno.

Las aplicaciones de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio, indujo un menor contenido de ácido ascórbico en los frutos respecto de los frutos no tratados. No obstante, la capacidad de biosíntesis de esta vitamina no parece ser alterada por el tratamiento.

Los menores contenidos de ácido ascórbico, en los frutos tratados con selenato de sodio, generó una menor capacidad antioxidante para atrapar radicales libres generados durante la respiración de la fruta.

Los resultados anteriormente descritos, sugieren que la aplicación de 5 mg L⁻¹ tuvo un efecto prooxidante en los frutos de guayaba disminuyendo su contenido de ácido ascórbico.

La aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ de selenato de sodio en arboles de guayaba, indujo en sus frutos, mayores actividades de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, lo cual parece indicar que el tratamiento induce la generación

de especies reactivas de oxígeno que a su vez indujo la mayor actividad de estas enzimas.

La mayor actividad de las enzimas contra el estrés oxidativo parece mostrar que los frutos tienen capacidad de resistir el estrés oxidativo y mejorar su vida poscosecha.

La mayor actividad de enzimas del sistema antioxidante generó una mayor capacidad antioxidante total de los frutos tratados y por tanto se espera un efecto positivo en la conservación de los frutos.

No obstante, la concentración utilizada de selenato de sodio, pareció tener un efecto prooxidante en los frutos.

8. ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración de etileno

A partir de un estándar certificado de etileno (100%) se realizaron diluciones de 1 a 32 ppm utilizando aire como diluyente.

Para la preparación y procesamiento de los estándares se siguió la metodología descrita en la sección 6.3.2.1.

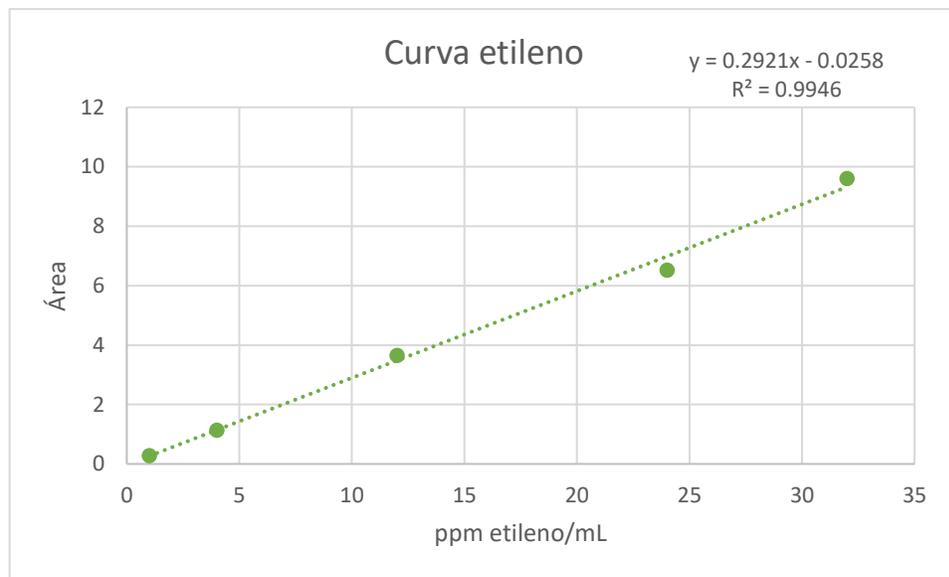


Figura 16. Curva de calibración de etileno

Para cuantificar la concentración de etileno de las muestras se utilizó la ecuación obtenida de la curva de calibración.

$$\frac{\text{ppm}}{\text{ml}} \text{ etileno} = \frac{\text{Área} + 0.0258}{0.2921}$$

Anexo 2. Curva de calibración de ácido ascórbico

A partir de una solución estándar de ácido ascórbico a una concentración de 1 mg/mL, se realizaron diluciones de 0.02 a 0.2 mg/ml de ácido ascórbico utilizando agua grado HPLC como diluyente.

Para la preparación y procesamiento de los estándares se siguió la metodología descrita en la sección 6.3.2.6.

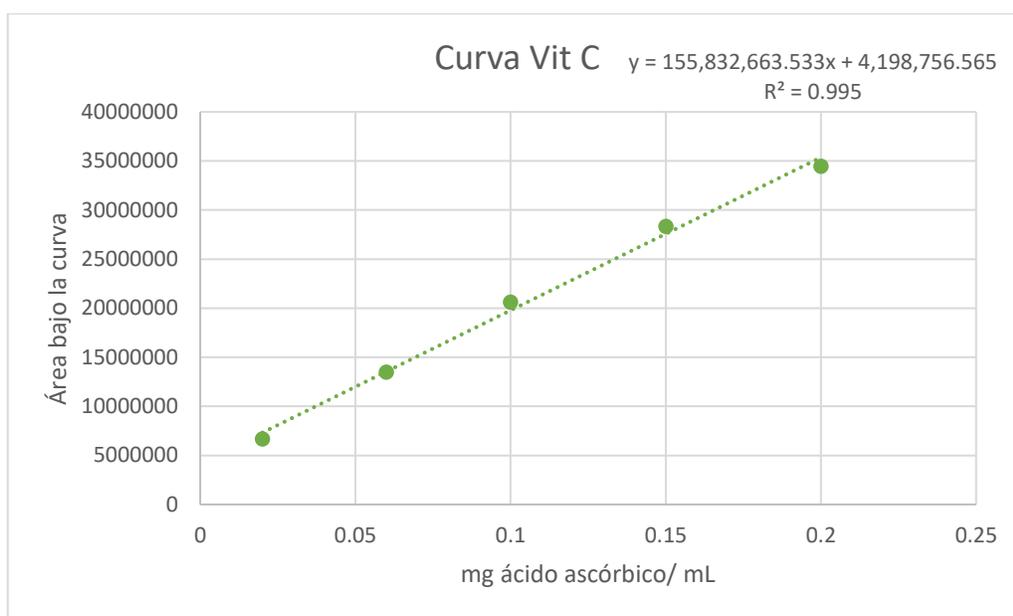


Figura 17. Curva de calibración de vitamina C

Para cuantificar la concentración de vitamina C de las muestras se utilizó la ecuación obtenida de la curva de calibración.

$$\frac{mg}{ml} \text{ vit C (ácido ascórbico)} = \frac{\text{Área} - 4,198,756.565}{155,832,663.533}$$

Anexo 3. Curva de calibración de actividad antioxidante por DPPH

A partir de una solución estándar de Trolox a una concentración de 1 mM, se realizaron diluciones de 0.1 a 0.5 μM Trolox utilizando metanol al 80% como diluyente.

El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la sección 6.3.2.7.

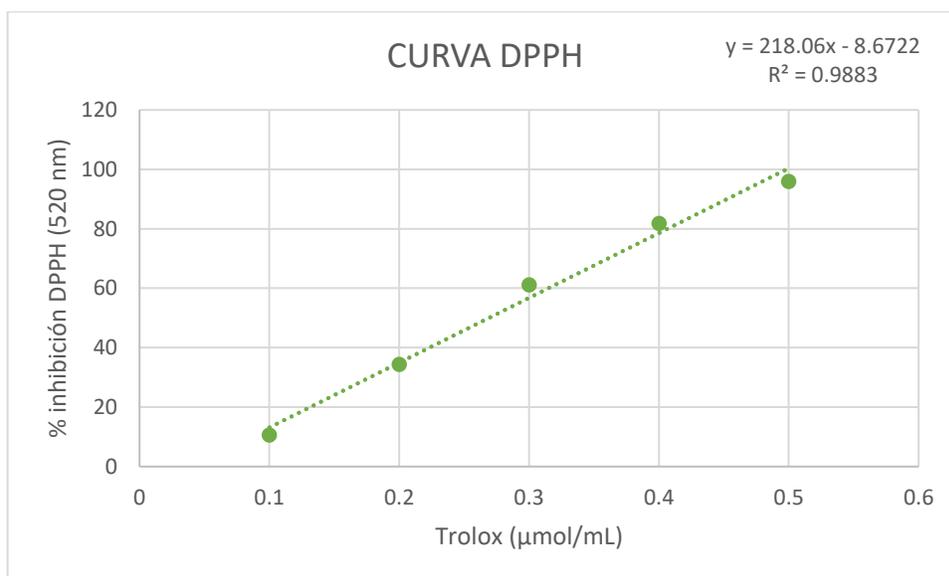


Figura 18. Curva de calibración de actividad antioxidante por DPPH

Para cuantificar la actividad antioxidante de las muestras se utilizó la ecuación obtenida de la curva de calibración.

$$\mu\text{mol Trolox} = \frac{\% \text{ inhibición DPPH} - 8.6722}{218.06}$$

Anexo 4. Curva de calibración de actividad antioxidante por ABTS

A partir de una solución estándar de Trolox a una concentración de 1 mM, se realizaron diluciones de 0.05 a 0.25 μM Trolox utilizando metanol al 80% como diluyente.

El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la sección 6.3.2.7.

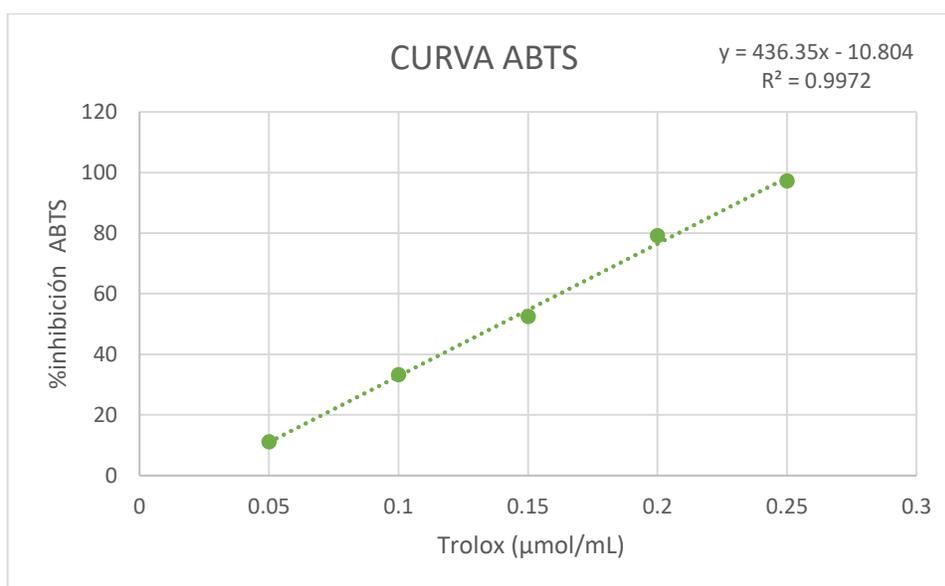


Figura 19. Curva de calibración de actividad antioxidante para ABTS

Para cuantificar la actividad antioxidante de las muestras se utilizó la ecuación obtenida de la curva de calibración.

$$\mu\text{mol Trolox} = \frac{\% \text{ inhibición ABTS} + 10.804}{436.35}$$

Anexo 5. Curva de calibración de proteína

A partir de una solución estándar de seroalbúmina bovina a una concentración de 1 mg/mL, se realizaron diluciones de 5 a 50 µg/mL de proteína utilizando agua destilada como diluyente.

El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la sección 6.3.3.2.

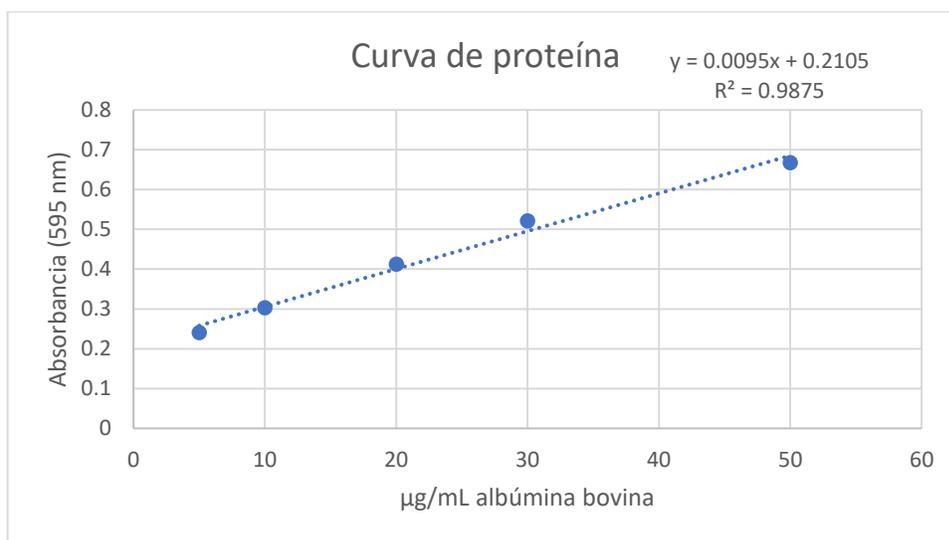


Figura 20. Curva de calibración de proteína

Para cuantificar la actividad antioxidante de las muestras se utilizó la ecuación obtenida de la curva de calibración.

$$\frac{\mu g}{mL} \text{ proteína} = \frac{Abs - 0.2105}{0.0095}$$

9. BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. (2005). Association of official analytical chemists. *Official Methods of Analysis*, 1000-1050. Virginia.
- Abeles, F. B., P. W Morgan. & M. E Saltveit Jr, (Eds). (2012). *Ethylene in plant biology*. Academic Press Inc. San Diego CA. USA.
<https://doi.org/10.1016/C2009-0-03226-7>
- Adhikari S. and T.P. Kandel. (2015). Effect of Time and Level of Pruning on Vegetative Growth, Flowering, Yield, and Quality of Guava. *International Journal of Fruit Science*, 15:290–301, Arshad, M., & Frankenberger Jr, W. T. (Eds) (2012). *Ethylene: agricultural sources and applications*. Kluwer Academic. Plenum Publisher. New York USA
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30(3), 161-175.
<https://doi.org/10.3109/07388550903524243>
- Alba-Jiménez, J. E. (2018). Estudio de factores que afectan la resistencia mecánica de los frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) durante su maduración. *Tesis Doctoral en Ciencias de los Alimentos*. Facultad de Química Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Querétaro, México.
- Alba-Jiménez^b, J. E., Benito-Bautista, P., Nava, G. M., Rivera-Pastrana, D. M., Vázquez-Barrios, M. E., & Mercado-Silva, E. (2018). Chilling injury is associated with changes in microsomal membrane lipids in guava fruit (*Psidium guajava* L.) and the use of controlled atmospheres reduce these effects. *Scientia Horticulturae*, 94-101. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.05.026
- Arora, A., Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 82(10), 1227–1238.
<http://www.jstor.org/stable/24107045>
- Arvy, M. P. (1993). Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of experimental botany*. 44(6): 1083-1087.
<https://doi.org/10.1093/jxb/44.6.1083>
- Azzolini, M., A. P Jacomino,., I. U Bron,., R. A Kluge, & M. A. Schiavinato, (2005). Ripening of " Pedro Sato" guava: study on its climacteric or non-climacteric nature. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17(3): 299-306.
<https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000300004>

- Bandera Fernández, E., & Pérez Pelea, L. (2015). Mejoramiento genético de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Cultivos Tropicales*, 36, 96-110.
- Benito Bautista P. (2002). Estudio de los mecanismos del daño por frío en frutos de guayaba. Tesis Doctoral Ciencia de los Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. México
- Benito_Bautista P. and E. Mercado-Silva. (1997). Effects of CA treatment on guava (*Psidium guajava* L.) fruit quality. Vol 3 *Proceedings of Seventh International CA Conference*, Pag.212-218, Davis CA. USA
- Blackwell, R. D., Murray, A. J., & Lea, P. J. (1990). Enzymes of photorespiratory carbon pathway. *Methods in plant biochemistry*, 129-144. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-461013-2.50015-0>
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*. 91:179-194. DOI:10.1093/aob/mcf118
- Botton, A., Tonutti, P., & Ruperti, B. (2019). Chapter 5. Biology and Biochemistry of Ethylene. En Yahia M. (Ed). *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. 93-112). Elsevier Inc. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-04653-3>
- Bowler, C., Montagu, M. V., & Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual review of plant biology*, 43(1), 83-116
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 248–254.
- Carballosa-De la Paz,A.V., B. G Gaskins-Espinosa, E. I. Leonard-Brizuelall, E. López-Bravo, O. González-Cueto. (2019). Fructification Pruning in Guava Crop (*Psidium guajava* L.) and its Influence on Yield. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 28 (4) pp. 81-88
- Castillo-Godina, R. G., Foroughbakhch-Pournavab, R., & Benavides-Mendoza, A. (2016). Effect of selenium on elemental concentration and antioxidant enzymatic activity of tomato plants. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 233-244. https://www.researchgate.net/publication/289528727_Effect_of_Selenium_on_Elemental_Concentration_and_Antioxidant_Enzymatic_Activity_of_Tomato_Plants

- Chen, Y., Grimplet, J., David, K., Castellarin, S. D., Terol, J., Wong, D. C., . . . Chervin, C. (2018). Ethylene receptors and related proteins in climacteric and non-climacteric fruits. *Plant Science*. 276: 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.07.012>
- Cheng B., Ch. Wang, F. Chen, L. Yue, X. Cao, X. Liu, Y. Yao, Z. Wang, B. Xing. (2022) Multiomics understanding of improved quality in cherry radish (*Raphanus sativus* L. var. radculus pers) after foliar application of selenium nanomaterials. *Science of The Total Environment*. 824(10): 153712. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153712>
- Chu, J., Yao, X., & Zhang, Z. (2010). Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological trace element research*. 136: 355-363. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8542-3>
- Coronado, A. P. (2014). Maduración y comportamiento poscosecha de la guayaba (*Psidium guajava* L.). Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 8(2): 314-327.
- Czarny, J. C., Grichko, V. P., & Glick, B. R. (2006). Genetic modulation of ethylene biosynthesis and signaling in plants. *Biotechnology advances*. 24(4): 410-419. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.01.003>
- Černý, M., Habánová, H., Berka, M., Luklová, M., & Brzobohatý, B. (2018). Hydrogen Peroxide: Its Role in Plant Biology and Crosstalk with Signalling Networks. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2812. <https://doi.org/10.3390/ijms19092812>
- Dar A. M. A. & Z. A. Rhesi. (2021). Induced Genotoxicity and Oxidative Stress in Plants. An Overview. In Khan, Z., Ansari, M. Y. K., & Shahwar, D. (Eds.). *Induced Genotoxicity and Oxidative Stress in Plants*. Springer Singapore <https://doi.org/10.1007/978-981-16-2074-4>
- De Mello Prado, R., Natale, W., & da Silva, J. A. (2005). Liming and quality of guava. *Scientia Horticulturae*, 106(1), 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.03.001>
- De Souza, M. P., Pilon-Smits, E. A., Lytle, C. M., Hwang, S., Tai, J., Honma, T. S., . . . Terry, N. (1998). Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant physiology*. 117(4) 1487-1494. <https://doi.org/10.1104/pp.117.4.1487>
- Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and experimental botany*. 109 212-228. <https://doi.org/10.1016/j.envexbot.2014.06.021>

- Deng X., Z. Zhao, Ch. Lv, Z. Zhang, L. Yuan &, X. Liu. (2021). Effects of sulfur application on selenium uptake and seed selenium speciation in soybean (*Glycine max* L.) grown in different soil types. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 209: 111790. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111790>
- Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A., & Bangarusamy, U. (2005). Selenium—an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and soil*. 272: 77-86. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1>
- Dmitrieva, V. A., Tyutereva, E. V., & Voitsekhovskaja, O. V. (2020). Singlet oxygen in plants: Generation, detection, and signaling roles. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3237. <https://doi.org/10.3390/ijms21093237>
- Dumont, E., Vanhaecke, F., & Cornelis, R. (2006). Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 385: 1304-1323. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0529-8>
- Engwa, G. A. (2018). Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. In Asao, T. , & Asaduzzaman, M. , (Eds.) *Phytochemicals: Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. 7, 49-74. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72985>
- Espinoza-Zamora J., R. Baez-Sañudo, C. Saucedo-Veloz y E. Mercado-Silva. (2010). Effect of Application of Waxes with Vegetable Oil and Sucrose on the Quality of Mexican *Guava* cv. 'Media China. *Acta Horticulturae*. 849; 393-400. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.849.48> .
- FACENA. (2015) *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE)*. Obtenido de EUDICOTILEDÓNEAS ESCENCIALES-Clado Rosides-Posición incierta-Myrtales: Myrtaceae: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Rosideas/Ordenes%20y%20familias%20con%20posici%F3n%20incierta/2-Orden%20Myrtales/4-Myrtaceae.pdf>
- FAO. (2018). *Food Outlook. Biannual report on global food markets*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Trade and Markets Division of FAO. Recuperado en enero de 2020, de http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Tropical_Fruits/Documents/Minor_Tropical_Fruits_FoodOutlook_1_2018.pdf.
- Feng, R., Ch. Wei, & S. Tu. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*. 87: 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>

- García Velazco M. A. (1997). Papel del etileno exógeno en la maduración de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. 'Media China'. Tesis de grado Químico en Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Gill, K. B. S., Dhaliwal, H. S., & Mahajan, B. V. C. (2014). Effect of post-harvest treatment of ascorbic acid on shelf-life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda. *Int J Agric Sci Vet Med*, 2, 130-141.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gómez, M. L. P., & Lajolo, F. M. (2008). Ascorbic acid metabolism in fruits: activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5), 756-762. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3042>
- González, G. E., Padilla, R., Reyes, M. L., Perales, C. M., & Esquivel, V. F. (2002). *Guayaba; su Cultivo en México*. Campo experimental Pabellón: INIFAP.
- González-Orozco, B.D. (2018). Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México. *Tesis de maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. Facultad de Química Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Querétaro, México.
- Goutam, M., Dhaliwal, H. S., & Mahajan, B. V. (2010). Effect of pre-harvest calcium sprays on post-harvest life of winter guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of food science and technology*, 47(5), 501-506. DOI: 10.1007/s13197-010-0085-2
- Gouveia, G. C. C., Galindo, F. S., Lanza, M. G. D. B., da Rocha Silva, A. C., de Brito Mateus, M. P., da Silva, M. S., ... & Dos Reis, A. R. (2020). Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 202, 110916. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110916>
- Gupta M. & S. Gupta. (2017). An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. *Frontiers in Plant Science*. 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>
- Hamilton, S. J. (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment*. 326(1-2): 1-31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.01.019>

- Hartikainen, H., & Xue, T. (1999). The promotive effect of selenium on plant growth as triggered by ultraviolet irradiation. *Journal of Environmental Quality*. 28(4): 1372-1375. <https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800040043x>
- Hartikainen, H., Xue, T., & Piironen, V. (2000). Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and soil*. 225: 193-200. <https://doi.org/10.1023/A:1026512921026>
- Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2011). Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*. 143: 1758-1776. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-8998-9>
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *J Plant Sci*, 2010: 354-375. DOI : 10.3923/jps.2010.354.375
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2011). Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*. 143: 1704-1721. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-8958-4>
- Hashem, H. A., Hassanein, R. A., Bekheta, M. A., & El-Kady, F. A. (2013). Protective role of selenium in canola (*Brassica napus* L.) plant subjected to salt stress. *Egypt. J. Exp. Biol*, 9(2), 199-211.
- Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., ... & Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants*. 8(10), 355. DOI: 10.3390/plants8100355
- Hodges, D. M. (2003). *Postharvest oxidative stress in horticultural crops*. CRC Press. Boca Raton. Flid. USA. Chapter 6, p 113-129. <https://doi.org/10.1201/9780367807474>
- Hodges, D. M., Lester, G. E., Munro, K. D., & Toivonen, P. M. (2004). Oxidative stress: importance for postharvest quality. *HortScience*, 39(5), 924-929. DOI: 10.21273/HORTSCI.39.5.924
- Horemans, N., Foyer, C. H., Potters, G., & Asard, H. (2000). Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant physiology and biochemistry*, 38(7-8), 531-540. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00782-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00782-8)

- Jackman R.L. A.G. Marangoni, & D. W. Stanley. (1992). The effects of turgor pressure on puncture and viscoelastic properties of tomato tissue. *J. of Texture Studies*. 23: 491 – 505. DOI: 10.1111/j.1745-4603.1992.tb00036.x
- Janků, M., Luhová, L., & Petřivalský, M. (2019). On the origin and fate of reactive oxygen species in plant cell compartments. *Antioxidants*, 8(4), 105. <https://doi.org/10.3390/antiox8040105>
- Jiménez, A., Creissen, G., Kular, B., Firmin, J., Robinson, S., Verhoeyen, M., & Mullineaux, P. (2002). Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta*, 214(5), 751-758.
- Kader, A. A. (1992). Postharvest biology and technology: an overview. *Postharvest technology of horticultural crops*. 2nd ed., 39-47. California Univ., System (USA). Division of Agriculture and Natural Resources.
- Kader, A. A., & Saltveit, M. E. (2003). Respiration and Gas Exchange, p 7-29. *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetable*. Bartz, JA; Brecht, JK (eds) Marcel Denker, New York.
- Kader A. A. & E. M. Yahia. 2011. Chapter 3 - Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. En E. M. Yahia (Ed). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. Woodhead Publishing. P 79-111. <https://doi.org/10.1533/9780857093622.79>
- Kaur N., S. Sharma, S. Kaur & H. Nayyar. (2014): Selenium in agriculture: a nutrient or contaminant for crops?, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60:12, 1593-1624. DOI: 10.1080/03650340.2014.918258
- Kaur, S., & Nayyar, H. (2015). Selenium fertilization to salt-stressed mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) plants reduces sodium uptake, improves reproductive function, pod set and seed yield. *Scientia Horticulturae*. 197(14) 304-317. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.048>
- Khalofah, A., Migdadi, H., & El-Harty, E. (2021). Antioxidant enzymatic activities and growth response of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) to exogenous selenium application. *Plants*. 10(4), 719. <https://doi.org/10.3390/plants10040719>
- Kitinoja, L., & Kader, A. A. (2015). Small-scale postharvest handling practices: a manual for horticultural crops (5th Edition). *Postharvest Horticulture Series N8E*. University of California, Davis Postharvest Technology Research and Information Center. 293 p. <https://postharvest.ucdavis.edu/files/230094.pdf>

- Kumar, M., Bijo, A. J., Baghel, R. S., Reddy, C. R., & Jha, B. (2012). Selenium and spermine alleviate cadmium induced toxicity in the red seaweed *Gracilaria dura* by regulating antioxidants and DNA methylation. *Plant Physiology and Biochemistry*. 51: 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.016>
- Kyriacou, M. C., & Roupael, Y. (2018). Towards a new definition of quality for fresh fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*. 234(14), 463-469. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.046>
- Li, H. F., McGrath, S. P., and Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytol*. 178, 92–102. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x
- Mahajan, B. V., Ghuman, B. S., & Bons, H. K. (2011). Effect of postharvest treatments of calcium chloride and gibberellic acid on storage behavior and quality of guava fruits. *J. Hort. Sci. Ornamental Plants*, 3(1), 38-42. <https://www.jetir.org/papers/JETIR1902169.pdf>
- Maiorino, F. M., Brigelius-Flohé, R., Aumann, K. D., Roveri, A., Schomburg, D., & Flohé, L. (1995). Diversity of glutathione peroxidases. En *Methods in enzymology* (págs. 38-53). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(95\)52007-4](https://doi.org/10.1016/0076-6879(95)52007-4)
- Mata Beltran I. y Rodríguez Mendoza A. 1990. Cultivo y Producción del Guayabo. Editorial Trillas. Mexico, D.F. 5-135
- Medina, N. N., & Herrero, J. V. (2016). Guava (*Psidium guajava* L.) Cultivars: An Important Source of Nutrients for Human Health. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, 287-315. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00013-1>
- Meitha, K., Pramesti, Y., & Suhandono, S. (2020). Reactive oxygen species and antioxidants in postharvest vegetables and fruits. *International Journal of Food Science*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8817778>
- Melfi, M. T., Nardiello, D., Cicco, N., Candido, V., & Centonze, D. (2018). Simultaneous determination of water-and fat-soluble vitamins, lycopene and beta-carotene in tomato samples and pharmaceutical formulations: Double injection single run by reverse-phase liquid chromatography with UV detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.04.002>
- Mercado-Silva, E., Benito Bautista, P., & de los Angeles García Velasco, M. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*. 13(2): 143-150. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00003-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00003-9)

- Mimmo, T., Tiziani, R., Valentinuzzi, F., Lucini, L., Nicoletto, C., Sambo, P., ... & Cesco, S. (2017). Selenium biofortification in *Fragaria x ananassa*: implications on strawberry fruits quality, content of bioactive health beneficial compounds and metabolomic profile. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1887. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01887>
- Miller, N. J., & Rice-Evans, C. A. (1996). Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox report*, 2(3), 161-171. <https://doi.org/10.1080/13510002.1996.11747044>
- Mondal, K., Sharma, N. S., Malhotra, S. P., Dhawan, K., & Singh, R. (2004). Antioxidant systems in ripening tomato fruits. *Biologia Plantarum*, 48(1), 49-53. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1023/B:BIOP.0000024274.43874.5b.pdf>
- Mondal, K., Malhotra, S. P., Jain, V., & Singh, R. (2009). Oxidative stress and antioxidant systems in Guava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15(4), 327-334. <https://doi.org/10.1007/s12298-009-0037-3>
- Mondragón-Jacobo, C., Toriz-Ahumada, L. M., & Guzman-Maldonado, H. (2008). Generation of Pink-Fleshed Guavas to Diversify Commercial Production. // *International Symposium on Guava and other Myrtaceae*, Acta Horticulturae 849: 333-340. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.849.39>
- Morton, J. F. (1987). Guava. *Fruits of warm climates*. Miami, FL. 356–363. ISBN: 0-9610184-1-0
- Mostofa, M. G., Hossain, M. A., Siddiqui, M. N., Fujita, M., & Tran, L. S. P. (2017). Phenotypical, physiological and biochemical analyses provide insight into selenium-induced phytotoxicity in rice plants. *Chemosphere*, 178, 212-223. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.046
- Nakatsuka, A., Murachi, S., Okunishi, H., Shiomi, S., Nakano, R., Kubo, Y., & Inaba, A. (1998). Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. *Plant physiology*, 118(4), 1295-1305. <https://doi.org/10.1104/pp.118.4.1295>
- Orabi, S., & Abouhusein, S. (2019). Antioxidant defense mechanisms enhance oxidative stress tolerance in plants. A review. *Curr. Sci. Int*, 8(3), 565-576. <https://www.curreweb.com/csi/csi/2019/565-576.pdf>

- Ortíz-Hernández, G. R., Espinoza-Hernández, J., Saucedo-Veloz, C., & Mercado-Silva, E. (2010). Effect of 1-MCP on shelf-life and volatile production of Mexican guava fruits (cv.'Media China'). *Acta Horticulturae*. 849, (págs. 387-392).
- Önder, D. G., Önder, S., Uysal, A. T., & Karakurt, Y. (2021). Impact of postharvest hot water, 1-MCP and CaCl₂ treatments on antioxidant enzymes and related genes during cold storage in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5744-5758. DOI: 10.1007/s11694-021-01134-y
- Pathak, N., Caleb, O. J., Geyer, M., Herppich, W. B., Rauh, C., & Mahajan, P. V. (2017). Photocatalytic and photochemical oxidation of ethylene: Potential for storage of fresh produce—A review. *Food and Bioprocess Technology*, 10(6), 982-1001. DOI:10.1007/s11947-017-1889-0
- Passaia G., & M. Margis-Pinheiro. (2015). Glutathione peroxidases as redox sensor proteins in plant cells. *Plant Science*, 234, 22-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.01.017>
- Peng, X. L., Liu, Y. Y., & Luo, S. G. (2002). Effects of selenium on lipid peroxidation and oxidizing ability of rice roots under ferrous stress. *J. Northeast Agric. Univ* 19: 9-15. <http://www.cqvip.com/qk/85645x/2002001/6855117.html>
- Pezzarossa, B., Remorini, D., Gentile, M. L., & Massai, R. (2012). Effects of foliar and fruit addition of sodium selenate on selenium accumulation and fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(4): 781-786. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4644>
- Pezzarossa, B., Rosellini, I., Borghesi, E., Tonutti, P., & Malorgio, F. (2014). Effects of Se-enrichment on yield, fruit composition and ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants grown in hydroponics. *Scientia Horticulturae*. 165(22): 106-110. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.029>
- Prance, G. (2003). FRUITS OF TROPICAL CLIMATES/Fruits of Central and South America. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (págs. 2810-2816). Elsevier Science Ltd.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53(10), 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Proctor A. & L. C. Peng. (2006). Pectin Transitions During Blueberry Fruit Development and Ripening. *Journal of Food Science* 54(2):385 – 387. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb03088.x

- Puccinelli M., F. Malorgio, L. A. Terry, R. Tosetti, I. Rosellini, & B. Pezzarossa. (2018). Effect of selenium enrichment on metabolism of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit during post-harvest ripening. *J. Sci Food Agric.* 99 (5), 2463–2472. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9455>.
- Rashida, E., El Fadil, E. B., & El Tinay, A. H. (1997). Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chemistry*, 59(3), 395-399. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00271-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00271-3)
- Rayman, M. P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet*. 379(9822): 1256-1268. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61452-9)
- Renkema, H., Koopmans, A., Kersbergen, L., Kikkert, J., Hale, B., and Berkelaar, E. (2012). The effect of transpiration on selenium uptake and mobility in durum wheat and spring canola. *Plant Soil* 354, 239–250. DOI: 10.1007/s11104-011-1069-3
- Ríos, J. J., Blasco, B., Cervilla, L. M., Rosales, M. A., Sanchez-Rodriguez, E., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2009). Production and detoxification of H₂O₂ in lettuce plants exposed to selenium. *Annals of Applied Biology*, 154(1), 107-116, DOI:10.1111/j.1744-7348.2008.00276.x
- Rivera-Pastrana, D. M., Gardea, A. A., Yahia, E. M., Martínez-Téllez, M. A., & González-Aguilar, G. A. (2013). Effect of UV-C irradiation and low temperature storage on bioactive compounds, antioxidant enzymes and radical scavenging activity of papaya fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12):3821-3829. DOI: 10.1007/s13197-013-0942-x
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., and Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidant defence mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 2012:217037. DOI: 10.1155/2012/217037
- Sharma, S., Kaur, N., Kaur, S., & Nayyar, H. (2014). Ascorbic acid reduces the phytotoxic effects of selenium on rice (*Oryza Sativa* L.) by up-regulation of antioxidative and metal-tolerance mechanisms. *J Plant Physiol Pathol* 2, 3, 2. DOI: 10.4172/2329-955X.1000128
- SIAP. (2015). *Márgenes de comercialización*. Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/66023/MC_guayaba_septiembre_2015.pdf
- SIAP. (2018). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Recuperado el Enero de 2020, de Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola: http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos_a.php

- SIAP. (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Recuperado en abril 2022. Estadística de Producción Agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- SIAP. (Noviembre de 2019). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Obtenido de Márgenes de comercialización de frutas y hortalizas: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/517860/Guayaba_nov_2019.pdf
- Silva V.M., E. H. Marcandalli-Boleta, M. G. Dantas Beret-Lanza, J. Lavres, J. Trindade-Martins, E. Ferreira-Santos, F. Lourenço-Mendes dos Santos, Fernando F. Putti, E. Furlani Jr, P. J. White, M. R. Broadley, H. W. Pereira de Carvalho, & A. Rodrigues dos Reisa. 2018. Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. *Environmental and Experimental Botany*. 150: 172-182. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.020>
- Singh S.P. (2011). Chapter 10. Guava (*Psidium Guajava*). En E M. Yahia (Ed). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, Woodhead Publishing. Pg 213-246. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*,. <https://doi.org/10.1533/9780857092885.213>
- Stepanova, A. N., & Alonso, J. M. (2005). Ethylene signaling and response pathway: a unique signalling cascade with a multitude of inputs and outputs. *Physiologia Plantarum*. 123(2) 195-206. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00447.x>
- Suárez, J., De Camacaro, M. P., & Giménez, A. (2009). Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L.) procedente de Mercabar, estado Lara, Venezuela. *Rev Agrícola*.9(1): 60-69. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3293747>
- Suttle J.C. (2017). Chapter 7. Ethylene Interactions with Other Endogenous Growth Substances. In Mattoo, A. K. & J.C. Suttle. (Eds) (2017). *The plant hormone ethylene*. CRC Press. Boca Raton FL. USA. P 317. <https://doi.org/10.1201/9781351075763>
- Suzuki, N., Miller, G., Morales, J., Shulaev, V., Torres, M. A., & Mittler, R. (2011). Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Current opinion in plant biology*. 14(6) 691-699. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.07.014

- Tejacal, I., León, M., Damián, M., & Hernández, R. (2005). Chilling in sapote mamey (Pouteira sapota (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). II. Changes in total phenols and enzymatic activity. *Rev Fitotec Mex*, 28(1):25-32.
- TRIDGE. (2021). Global production of fresh guava, Global fresh guava market. Recuperado el 04 de Octubre de 2021, de <https://www.tridge.com/intelligences/guava/production>
- Uddin, M. S., Hawlader, M. N. A., Ding, L., & Mujumdar, A. S. (2002). Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *Journal of food engineering*. 51(1), 21-26. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00031-0)
- Venkatesh, J., & Park, S. W. (2014). Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants. *Botanical Studies*, 55(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-38>
- Wrobel, K., Guerrero Esperanza, M., Yanez Barrientos, E., Corrales Escobosa, A. R., & Wrobel, K. (2020). Different approaches in metabolomic analysis of plants exposed to selenium: A comprehensive review. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(7), 1-20. DOI: 10.1007/s11738-020-03113-0
- Wu, G. L., & Tian, J. B. (2009). Progress of fruit plants in selenium-enriched research in China. *Acta Horticulturae*, 841: 599-602. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.841.92>
- Xiao, M., Li, Z., Zhu, L., Wang, J., Zhang, B., Zheng, F., ... & Zhang, Z. (2021). The multiple roles of ascorbate in the abiotic stress response of plants: Antioxidant, cofactor, and regulator. *Frontiers in Plant Science*, 12, 592. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.598173>
- Xue, T. L., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Soil*, 237:55-61. <https://doi.org/10.1023/A:1013369804867>
- Zahedi, S. M., Moharrami, F., Sarikhani, S., & Padervand, M. (2020). Selenium and silica nanostructure-based recovery of strawberry plants subjected to drought stress. *Scientific reports*, 10(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74273-9>
- Zayed, A., Lytle, C., & Terry, N. (1998). Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*. 206: 284-292. <https://doi.org/10.1007/s004250050402>
- Zechmann, B. (2011). Subcellular distribution of ascorbate in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(3), 360-363. <https://doi.org/10.4161/psb.6.3.14342>

- Zhao, C., Ren, J., Xue, C., and Lin, E. (2005). Study on the relationship between soil selenium and plant selenium uptake. *Plant Soil* 277, 197–206. DOI: 10.1007/s11104-005-7011-9
- Zhao W., Z., Weizhong Wang, X. Weihong, Y. Chai, W. Xie & S. Chia. (2018). Effects of selenium on activity of glutathione peroxidase and expression of selenium metabolism-related genes in Brassica. *Toxicological & Environmental Chemistry*.100(2), 191–204. <https://doi.org/10.1080/02772248.2018.1486945>
- Zhu, Z., Chen, Y., Shi, G., & Zhang, X. (2017). Selenium delays tomato fruit ripening by inhibiting ethylene biosynthesis and enhancing the antioxidant defense system. *Food chemistry*. 219(15) 179-184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.138>
- Zimmermann, P., Heinlein, C., Orendi, G., & Zentgraf, U. (2006). Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant, Cell & Environment*, 29(6), 1049-1060. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01459.x>