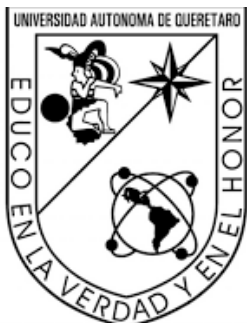


2022 Cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan la firmeza de frambuesa (*Rubus idaeus*) durante el almacenamiento en atmósferas controlada. I.BQ en A. Guadalupe del Carmen Hernández Cerna



**Universidad Autónoma de
Querétaro**

Facultad de Química

**Cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan la
firmeza de frambuesa (*Rubus idaeus*) durante el
almacenamiento en atmósferas controlada.**

TESIS

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

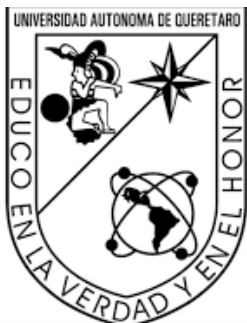
Presenta

I.BQ en A. Guadalupe del Carmen Hernández Cerna

Dirigido por

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Querétaro, Qro. 2022



**Universidad Autónoma de
Querétaro**

Facultad de Química

Maestría en ciencia y tecnología
de alimentos

**Cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan la
firmeza de frambuesa (*Rubus idaeus*) durante el
almacenamiento en atmósferas controlada.**

TESIS

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

Presenta

I.BQ en A. Guadalupe del Carmen Hernández Cerna

Dirigido por

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Presidente

Dr. Edmundo M. Mercado Silva

Secretario

Dr. Víctor Escalona Contreras

Vocal

Dra. Dalia Vázquez Celestino

Suplente

Dr. Gerardo M. Nava Morales

Suplente

Centro universitario, Querétaro, Qro.

Fecha de aprobación por el consejo universitario (mayo, 2022)

México

Dedicatoria

Con toda admiración.

Dedico este trabajo principalmente a la familia Cerna, especialmente a mi madre, hermano y mis abuelos gracias por alentarme siempre a ser mejor persona cada día y demostrarme su apoyo incondicional al creer en mí.

A mis amigos y compañeros por el buen equipo y ambiente que formamos para llegar a nuestro sueño, al echarnos la mano cuando lo necesitábamos.

A esta gran casa de estudios la Universidad Autónoma de Querétaro por abrirme sus puertas.

A Dios y a la virgen de Guadalupe al brindarme paciencia, sabiduría y fortaleza cuando la necesitaba.

Agradecimientos

A dios por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida rodeada de personas que quiero y que admiro.

A mi madre Eva que ha hecho un gran esfuerzo junto con el mío, sacrificando incluso su salud y por haberme brindado la mejor de las herencias que es una profesión. Gracias por ser una madre ejemplar y enseñarme que a pesar de las adversidades nunca debemos desistir si no seguir y persistir hasta lograr nuestra meta.

A mi hermano leo por su cariño y apoyo incondicional durante toda mi vida, desde pequeña simulo seguir tus pasos eres una gran persona, te agradezco por ayudarme a concluir esto que empezó como un sueño y ahora es una realidad muchas gracias por estar conmigo en todo momento.

A toda mi familia por que, con sus oraciones, consejos, palabras de aliento y grandes valores inculcados hicieron de mí una mejor mujer y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A la universidad autónoma de Querétaro, facultad de química división de estudios de posgrado, al abrirme las puertas de su gran casa de estudios y de manera muy especial y significativa al Doctor Ramón Alvar Martínez Peniche quien fue pieza clave para venir al posgrado de alimentos.

A mis amigos y compañeros por apoyarme cuando más los necesitaba, por extenderme su mano en momentos complicados, por brindarme una linda amistad que me llevo para toda la vida y de manera muy especial al grupo de tecnologías emergentes por ser tan solidario Ramon flores, Cristian Jaime, Tsiseje Benitez, Esther Meza. Además de mis mejores amigos de la maestría que se convirtieron en mi familia Luis Martin Ortiz y Cristian Esaú Jaime gracias por estar para mi cuando lo necesite y por todas las aventuras vividas.

A el programa de Conacyt por brindarme el apoyo económico para poder realizar mi sueño con la beca con número 995901.

A mis asesores por su apoyo y aportaciones para la elaboración de este trabajo.

Índice general

Declaración de responsabilidad de estudiante	2
Resumen	3
Abstract	5
Introducción	6
Antecedentes	8
2.1. Producción e importancia de la frambuesa en México	8
2.2. Generalidades de la frambuesa	9
2.2.1. Taxonomía	9
2.2.2. Características morfológicas	10
2.3. Clasificación de variedades	12
2.3.1. Variedades en México	12
2.4. Manejo de cultivo	13
2.4.1. Planta	13
2.4.2. Clima	14
2.4.3. Suelo	14
2.4.3. Enfermedades	14
2.4.4. Cosecha y postcosecha	15
2.4.5. Transporte de la fruta	15
2.4.6. Embalaje y envío a mercados	15
2.5. Problemas postcosecha	16
2.5.1. Causas del deterioro de la vida de anaquel	17
2.6. Composición nutrimental de la frambuesa	17
2.7. Calidad de la frambuesa	19
2.8. Metabolismo de la pared celular	21

2.8.1.	Pectil metil esterasa.....	23
2.8.2.	Poligalacturonasa	24
2.8.3.	Pectato liasa.....	26
2.8.4.	β -Galactosidasa	28
2.9.	Tecnologías postcosecha en frambuesa.....	31
2.9.1.	Atmósferas controladas	32
2.10.	Efecto de las atmósferas controlada en la calidad de frambuesa	34
3.	Hipótesis	34
4.	Objetivo general	35
4.1.	Objetivos específicos	35
5.	Materiales y métodos	35
5.1.	Material biológico	35
5.2.	Equipo de AC	35
5.3.	Diseño del experimento y análisis estadístico.....	36
5.4.	Métodos de evaluación de parámetros fisiológicos y fisiocquímicos.....	37
5.4.1.	Tasa de respiración y producción de etileno.....	37
5.4.2.	Pérdida de peso	37
5.4.3.	Color	38
5.4.4.	Firmeza	38
5.4.5.	Contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable.....	38
5.5.	Actividad de enzimas de degradación de pared celular	39
5.5.1.	Obtención del extracto enzimático (PME y PG).....	39
5.5.2.	Actividad de Pectinmetilesterasa (PME)	39
5.5.3.	Actividad de la Poligalacturonasa (PG)	39

5.5.4.	Actividad de Pectato Liasa (PL)	40
5.5.5.	Actividad de β -Galactosidasa (β -Gal).....	40
5.6.	Determinación de pectatos de calcio	41
6.	Resultados y discusión.....	42
6.1.	Parámetros fisicoquímicos y fisiológicos	42
6.1.1.	Tasa de respiración	42
6.1.2.	Pérdida de peso	44
6.1.3.	Color	46
6.1.4.	Firmeza	48
6.1.5.	Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH	51
6.2.	Efectos de las AC en la actividad enzimática de pared celular ...	53
6.2.1.	Actividad de PME	53
6.2.2.	Actividad de PG.....	54
6.2.3.	Actividad de PL.....	56
6.2.4.	Actividad β -Gal	57
6.3.	Determinación de pectatos de calcio	58
7.	Conclusiones.....	60
	Referencias bibliograficas	46
	Anexo	65

Índice de figuras

Figura 1. Evolución del comercio exterior de frambuesa (millones de dólares) (SIAP, 2020).	8
Figura 2. Estructura anatómica de la flor de frambuesa (Morales y Gloria, 2009). 11	
Figura 3. Vista general del fruto de la frambuesa (Morales y Gloria, 2009).	11
Figura 4. Evolución del color en diferentes estados de madurez en frambuesa (Zoffolo y col., 2010).....	21
Figura 5. Mecanismo de acción de la pectil metil esterasa (Gámez y Díaz, 2008). 24	
Figura 6. Región "lisa" de la pectina (Gámez y Díaz, 2008).....	25
Figura 7. Mecanismo de acción de la poligalacturonasa (Gámez y Díaz, 2008). ...	25
Figura 8. Clasificación de la pectina de acuerdo con el contenido de metoxilo: a) pectina HM, b) pectina LM (Gámez y Díaz, 2008).....	27
Figura 9. Mecanismo de acción de la pectato liasa (Gámez y Díaz, 2008).	28
Figura 10. Estructura molecular del xiloglucano mostrando cuatro unidades de β -D-glucosa (1 \rightarrow 4).	29
Figura 11. Diagrama de la hidrólisis del enlace glucosídico catalizada por las β -galactosidasas (Pérez-Almeida y Carpita, 2006).....	31
Figura 12. Estrategia experimental seguida durante el estudio.....	36
Figura 13. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa.	45
Figura 14. Firmeza (N) de frutos de frambuesa.....	49
Figura 15. Firmeza (N) de frutos de frambuesa.....	50
Figura 16. Cambios en la actividad específica de PME ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa.	54
Figura 17. Cambios en la actividad específica de PG ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa.	56
Figura 18. Cambios en la actividad específica de PL ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa	57
Figura 19. Cambios en la actividad específica de β -Gal ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa.	58
Figura 20. Cambios en el contenido de calcio (mg/Kg) de frutos de frambuesa. ..	59

Índice de tablas

Tabla 1. Distribución de producción de frambuesas en México (SIAP, 2020).	9
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la frambuesa (Jennings y Daubeny, 1991). 10	
Tabla 3. Uso de variedades para distintas condiciones climáticas y sistemas de manejo (Bascopé, 2013).	13
Tabla 4. Composición nutrimental de frambuesa roja (Rao y Snyder, 2010).	18
Tabla 5. Cambios en la tasa de respiración y producción de etileno de los frutos de frambuesa.	43
Tabla 6. Cambios en el color objetivo (L^* , a^* , b^* , hue y C) de los frutos de frambuesa.	46
Tabla 7. Cambios en SST, AT y °Brix de los frutos de frambuesa.	51

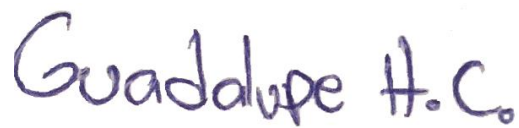
Anexos

Anexo 1. Cambios en las medias de los valores de firmeza y actividad enzimática de la pared celular de los frutos de frambuesa roja.....	65
Anexo 2. Cambios en las medias de la determinación de calcio de la pared celular de los frutos de frambuesa roja.	65

Declaración de responsabilidad de estudiante

Declaro que los datos y resultados que han surgido de esta investigación se obtuvieron durante el periodo que desarrollé este proyecto de tesis, con valores éticos y que posee los detalles necesarios para la reproducibilidad de los mismos en futuros proyectos.

Adicionalmente, esta tesis es un trabajo original y conciso en el cual declaro y doy conocimiento a cualquier colaborador o cita textual presentados en el manuscrito.

A handwritten signature in purple ink that reads "Guadalupe H.C." with a horizontal line underneath.

Atte, Guadalupe del carmen Hernández Cerna

Resumen

Desde el 2019, México es el segundo productor mundial de frambuesa (*Rubus idaeus*). Tiene una vida poscosecha muy corta (5-6 días a 1°C) lo que limita su comercialización. La rápida pérdida de firmeza de la fruta es un parámetro de calidad importante que determina su vida útil. Una de las estrategias que ha mostrado resultados positivos en extender la vida poscosecha de los frutos es la aplicación de atmósferas controladas (AC).

Se ha demostrado que el tratamiento de AC con altas presiones de CO₂ durante dos semanas incrementan la firmeza inicial de los frutos, en comparación de los frutos no tratados que presentan un proceso normal de degradación de pared celular. Se ha sugerido que el tratamiento con AC induce la formación de pectatos de calcio y la inactivación de enzimas de degradación de pared celular.

Este trabajo planteó identificar los cambios fisiológicos y bioquímicos inducidos por AC que afectan la firmeza de 2 variedades de frambuesa roja 'Adelita' y 'Evita'. Se estudiaron dos tratamientos de almacenamiento, 1) AC por 3 días (10% O₂ + 15% CO₂) y aire durante 13 días; y 2) grupo control (16 d en aire). En los frutos almacenados se evaluó la calidad y parámetros fisiológicos (firmeza, pérdida de peso, color, acidez titulable, sólidos solubles, tasa de respiración y producción de etileno), actividad enzimática PME, PG, PL y B-Gal, y contenido de pectatos de calcio. El almacenamiento de 3 días en AC aumentó la firmeza de la fruta (3.8-20.3%) entre los días 3-7 de almacenamiento y redujo en un 50% la pérdida de peso, comparando con el control en aire para la variedad Adelita. La alta actividad de PL y la disminución de PG en los días 3 y 7 se correlacionan con los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos en el incremento y conservación de la firmeza observado en la variedad Adelita. Mientras que la degradación de la pectina por la acción de PME se ve disminuida por la acción de AC y por tanto la formación de pectatos de calcio no se ve favorecida. En conjunto estos resultados indican que las AC retrasan la degradación de la pared celular y promueven una mayor preservación de las características de firmeza deseadas en la frambuesa.

Palabras clave: enzimas degradadoras de pared celular, frambuesa, atmósferas controladas, pectatos de calcio, firmeza.

Abstract

Since 2019, Mexico is the second world producer of raspberry (*Rubus idaeus*). It has a very short post-harvest life (5-6 days at 1°C), which limits its marketing. The rapid loss of firmness of the fruit is an important quality parameter that determines its shelf life. One of the strategies that has shown positive results in extending the postharvest life of fruits is the application of controlled atmospheres (CA).

It has been shown that CA treatment with high CO₂ pressures for two weeks increases the initial firmness of the fruits, compared to untreated fruits that present a normal process of cell wall degradation. It has been suggested that AC treatment induces the formation of calcium pectates and the inactivation of cell wall degradation enzymes.

This work aimed to identify the physiological and biochemical changes induced by CA that affect the firmness of 2 varieties of red raspberry 'Adelita' and 'Evita'. Two storage treatments were studied, 1) AC for 3 days (10% O₂ + 15% CO₂) and air for 13 days; and 2) control group (16 d in air). Quality and physiological parameters (firmness, weight loss, color, titratable acidity, soluble solids, respiration rate and ethylene production), enzymatic activity PME, PG, PL and B-Gal, and content of calcium pectates. Storage for 3 days in AC increased fruit firmness (3.8-20.3%) between days 3-7 of storage and reduced weight loss by 50%, compared to the control in air for the Adelita variety. The high activity of PL and the decrease of PG on days 3 and 7 are correlated with the physiological and physicochemical parameters in the increase and conservation of firmness observed in the Adelita variety. While the degradation of pectin by the action of PME is diminished by the action of CA and therefore the formation of calcium pectates is not favored. Taken together, these results indicate that AC delay cell wall degradation and promote greater preservation of desired firmness characteristics in raspberry.

Keywords: cell wall degrading enzymes, raspberry, controlled atmospheres, calcium pectates, firmness.

Introducción

La frambuesa (*Rubus idaeus* L.) es un fruto de alto valor comercial, al igual que otras frutillas, que tiene gran demanda en el mercado internacional. En México, en el periodo 2012 al 2019, la producción de este fruto creció 657% y alcanzó 128,848 toneladas en el 2020 (SIAP, 2020), de esta producción el 67% se exportó a diferentes mercados, siendo el principal importador los Estados Unidos. Por esta razón, la frambuesa es de los cultivos con mayor valor comercial en la industria frutícola mexicana.

La frambuesa se caracteriza por poseer propiedades nutraceuticas debido a su contenido de vitamina C que es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes como la vitamina E y el selenio; no obstante, su comercialización se dificulta debido a que presenta corta vida de anaquel (Kader y Pelayo-Zaldivar, 2007).su alta tasa de respiración lo sitúa como un fruto altamente perecedero, que se asocia a la pérdida de firmeza o ablandamiento de los tejidos celulares.

El deterioro está vinculado al proceso de maduración y senescencia que pueden ser retardados a través de la aplicación de atmósferas controladas. En frutillas como fresa, zarzamora y frambuesa (*R. idaeus*) se ha observado que tienen un efecto positivo en alargar la vida poscosecha, ya que se retrasa la degradación de la pared celular y se disminuye la actividad de las enzimas hidrolíticas responsables de las alteraciones fisiológicas del tejido celular, que trae como consecuencia el ablandamiento del fruto y pérdida de características fisicoquímicas y sensoriales como Pectil metil esterasa (PME), Poligalacturonasa (PG), Pectato liasa (PL) y la β -galactosidasa (β -Gal). En frambuesa sometida a tratamientos de AC continua y alta concentración de CO₂, adicionalmente de esta disminución en la actividad de enzimas hidrolíticas, se ha observado un aumento en la firmeza en frutos (Haffner y col., 2002; González-Orozco y col., 2018), lo cual sugiere que existe otro mecanismo involucrado en el incremento en la vida de anaquel. Una posible causa es que ocurra la unión de Ca⁺² en los componentes de la pared celular, como ha sido reportado anteriormente en otros frutos almacenados en elevada concentración

de CO₂ (Wang y col., 2014); no obstante, no existen estudios que comprueben esta hipótesis en frambuesa.

Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo de investigación fue estudiar en frambuesa almacenada en AC el mecanismo bioquímico y alteraciones fisiológicas relacionados con la firmeza, esto a través de evaluar la actividad de enzimas de degradación de pared celular y formación de pectatos de calcio.

Antecedentes

2.1. Producción e importancia de la frambuesa en México

En México el 2019 se registró una superficie sembrada de frambuesa de 7,313.67 hectáreas que produjeron 128,848 toneladas (Tabla 1). Mientras en 2012 se registró una superficie sembrada de 1, 198.70 hectáreas con una producción de 17,009 toneladas y un crecimiento de 657% en apenas 7 años (SIAP, 2020). En el 2020, el servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP) reportó que el mercado de las frutillas continúa creciendo (Figura 1) a nivel internacional y como resultado México generó un superávit comercial de 915.5 millones de dólares y solo 914 millones de dólares fueron por la venta de frambuesa al exterior en el 2019, lo que representa un incremento del 21.8% respecto al año anterior en donde se generaron 750 millones de dólares (SIAP, 2020).

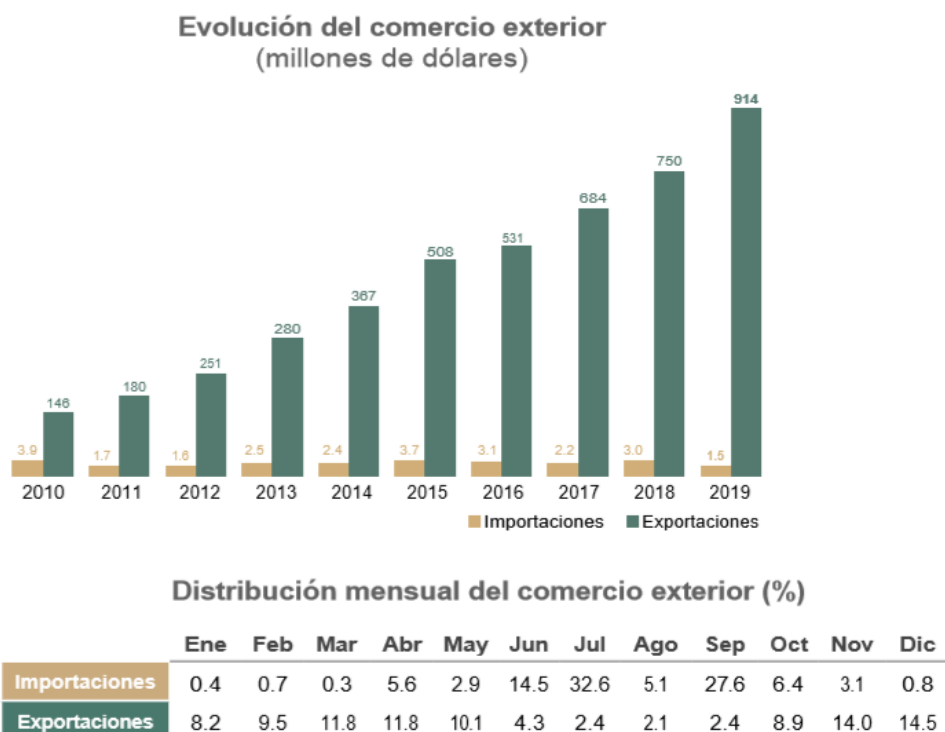


Figura 1. Evolución del comercio exterior de frambuesa (millones de dólares) (SIAP, 2020).

De las 128, 848 toneladas de frambuesas producidas en México en 2019, los principales estados de frambuesa fueron Jalisco, Michoacán y Baja California que aportaron el 98.7% de la producción, con un total de 127,224 toneladas fueron exportadas por México hacia distintos países (SIAP, 2020). El principal comprador de las frambuesas exportadas por México es Estados Unidos de América. Además, México posee un clima que favorece la producción de frambuesas fuera de las temporadas respecto de la producción en Estados Unidos de América, esto da la oportunidad de exportar frambuesas a este país en contra estación (SIAP, 2020).

De las 128, 848 toneladas de frambuesas producidas en México en 2019, los principales estados productores de frambuesa fueron Jalisco, Michoacán y Baja California que cuenta con climas que favorecen su producción fuera de temporada que aportaron el 98.7% de la producción, con un total de 127,224 toneladas fueron exportadas por México hacia distintos países.

Tabla 1. Distribución de producción de frambuesas en México (SIAP, 2020).

Rank	Entidad federativa	Volumen (toneladas)		Variación (%) 2012-2019
		2012	2019	
Total nacional		17,009	128,848	657.52
1	Jalisco	12,634	89,497	608.38
2	Michoacán	2,338	25,988	1011.55
3	Baja california	1,800	11,739	552.17
4	Guanajuato	72	962	1236.72
5	Puebla	0	558	NA
6	México	154	71	-46.90
7	Colima	0	22	NA
8	Ciudad de México	11	10	-8.42

2.2. Generalidades de la frambuesa

2.2.1. Taxonomía

Las frambuesas son miembros de la familia *Roseaceae*, pertenece al género *Rubus* en el que se han integrado 14 subgéneros y más de 400 especies (Tabla 2) (Harshman, 2012), pero solamente las frambuesas del subgénero *Idaeobatus*

(caracterizado por que los frutos maduros se separan del receptáculo) han tenido significado comercial (Finn y Hancock, 2008), no obstante, otros subgéneros han contribuido en el desarrollo de programas de mejoramiento genético como proveedores de material genético (Kempler y Finn, 2012).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la frambuesa (Jennings y Daubeny, 1991).

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>rosidae</i>
Orden	<i>Rasales</i>
Familia	<i>Rosaceae</i>
Genero	<i>Rubus</i>
Especie	<i>R. idaeus</i>

2.2.2. Características morfológicas

La frambuesa es un arbusto con tallo subterráneo, semileñoso, erecto y espinoso, el fruto consiste en un receptáculo central al que se unen varias drupelas que contienen una sola semilla por drupela; en la superficie externa tricomas se entrelazan ayudando con la adhesión de la drupela. Su maduración se manifiesta por el cambio verde a rojo y facilidad de separación colectiva del receptáculo (abscisión) característica que es aprovechada para establecer el momento de la cosecha (Mackenzie, 1979).

El frambueso posee una estructura perenne inferior llamada corona, que cada año emite ramas bienales, es decir, permanecen activas por dos temporadas; (Rubio y col., 2014). De la corona nacen las raíces encontrándose en la parte superficial del suelo en los primeros 30 cm del tallo que cada año emite ramas aéreas conocidas

como vástagos las cuales se desarrollan durante el primer año y en el segundo año florecen, fructifican y mueren, siendo remplazados por nuevos vástagos (Rubio y col., 2014). Cuenta con hojas compuestas, de borde aserrado, con tres a cinco foliolos de color verde intenso en el haz y gris en el envés, presentando un largo peciolo y las flores son pequeñas, tienen una corola compuesta de cinco estambres y pistilos (Figura 2). De la flor fecundada por el polen se forma el fruto que corresponde a una poli drupa (Figura 3) (Morales y Gloria, 2009).

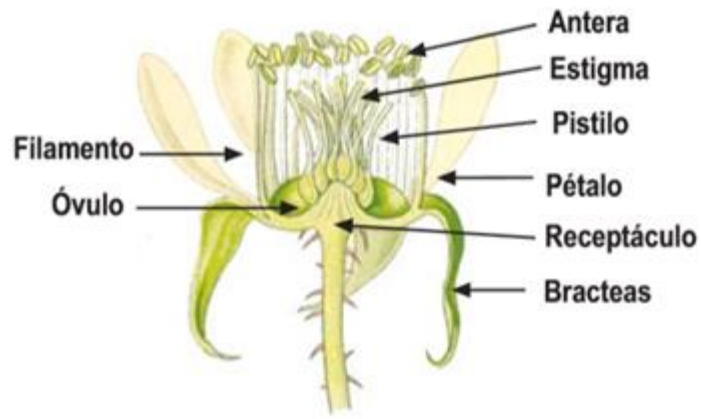


Figura 2. Estructura anatómica de la flor de frambuesa (Morales y Gloria, 2009).

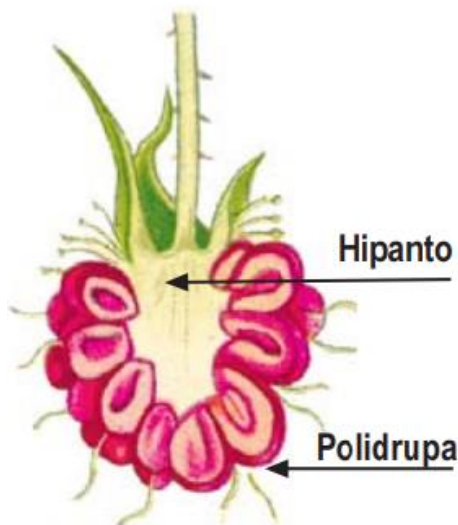


Figura 3. Vista general del fruto de la frambuesa (Morales y Gloria, 2009).

2.3. Clasificación de variedades

En un contexto general, las variedades de frambueso se clasifican según su origen, color o época de producción, siendo estas dos últimas las más tradicionales formas para su identificación (Morales y Gloria, 2009).

Las frambuesas están en el subgénero *Idaeobatus*, que contiene la frambuesa roja europea (*R. idaeus* subsp. *Vulgatus* Arrhen o *R. idaeus* L.), la frambuesa roja norteamericana (*R. idaeus* subsp. *strigosus* Michx o *R. strigosus* Michx), frambuesa negra del este de América del Norte (*R. occidentalis* L.) y frambuesas moradas que son híbridos entre frambuesas rojas y *R. occidentalis* (*R. neglectus* Peck) (Harshman, 2012).

Existe cierto desacuerdo sobre qué especie de frambuesa roja era originalmente híbrido con *R. occidentalis* L. para producir el primer *R. neglectus* Peck, descrito Harshman (2012). También hay desacuerdo sobre si estos híbridos interespecíficos deberían tener un nombre de especie separado o si deben seguir la convención de nombrar híbridos como *R. idaeus* y *R. occidentalis* las frambuesas rojas europeas se denominan *R. idaeus*, negro oriental las frambuesas se denominarán *R. occidentalis* e híbridos entre (*R. idaeus* y *R. occidentalis*) estas dos especies se refieren como *R. neglectus*.

2.3.1. Variedades en México

Dentro de la frambuesa (*Rubus idaeus*) se han generado variedades más comerciales en México como Sevillana, Maravilla, Carmina, Esperanza, Adelita, Lupita, entre otras y los proveedores principales de estas variedades son Driscoll's, Andrew & Williamson y Sanbell (Sagarpa, 2018).

El uso de variedades por parte de productores depende básicamente de la exportadora con la que trabaje, ya que en muchos casos ellos proveen de las plantas. Hay varias exportadoras que están integradas verticalmente y tienen sus propios huertos de producción y cuando trabajan con productores externos, le recomiendan el uso de sus variedades (Bascopé, 2013).

La Tabla 3 presenta la recomendación de uso de distintas variedades de acuerdo con distintas condiciones climáticas determinado por la altura sobre el nivel del mar y el tipo de sistema de producción (túnel o abierto).

Tabla 3. Uso de variedades para distintas condiciones climáticas y sistemas de manejo (Bascope, 2013).

Altitud (m)	Variedad	Cosecha	Rendimiento (T/Ha)	Ambiente
2600-3000	Malling	Julio-Agosto	10-15	Bajo cubierta plástica
	Exploid	Julio	10-15	
	Anita	Junio- Octubre	10-12	
	Autum bliss		10-12	
	Heritage	Junio- Noviembre		
2000-2400	Anita	Mayo	8-12	Campo abierto
	Primavera	Abril-Mayo	10-15	
	Autum bliss	Mayo- Octubre	5-15	
	Heritage	Mayo- Octubre	4-12	
1800-2000	Anita	Abril- Octubre	8-12	Campo abierto
	Autum bliss	Abril- Octubre	5-10	
	Blazer	Abril- Octubre	5-10	
	Heritage	Mayo- Octubre	5-10	
1500-1800	Autum bliss	Enero- Diciembre	3-8	Campo abierto
	Heritage	Enero- Diciembre	3-8	
1200-1500	Autum bliss	Enero- Diciembre	3-5	Campo abierto

2.4. Manejo de cultivo

2.4.1. Planta

La multiplicación de la planta se realiza por métodos de reproducción asexual o vegetativa y los sistemas que se pueden utilizar después de la multiplicación son: raíz desnuda, maceta y bandeja de alveolos. Los últimos dos son los más recomendados debido a que se obtienen plántulas con mayor calidad y sanidad al ser reproducidos mediante propagación in vitro de tejidos, mientras las plantas a raíz desnuda son más susceptibles a contaminación por enfermedades (Rubio, 2014).

2.4.2. Clima

El frambueso es bastante resistente a las bajas temperaturas invernales y a los fuertes calores estivales, las condiciones climáticas óptimas para su cultivo son las de inviernos con bajas temperaturas constantes, pero no excesivas, y veranos relativamente frescos, caracterizados por una cierta oscilación térmica entre el día y la noche. Por lo tanto, el rango de temperatura óptimo para que la producción sea mayor se encuentra entre 14-19 °C. Por otro lado, para romper la latencia del frambueso se necesitan 750-1700 horas-frío. Así mismo los descensos fuertes de temperatura pueden dañar el extremo apical de los rebrotes más vigorosos todavía no lignificados. A partir de su entrada en vegetación, los efectos de una helada tardía pueden causarle gravísimos daños, perdiéndose gran parte de la floración precoz, lo cual puede repercutir también sobre la floración tardía. Durante el período de floración, el frambueso es muy sensible a bajas temperaturas primaverales, soportando el botón floral cerrado los -1 a 3 °C, la flor abierta -0 a 7 °C y el fruto recién brotado los -0 a 7 °C mientras que las heladas tardías, pueden también perjudicar al fruto si coinciden con la maduración de éste (Rubio y col., 2014).

2.4.3. Suelo

Se recomiendan suelos profundos, fértiles y con buen drenaje, ya que es una planta muy sensible a la asfixia radicular. En este sentido se recomienda los suelos de textura arenosa o franco-arenosa, suelos de pH ligeramente ácidos y con una conductividad eléctrica menor a 1.2 dS/m (Rubio y col., 2014).

2.4.3. Enfermedades

Las enfermedades del cultivo de la frambuesa son variadas en cuanto al organismo que las provocan y al órgano que dañan, siendo las más importantes las que afectan al fruto y disminuyen su calidad organoléptica. Entre las más comunes están: roya (*Pucciniastrum americanum*), pudrición o moho gris (*Botrytis cinerea*), agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*), marchitez (*Verticillium spp.*), pudrición del cuello y raíces (*Phytophthora spp.*), oídio o cenicilla (*Sphaeroteca macularis*) (Undurraga y Vargas, 2013).

2.4.4. Cosecha y postcosecha

La madurez de la fruta está determinada por índices de calidad en gran medida por parámetros fisicoquímicos como tamaño, color de la superficie del fruto y éste debe ser cercano al rojo (Sturm, K y col., 2003), textura firme, además la acidez y los sólidos solubles totales. Para evitar una manipulación excesiva y dañar a la fruta debe cosecharse, seleccionarse, clasificarse y empacarse a mano en el campo, directamente en el contenedor final (Krüger y col., 2003), para después ser llevada, dentro de las 2 primeras horas desde la cosecha a cámara de prefrío con aire forzado para reducir la temperatura de campo en el menor tiempo posible (Horvitz, 2017).

La temperatura de almacenaje recomendada es de 0-0.5°C para la frambuesa, mientras que la relación con la humedad relativa debe estar entre 90% y 95%. Se estima que se puede aumentar en un par de semanas la vida de la frambuesa en buenas condiciones con el almacenamiento en atmósferas controladas con concentraciones del 10% de O₂ y de 15% de CO₂ (Gonzalez-Orozco, 2018; Mitcham y col., 2014).

2.4.5. Transporte de la fruta

El transporte al empaque debe realizarse lo más rápido posible para eliminar el calor de campo y debe efectuarse en forma eficiente para que el tiempo de pre enfriado se alcance dentro de 1.5 a 2 horas en forma homogénea en toda la carga que ingresa a los sistemas de pre enfriado. Es necesario así mismo evitar la contaminación de la fruta con partículas de polvo o materiales extraños productos del traslado desde campo al empaque (Robledo y col., 2017).

2.4.6. Embalaje y envío a mercados

La etapa de embalaje de la fruta debe realizarse con temperaturas no superiores a 4°C evitando que se produzca aumentos que deterioren la fruta. El tiempo transcurrido entre cosecha y comercialización o transporte debe ser el mínimo para llegar a los diferentes mercados en óptimas condiciones con cadena de frío (Robledo y col., 2017).

2.5. Problemas postcosecha

La frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) es muy valorada porque tienen un sabor característico y contienen compuestos bioactivos potencialmente beneficiosos para la salud. Sin embargo, son muy perecederos y tienen una vida útil limitada, por lo tanto, la mejora de la calidad postcosecha y una mayor vida de anaquel son objetivos importantes en muchos programas de mejoramiento de frambuesa en todo el mundo (Palonen y Weber, 2019).

Las principales limitantes de comercialización de frambuesa se deben a una temporada de crecimiento restringida y vida útil de la fruta, donde los principales objetivos del manejo postcosecha son disminuir la tasa de respiración y transpiración que disminuye los procesos naturales de ablandamiento y senescencia de la frambuesa, que a menudo se ven exacerbadas por la entrada de enfermedades, como moho gris (*Botrytis cinérea*) (Manson y C, 1978; Mcnicol y col., 1990).

Por otra parte Burdon y Sexton (1990) describen que la frambuesa es una fruta climatérica, ya que la concentración de etileno puede aumentar incluso 75 veces durante la maduración. Por otra parte para (1992) Perkins-Veazie y Nonnecke, sugirieron que la maduración en la fruta de frambuesa es independiente de la producción de etileno haciendo concordancia con Burdon y Sexton (1994) que argumenta que la pigmentación del color y el ablandamiento de la fruta ocurre antes de aumento en la producción de etileno, lo que indica que el aumento no es el desencadenante de la maduración de la frambuesa y por lo tanto no es climatérica. De acuerdo con Iannetta y col. (1999) la frambuesa es una fruta no climatérica pero sensible al etileno, donde la aplicación exógena de etileno mejora la respiración, disminuye la firmeza de las drupelas e induce la formación de antocianinas en las mismas.

Durante el almacenamiento, la fruta se vuelve más oscura, menos roja y más azul, lo que indica un aumento de antocianinas y un menor atractivo estético. El cambio de color máximo entre la fruta recién cosechada y almacenada se alcanza después de 8 días a 0 ° C y 4,5 ° C, y después de 4 días a 20 ° C (Robbins y Moore, 1990). La expresión del color de antocianina también depende del pH (Brouillard, 1982); durante la maduración de la fruta de frambuesa, la concentración de ácidos

orgánicos disminuye, mientras que la concentración de antocianinas aumenta junto con la intensidad del color (Krüger y col., 2011; Stavang y col., 2015).

Entre las condiciones que disminuyen la tasa de respiración para alargar la vida postcosecha de la frambuesa se encuentran el almacenamiento a bajas temperaturas y su combinación con atmósferas controladas (altos niveles CO₂ y bajos de O₂) en las cámaras de almacenamiento (Jin y col., 2012; González-Orozco y col., 2018).

2.5.1. Causas del deterioro de la vida de anaquel

La vida útil podría definirse como el período de almacenamiento potencial de un producto hasta que no sea apto para el consumo humano o sea rechazado por los clientes (Mulderij, 2016). La vida útil de los productos frescos, por lo tanto, es dinámica, dependiendo de: (i) la naturaleza del producto, (ii) las condiciones ambientales previas y posteriores a la cosecha y (iii) las expectativas del consumidor. Los dos últimos factores conducen a muchas variaciones en las definiciones y evaluaciones de la vida útil de bayas entre los estudios (Mitcham y col., 2014).

Por su naturaleza, la vida útil de las bayas puede variar considerablemente entre los cultivares, pero en general, todavía está limitada debido a sus altas tasas de respiración (52–245 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 20 ° C), estructuras frágiles y alta susceptibilidad fúngica (Perkins-Veazie, 2016).

Además, la frambuesa posee una alta tasa de respiración y es altamente perecible; es por ello por lo que las principales causas de deterioro son la deshidratación, pérdida de apariencia (firmeza) y pérdida de calidad sensorial. Por tanto, es necesario considerar estos aspectos para mantener su calidad y características organolépticas una vez cosechada la fruta (Robledo y col., 2017).

2.6. Composición nutrimental de la frambuesa

De acuerdo con su composición la frambuesa roja es considerada un alimento saludable (Tabla 4). Es baja en contenido calórico con un aporte de solo 52 kcal por cada 100 g, con 85.75 % de agua, 11.94 % de carbohidratos, 6.5% de fibra dietaria, 1.20 % de proteínas y 0.65 % de lípidos totales, de los cuales el 97.8% corresponde a ácidos grasos insaturados, etc (Strik, 2007).

Existe una gran diversidad dentro de la especie *Rubus* para micronutrientes, vitaminas y compuestos benéficos para la salud humana (Seeram, 2008; Stewart y col., 2007). Publicaciones recientes que tratan sobre la prevención del cáncer con frecuencia señalan la importancia del consumo de frutas y verduras. Las antocianinas y los polifenoles, como el ácido eláxico, han mostrado ser cualidades benéficas (rancherismo) in vitro e in vivo para proteger las células de diversas lesiones, como el envejecimiento y diferentes formas de cáncer. La acción de prevención y supresión del cáncer por el ácido eláxico se ha informado en muchos artículos, al igual que el contenido muy alto de ácido eláxico de las frambuesas (Mullen y col., 2002).

Tabla 4. Composición nutrimental de frambuesa roja (Rao y Snyder, 2010).

Tipo	Nutriente	Contenido (100 g)
Proximales	Calorías (Kcal)	52
	Agua (g)	85.75
	Proteína (g)	1.20
	Lípidos totales (g)	0.65
	Carbohidratos totales (g)	11.94
	Fibra dietaria (g)	6.5
	Azúcares (g)	4.42
	Sacarosa (g)	0.2
	Glucosa (g)	1.86
	Fructosa (g)	2.35
Minerales	Calcio (mg)	25
	Hierro (mg)	0.69
	Magnesio (mg)	22
	Fosforo (mg)	29
	Potasio (mg)	151
	Sodio (mg)	1
	Zinc (mg)	0.42
	Cobre (mg)	0.090
	Manganeso (mg)	0.670
	Vitaminas	Vitamina C (mg)
Tiamina (mg)		0.032
Riboflavina (mg)		0.038
Niacina (mg)		0.598
Acido pantoténico (mg)		0.329
Vitamina B6 (mg)		0.055
Colina (mg)		12.3
Betaína (mg)		0.8

Vitamina E, α - tocoferol (mg)	0.87
--	------

2.7. Calidad de la frambuesa

La fruta para consumo fresco debe cumplir con ciertos estándares de calidad que está definida por una serie de factores que pueden agruparse en calidad visible, calidad organoléptica y calidad nutritiva (Robledo y col., 2017).

Índice de calidad visible según Robledo y col., (2017) se refiere a la apariencia de la fruta, la cual en frambuesa se define como un fruto de color rojo uniforme claro oscuro, (Figura 4) el color óptimo deseable es el C4; sin coloraciones blancas ni verdes, de aspecto brillante; con un tamaño de fruta de calibre mayor a 8 mm y forma cónica, con todas sus drupeolas, con firmeza adecuada y sin problemas de deshidratación.

El color es un componente importante de la calidad y está directamente relacionado con la concentración y composición de antocianinas en el fruto (García-Viguera y col., 1998).

Los colores rojo púrpura intenso son típicos de las antocianinas. El contenido total de antocianinas es correlacionado con el color visible de la fruta de frambuesa y es bajo en mutantes de fruta amarilla y muy alto en frambuesas negras (*Rubus occidentalis* L.) (Anttonen y Karjalainen, 2005; Weber y col., 2008). En general, los cultivares de frambuesa con alto contenido de antocianinas tienen un alto contenido fenólico y capacidad antioxidante (Weber y col., 2008) . Los consumidores encuentran la fruta de frambuesa con altas concentraciones de ciertas antocianinas, y particularmente las sintetizadas durante las etapas posteriores del desarrollo de la fruta visualmente menos atractivas (Stavang y col., 2015). Durante el almacenamiento, la fruta de frambuesa se vuelve más oscura, menos roja y más azul (Krüger y col., 2011), lo que indica un excesivo incremento de antocianinas se refleja en una menor apariencia. La expresión del color de antocianina también depende del pH (Brouillard, 1982); durante la maduración de la fruta de frambuesa, la concentración de ácidos orgánicos disminuye, mientras que la concentración de antocianinas aumenta junto con la intensidad del color (Krüger y col., 2011; Stavang y col., 2015).

La estabilidad del color es un parámetro importante de calidad postcosecha para la fruta de frambuesa y depende del genotipo. Los cultivares que permanecen más cerca del color de la fruta recién cosechada son más deseables que los cultivares con fruta que se oscurecen significativamente durante el almacenamiento. El contenido de antocianinas varía ampliamente entre diversos cultivares (Weber y col., 2008) y en diferentes entornos (Moore y col., 2008). Se detectaron un total de 10 antocianinas en la fruta de frambuesa con cianidina-3-sophorosido y cianidin-3-(2G-glucosilrutinoside)-rutinósido siendo los cultivares que se oscurecen significativamente en el almacenamiento las más abundantes, comprendiendo el 73% del total (Remberg y col., 2010). cambio de color después de la cosecha en comparación. La información sobre la estabilidad del color en la fruta de frambuesa fresca es limitada y no hay información publicada disponible sobre los mecanismos detrás de la estabilidad del color.

Algunos autores (Haffner y col., 2002; Robbins y Moore, 1990) han reportado que las diferencias de color relativas entre los cultivares se mantienen durante el almacenamiento, de modo que las frutas con un color rojo más claro y menos azul (mayor Hue °) en la cosecha también tienen un color mejor (más claro) después del almacenamiento. Mientras que la concentración de antocianinas generalmente aumenta durante el almacenamiento de frambuesas frescas (Haffner y col., 2002; Kalt y col., 1999; Krüger y col., 2011), los productos procesados de frambuesa generalmente experimentan pérdida de color debido a la degradación de las antocianinas a altas temperaturas (Haffner y col., 2002).

La calidad nutritiva está asociada principalmente a su capacidad antioxidante propia de la familia de las bayas, rica en vitamina C, manganeso y fibra, además aportando otras vitaminas y minerales como ácido fólico, riboflavina, magnesio, potasio a si mismo presenta un bajo aporte calórico (40 Kcal por cada 100g).

La calidad organoléptica está determinada por un contenido de azúcares y ácidos que determinan el sabor característico de la especie y compuestos volátiles responsables del aroma característico de la fruta (Robledo y col., 2017).

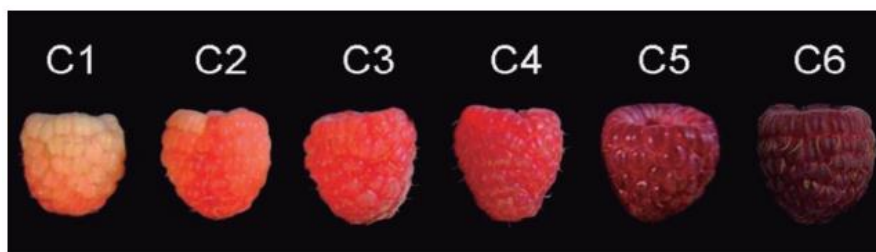


Figura 4. Evolución del color en diferentes estados de madurez en frambuesa (Zoffolo y col., 2010).

2.8. Metabolismo de la pared celular

La pared celular primaria está compuesta de aproximadamente 10% de proteínas y 90% de polisacáridos, que se pueden dividir en tres grupos: celulosa, hemicelulosa y pectina (Carpita, 1996). Mientras que la composición de los polisacáridos puede variar entre especies (Carpita, 1996), los valores típicos son aproximadamente 30% de celulosa, 30% de hemicelulosa y 35% de pectina (Cosgrove, 1997).

En la frambuesa, la firmeza de la fruta también se ve afectada por factores como los cambios en la composición y la arquitectura de la pared celular, la reducción del contenido de pectina debido a la esterificación de la misma y el grado de metilación durante la progresión de la maduración (Stewart y col., 2001). La frambuesa sigue un escenario clásico de maduración que implica la desmetilación de la pectina y la solubilización, particularmente en la etapa roja (madura) como se muestra en la Figura 4 que va de C4 a C5; en esta última etapa de consumo, siendo evidente una degradación extensa de la celulosa, al igual que un aparente aumento relativo de la proteína unida a la pared celular. La reducción hidrolítica del peso molecular de la pectina y la desmetilación desempeñan un papel clave en la firmeza representando alrededor del 60% de la pared celular con homogalacturonanos (HG) como los principales polímeros (Paniagua y col., 2017; Villarreal y col., 2016). Los homogalacturonanos se exportan al apoplasto con un gran porcentaje de esterificación de metilo en el C-6 de residuos de ácido galacturónico y el proceso de desesterificación es catalizado por pectina metilesterasas (PME) (Pelloux y col., 2007). Los HG desmetilados de las pectinas pueden unirse al Ca^{+2} y conectarse entre sí para reforzar la pared celular, pero también representan el sustrato que degrada enzimas como PG y PL (Posé y col., 2011). Sin embargo, la maduración

de frutos blandos, como la fresa y en particular, la frambuesa, ha sido pobremente documentada. Para la frambuesa al menos, puede haber varias razones para esto; un tamaño de mercado limitado, una corta vida útil de postcosecha y en menor medida, la dificultad de separación de la pared celular de la semilla (Stewart y col., 2001).

El proceso de maduración, involucra la expresión de muchos genes relacionados bajo el control de una red de vías de señalización que incluye el control hormonal de la maduración climatérica de la fruta, especialmente la percepción de etileno y la transducción de señales (Travisany y col., 2019).

Se sabe que la tasa de producción de etileno aumenta en la fruta de frambuesa a medida que avanza la maduración y conducirá a una fuerte disminución en la firmeza de la fruta y la vida útil hacia la madurez (Fuentes y col., 2015; Iannetta y col., 1999).

En un estudio realizado por Tian y col. (1994) donde la actividad de enzimas formadoras de etileno (EFE) en los discos de pera fue estimulada por el CO₂ solo cuando se agregó ACC (sintasa) exógenamente. Esto sugiere que el efecto estimulante del CO₂ sobre la actividad de EFE puede ser causado por un complejo de CO₂-EFE-ACC o EFE-ACC-CO₂ que aumenta la velocidad máxima de reacción de conversión de ACC a etileno.

Algunos autores han evaluado el papel de algunas enzimas relacionadas con los principales factores de deterioro de la frambuesa, ya mencionados (en la sección 2.8.1). Los estudios muestran que el pardeamiento por la actividad polifenoloxidasas y peroxidasa está vinculado directamente con la pared celular y la pérdida de firmeza (Robledo y col., 2017).

La frambuesa sigue un escenario clásico de maduración que implica la desmetilación de la pectina y la solubilización, particularmente en la etapa roja (madura) como se muestra en la Figura 4 que va de C4 a C5; en esta última etapa de consumo, es evidente una degradación extensa de la celulosa, al igual que un aparente aumento relativo de la proteína unida a la pared celular. La reducción hidrolítica del peso molecular de la pectina y la desmetilación desempeñan un papel

clave en la firmeza de la frambuesa, además contribuye con la corta vida de anaquel. Además las pectinas representan alrededor del 60% de la pared celular, con homogalacturonanos (HG) como los principales polímeros (Paniagua y col., 2017; Villarreal y col., 2016). Los homogalacturonanos se exportan al apoplasto con un gran porcentaje de esterificación de metilo en el C-6 de residuos de ácido galacturónico y el proceso de desesterificación es catalizado por pectina metilesterasas (PME) (Pelloux y col., 2007). Los HG desmetilados de las pectinas pueden unirse al Ca^{2+} y conectarse entre sí para reforzar la pared celular, pero también representan el sustrato que degrada enzimas como PG y PL (Posé y col., 2011).

2.8.1. Pectil metil esterasa

La pectina se pueden clasificar en cuatro dominios de polisacáridos pécticos: homogalacturonano (HGA), rhamnogalacturonano I (RGI), rhamnogalacturonano II (RGII) y xilogalacturonano (XGA), que difieren tanto en la estructura de la macrocolumna vertebral de la molécula y la presencia y diversidad de lado cadenas laterales (Willats, 2001).

La pectina esterasa cataliza la hidrólisis de los grupos éster carboxílicos metilados de la pectina en ácido péctico y metanol dañando los enlaces del calcio horizontales de la cadena de polisacárido (Gámez y Díaz, 2008; Zhang y col., 2019).

La PME cataliza la desesterificación de ésteres metílicos (HGA) de pectina (Figura 5), transformando un polímero neutro en una débilmente esterificada pectina y luego en pectato ácido (Draye y Van Cutsem, 2008). El HGA desmetilado puede formar uniones a Ca^{2+} que promueven la formación de las llamadas estructuras 'caja de huevos', formando geles, o convertirse en un objetivo para enzimas que degradan la pectina, como la PG y PL, que afectan la textura y la rigidez de la pared celular (Moustacas, 1991). Tales cambios en la estructura de la pectina son asociados con cambios en la adhesión celular, plasticidad, pH y contenido iónico de la pared celular e influencia del desarrollo de la planta y respuestas al estrés (Pelloux y col., 2007).

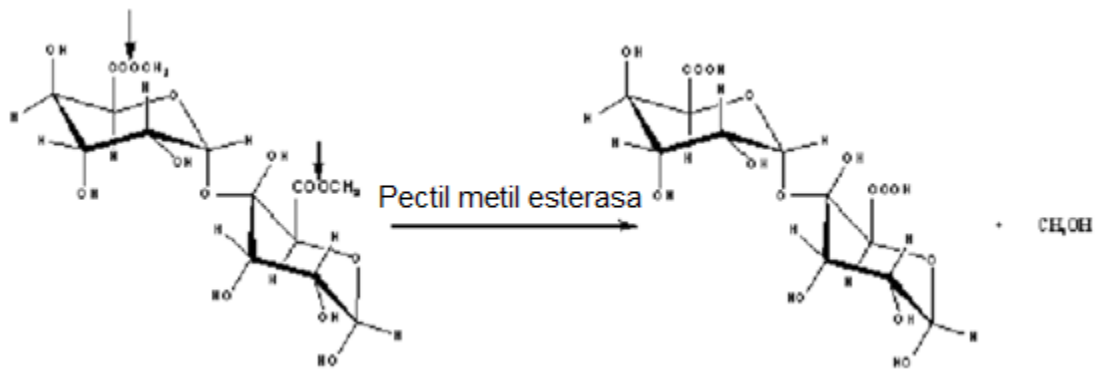


Figura 5. Mecanismo de acción de la pectil metil esterasa (Gámez y Díaz, 2008).

2.8.2. Poligalacturonasa

Las (PG) son producidas por bacterias, hongos, nematodos e insectos (De Lorenzo y Ferrari, 2002; Girard y Jouanin, 1999; Jaubert y col., 2002) y su participación en la patogénesis se ha demostrado para varios hongos como *Botrytis cinérea* entre otros (Kars y col., 2005; Have y col., 1998).

La inmunidad innata de las plantas se basa en un sistema de moléculas que defienden al huésped contra la infección. La defensa se basa en la capacidad de cada célula para reconocer la presencia de patógenos y activar las respuestas de flujo descendente. La primera línea de defensa es la pared celular de la planta, una barrera fisiológica que tiene un papel crítico en el control de la invasión de patógenos. Los microorganismos tienen una serie de enzimas que degradan los polisacáridos de la pared celular. Las (PG), una de las enzimas secretadas en las primeras etapas de la infección, despolimeriza el homogalacturonano, el componente principal de la pectina, al escindir los enlaces glucosídicos α 1,4 entre las unidades de ácido galacturónico (De Lorenzo y col., 2001).

Las pectinas son heteropolisacáridos complejos los cuales presentan dos regiones diferentes definidas "lisas y peludas" y rugosas, en el caso de la frambuesa pertenece a las regiones lisas (Figura 6) esto debido a su grado de polimerización, esterificación y éstas consisten en un esqueleto formado por residuos de ácido D-galacturónico unidos por enlaces α -1,4-glicosídico del ácido péctico que forman cadenas de homogalacturonano las cuales pueden ser acetilados en el O-2 o en el O-3, o también metilados en el O-6 constituyendo la fracción principal de la molécula

de pectina. La actividad de esta enzima puede ser endo (degradación al azar de la cadena pectídica) o exo (degradación de los extremos libres no reductores de la cadena pectídica). El resultado final de esta actividad es la pérdida de la integridad celular y el incremento de la concentración de polisacáridos solubles (Bartley y Knee, 1982; Gámez y Díaz, 2008).

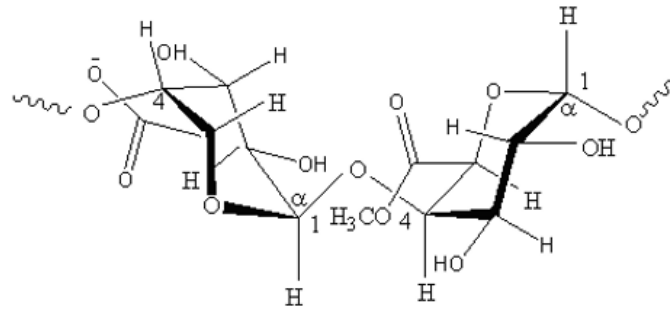


Figura 6. Región "lisa" de la pectina (Gámez y Díaz, 2008).

Las enzimas PG poli(1-4- α -Dgalacturonido) glicanohidrolasa hidrolizan los enlaces α -1,4 glicosídicos entre residuos de ácido D-galacturónico adyacentes (Figura 7), y actúan específicamente en el homogalacturonano o en las "partes lisas" de la molécula de pectina (Benen y col., 1999). Su ataque ocurre al azar, promoviendo una rápida disminución del peso molecular de la pectina (25-360 kDa) con una mínima liberación de extremos reductores (Serrat, 2003).

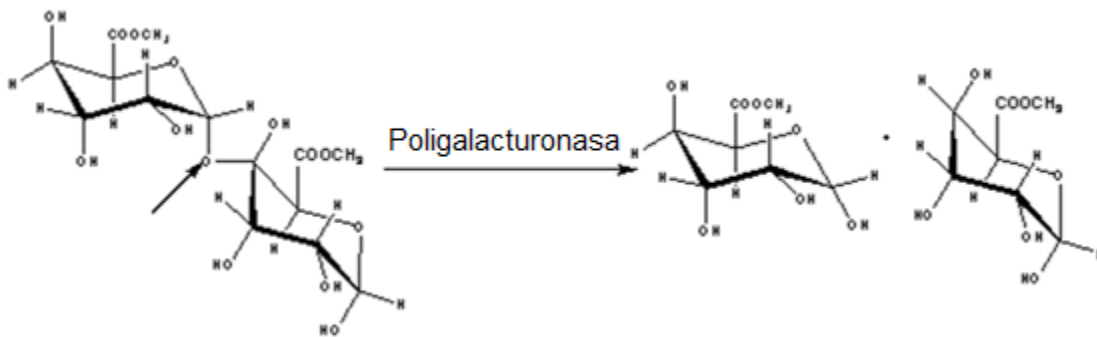


Figura 7. Mecanismo de acción de la poligalacturonasa (Gámez y Díaz, 2008).

Como primera línea de defensa en la planta es la pared celular que contiene un serie de inhibidores de esta enzima y la capacidad de defensa son en específico

proteínas que inhiben la Poligalacturonasa (PGIP) ricas en el aminoácido leucina, esta tiene un sistema de reconocimiento de los patógenos que inhiben específicamente los hongos PG (De Lorenzo y Ferrari, 2002; Di Matteo y col., 2006; Lagaert y col., 2009). Un aumento significativo de la actividad inhibidora de PG, se ha encontrado relacionado con una disminución en la susceptibilidad a *B. cinérea* en plantas transgénicas de tomate y vid que sobre expresan un pera PGIP (Agüero y col., 2005; Powell y col., 2000).

Las PGIP pertenecen a la superfamilia de proteínas de repetición rica en leucina (LRR) (Kobe y Kajava, 2001) y se caracterizan por la repetición en tándem de un motivo de consenso rico en leucina (Mattei y col., 2001). Las proteínas LRR son ubicuas en los reinos de la vida y proporcionan una superficie de reconocimiento versátil para la interacción proteína-proteína.

La interacción PG-PGIP limita el potencial destructivo de las poligalacturonasas y conduce a la acumulación de oligogalacturónidos. Estos oligosacáridos pueden activar las respuestas de defensa de la planta, tales como síntesis de fitoalexinas, lignina y etileno, expresión del inhibidor de proteinasa 1 y β -1,3-glucanasa y producción de especies reactivas de oxígeno (Kalunke y col., 2015; Ridley y col., 2001).

Además, las plantas producen PG que desempeña un papel en el desarrollo de la pared celular (Torki y col., 2000) pero éstas PG no interactúan con los PGIP, lo que sugiere que los inhibidores están especializados para la defensa de las plantas (Federici y col., 2001).

2.8.3. Pectato liasa

Las sustancias pécticas se clasifican en protopecticas, un precursor de las sustancias pécticas insolubles en agua y altamente esterificado y polimerizado; los ácidos poligalacturónicos que tienen una pequeña porción de grupos metilo; y los ácidos pécticos (pectatos) que son ácidos poligalacturónicos libres de grupos metilo. Atendiendo únicamente al contenido en metoxilo, se les considera pectina de alto metoxilo (HM) si el grado de esterificación es superior al 50%, por el contrario, las

pectinas de bajo metoxilo (LM) tienen un grado de esterificación igual o menor al 50% (Figura 8) (Rodríguez y col., 1992).

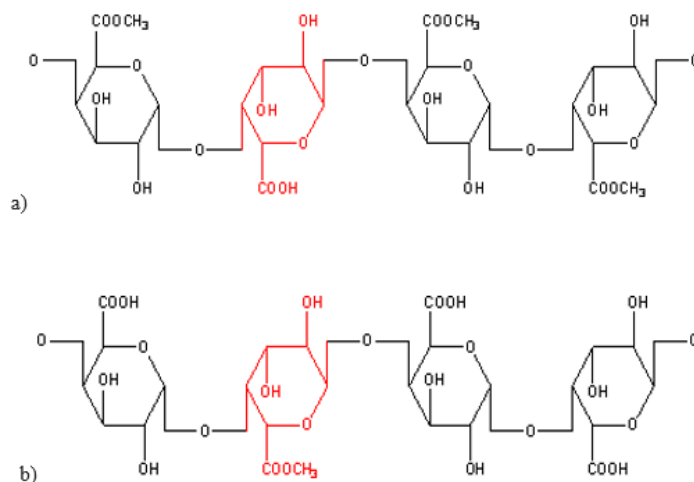


Figura 8. Clasificación de la pectina de acuerdo con el contenido de metoxilo: a) pectina HM, b) pectina LM (Gámez y Díaz, 2008).

La pectato liasa (PL) escinde el ácido poligalacturónico no metilado. A diferencia de las pectinasas, su papel durante la patogenicidad está bien documentado y se descubrió que son factores de virulencia para varias bacterias y hongos fitopatógenos (Collmer y Keen, 1986; Rogers y col., 2000; Yakoby y col., 2001). Hasta la fecha, no se han detectado inhibidores proteicos de PL. Pero se descubrió que la epicatequina, un compuesto que está presente en altas concentraciones en el pericarpio de fruta inmadura, inhibe PelB, un importante factor de virulencia de *Colletotrichum gloeosporioides* (Wattad y col., 1994 ; Yakoby y col., 2001) y al menos seis PL de *Erwinia chrysanthemi* también son inhibidas por epicatequina (Pissavin y col., 1998; Tardy y col., 1997).

La pectato liasa corta los enlaces α -1,4 glicosídicos próximos a un grupo metil éster, por un mecanismo de β -eliminación (trans-eliminación) rompiéndose el enlace glucosídico, formando en el D-galacturónico un doble enlace entre los carbonos 4 y 5 en el extremo no reductor, esto ocurre principalmente en pectinas de alto metoxilo (Figura 9) (De Vries y Visser, 2001; Jacob y Prema, 2006; Rodríguez Nieto y Restrepo Sánchez, 2011).

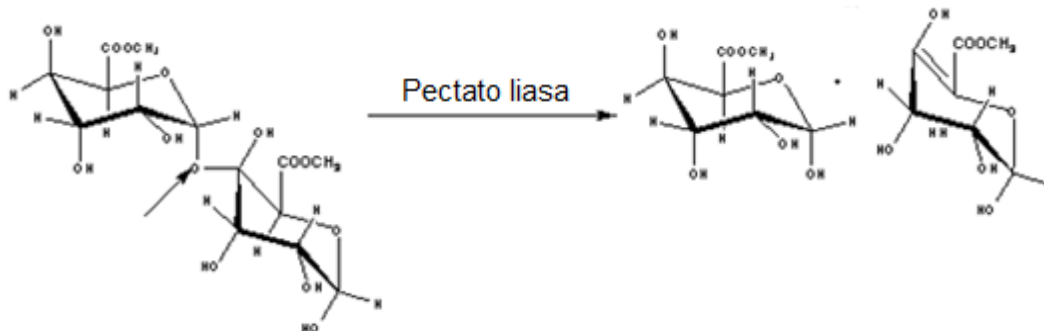


Figura 9. Mecanismo de acción de la pectato liasa (Gámez y Díaz, 2008).

2.8.4. β -Galactosidasa

La pared celular es un compartimiento dinámico, continuamente modificado durante el crecimiento y diferenciación celular. Los residuos que contienen galactosa son muy activos durante ambos procesos (Brummel y Harpster, 2001; Gross y Sams, 1984; Seymour y Gross, 1996). Los residuos galactósicos de la pared celular son hidrolizados durante el desarrollo de los frutos y el incremento en la actividad de la enzima poligalacturonasa (PG) es responsable por el aumento en su tasa de remoción durante su maduración.

Desde el punto de vista del fitomejoramiento, el control genético de la expresión de las β -galactosidasas puede emplearse para mejorar la calidad y la facilidad de extracción de las fibras de lino, así como para modular el ablandamiento y maduración de los frutos en varios cultivos importantes (Pérez-Almeida y Carpita, 2006).

Diversas clases importantes de polisacáridos de las paredes celulares vegetales, como los glucolípidos y glucoproteínas, contienen residuos de galactosa en enlaces tipo β . Incluyen fucogalacto-xiloglucanos, cadenas de (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 6) β -Dgalactanos, proteínas arabinogalactanos del tipo II, (1 \rightarrow 4) β -D-galactanos y arabinogalactanos tipo I relacionados, así como numerosas y complejas glucoproteínas con N-enlaces (Pérez-Almeida y Carpita, 2006).

Los xiloglucanos consisten en unidades heptasacáridas repetidas de cuatro unidades β -D-glucosa enlazadas en (1 \rightarrow 4), con tres residuos consecutivos sustituidos con α -D-xilosa enlazadas (1 \rightarrow 6)- al esqueleto de glucano. Cerca de la

mitad de estas unidades heptaméricas contienen extensiones de β -D-galactosa-(1 \rightarrow 2)- sobre la xilosa (más cercana al término reductor) del glucano o a la xilosa media o entre ambos residuos. Un residuo α -L-fucosa-(1 \rightarrow 2)- se añade al residuo de galactosa en la primera posición (Figura 10). La estructura y distribución molecular de estas cadenas laterales de XiG varía según la especie y tejidos vegetales (Vincken y col., 1997). La rigidez estructural y la fuerza de la pared celular depende de la integridad de la red formada por celulosa y glucanos entrelazados (Talbot y Ray, 1992).

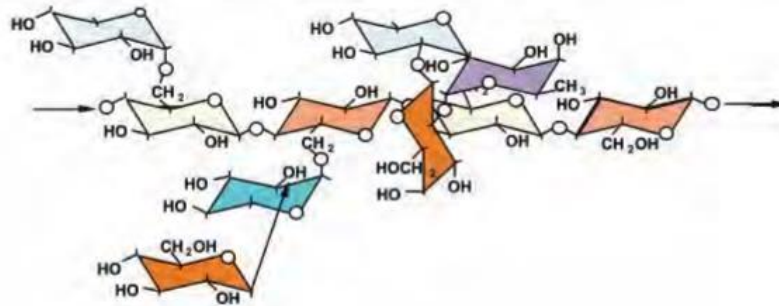


Figura 10. Estructura molecular del xiloglucano mostrando cuatro unidades de β -D-glucosa (1 \rightarrow 4) (rosa-naranja), con tres residuos consecutivos sustituidos con unidades de α -D-xilosa (1 \rightarrow 6)- (azul). Cerca de la mitad de estas unidades contienen extensiones de residuos β -D-galactosa-(1 \rightarrow 2)-L-fucosa-(1 \rightarrow 2)- (mostaza y violeta, respectivamente) añadidos a la primera posición (Capita y McCann, 2000).

La hidrólisis de XiG por α -xilosidasas y β -glucosidasas es modulada por residuos de galactosa en la xilosa del medio (De Alcántara y col., 1999; Edwards y col., 1988). Una β -galactosidasa es activa en oligómeros de XiG y remueve únicamente el residuo de galactosa del medio (Edwards y col., 1988). La galactosa del medio disminuye también durante el crecimiento y está involucrada en la partición de XiG desde un compartimiento enzimático activo a uno inactivo (Pauly y col., 1999, 2001).

Toda la dinámica de la galactosa en la planta involucra las β -galactosidasas. La familia de la glucosa-hidrolasas comprende un grupo caracterizado por su habilidad de hidrolizar residuos terminales, no reductores de β -D-galactosa de β -D-galactósidos (Henrissat, 1998).

Diversos estudios han mostrado que las β -galactosidasas catalizan la hidrólisis de residuos terminales de galactosa a partir de carbohidratos, glucoproteínas y galactolípidos. Se ha propuesto que la acción de β -galactosidasas libera energía almacenada para crecimiento rápido, galactosa disponible durante el reciclaje metabólico de galactolípidos, glucoproteínas, y componentes de la pared celular, y degrada compuestos de la pared celular durante la senescencia (Smith y Gross, 2000).

Datos fisiológicos y bioquímicos han mostrado que la galactosa es el azúcar más dinámico de la pared celular durante el desarrollo del fruto (Kim y col., 1991; Redgwell y col., 1997). Hay una pérdida neta significativa de residuos de galactosa de la pared a través del desarrollo del fruto, y la tasa de pérdida de residuos de galactosa se incrementa durante la maduración. Los niveles de galactosa libres, estables durante los estados de premaduración, se incrementan rápidamente durante la maduración (Kim y col., 1991). La infiltración de galactosa libre en frutos de tomate verde-maduros a una concentración equivalente al del estado rojo-maduro, aceleró la maduración (Gross, 1985). Aunque algunos residuos de galactosa pueden perderse indirectamente por la acción de la PG, la β -galactosidasa es la única enzima identificada en plantas superiores capaz de cortar directamente enlaces (1 \rightarrow 4)- β galactano, y debe ser responsable por la pérdida de cadenas laterales de galactano (Carey y col., 1995; Carrington y Pressey, 1996; De Veau y col., 1993; Pressey, 1983). El punto de vista de que la β -galactosidasa hidroliza residuos de galactosa de la pared celular durante la maduración se apoya en el aumento marcado en galactosa libre, producto de la actividad de la β -galactosidasa (Gross, 1984).

Las β -Galactosidasas catalizan la hidrólisis enzimática del enlace glucosídico entre dos o más carbohidratos o entre un carbohidrato y una molécula no-carbohidrato vía catálisis ácida general, la cual requiere dos residuos críticos: un donador de protones y una base nucleofílica. Esta hidrólisis ocurre vía retención completa de la configuración anomérica la maquinaria catalítica de β -galactosidasas actúa en dos pasos químicos separados, (Figura 11) glucosilación, un grupo carboxílico provee

al grupo desplazado con catálisis ácida general simultánea al ataque nucleofílico por el segundo carboxilato para formar una enzima glucosilada intermediaria (Henrissat, 1998; Pérez-Almeida y Carpita, 2006).

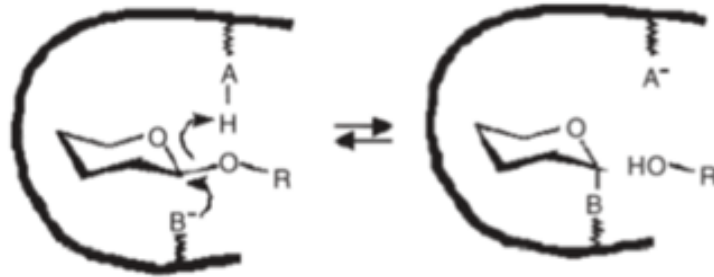


Figura 11. Diagrama de la hidrólisis del enlace glucosídico catalizada por las β -galactosidasas (Pérez-Almeida y Carpita, 2006).

La exo-(1 \rightarrow 4) β -D-galactanasa es la única enzima identificada en plantas superiores capaz de romper directamente residuos terminales de (1 \rightarrow 4) β -D-galactano y probablemente juega un rol en la pérdida de las cadenas laterales de galactano. No se ha reportado ninguna galactanasa que actúe en enlaces internos en las angiospermas (Pérez-Almeida y Carpita, 2006).

2.9. Tecnologías postcosecha en frambuesa

Con una población mundial cada vez mayor, los nuevos métodos para mejorar la disponibilidad de alimentos y reducir el desperdicio se han convertido en una prioridad. Una causa importante de pérdidas de alimentos ocurre cuando la calidad se ve comprometida debido a una manipulación ineficiente después de la cosecha, incluida la composición y el empaque inadecuados durante el almacenamiento (Terry y col., 2011). Así como la pérdida de agua, fragilidad morfológica, ablandamiento y presencia de patógenos como *Botrytis* (Vicente y col., 2007), siguen siendo problemas importantes para la comercialización de la frambuesa. Por lo tanto, una firmeza adecuada y larga la vida útil son dos rasgos clave de calidad de un genotipo de frambuesa exitoso (Jennings, 1988). Sin embargo, su nuevo suministro y el potencial de crecimiento del mercado todavía están limitados por su corta vida útil y estacionalidad.

La práctica industrial actual de la frambuesa para una vida útil más larga depende en gran medida de la cadena de frío y las condiciones de almacenamiento a alta humedad (Huynh y col., 2019).

Algunas tecnologías postcosecha han demostrado mejorar la vida útil de las frambuesas: por ejemplo la atmósfera modificada con altos niveles de CO₂ (Kader y Watkins, 2000; Ahmad-Mir y col., 2018), irradiación γ , luz UV (Wang y Meng, 2016), enfriamiento rápido de la fruta, pre-maduración, ozono y uso de recubrimientos (Gomes y col., 2017; Vieira y col., 2016) o aplicación de compuestos volátiles (Tzortzakis, 2007).

Wills y Golding (2015) trabajando con frambuesas "Grandeur" reportaron una mejor calidad sensorial general cuando se almacenaron durante 9 y 15 días bajo flujo continuo de aire con ozono a 500 μ L–L⁻¹ o una combinación de 12h de 200 μ L–L⁻¹ + 12h 50 μ L–L⁻¹. Sin embargo, las concentraciones más altas dieron como resultado puntuaciones más bajas para el sabor y olores.

Se ha reportado también que los recubrimientos comestibles a base de quitosano pueden ser promotores para mejorar la vida útil de los arándanos, frambuesas y moras. Tezotto-uliana (2014) reportó que los tratamientos pre y postcosecha de quitosano a 1 o 2% fueron eficaces en mantener: acidez titulable, respiración, producción de etileno, pérdida de peso e incidencia de descomposición de frambuesa.

Las innovadoras soluciones de empaque actúan como tratamientos complementarios para mantener atributos de calidad. El desarrollo y la aplicación de tales combinaciones tecnológicas aumenta la vida útil de la frambuesa, lo que ayuda a satisfacer la creciente demanda mundial de estos productos (Huynh y col., 2019).

2.9.1. Atmósferas controladas

La atmósfera controlada es una técnica frigorífica de conservación que se aplican en conjunto, consiste en modificar la composición gaseosa de la atmósfera en una cámara frigorífica con un control de regulación de las variables físicas del ambiente (temperatura, humedad y composición del aire). También se entiende como una

atmósfera empobrecida en oxígeno (O_2) y enriquecida en dióxido carbónico (CO_2) para la conservación de productos hortofrutícolas, en este caso, la composición del aire se ajusta de forma precisa a los requerimientos del producto envasado, manteniéndose constante durante todo el proceso (Pinto y col., 2016).

Por lo tanto, esta técnica está asociada al frío, acentúa el efecto de la refrigeración sobre la actividad vital de los tejidos, evitando ciertos problemas fisiológicos y la disminución de pérdidas por podredumbres.

Esta tecnología modifica la concentración de los gases presentes en la atmósfera, de tal manera que aprovecha su incidencia en la maduración en los alimentos, esta modificación de la concentración de gases disminuye la tasa de respiración y provoca un retraso en la descomposición. Dicho proceso permite mantener la calidad de los productos de un periodo de tiempo considerable. Además, sus características organolépticas y nutritivas se mantienen en comercializaciones en mercados distantes (Barreiro y Sandoval, 2006).

La tecnología de AC trabaja en función a la modificación de la atmósfera en donde va a ser aplicada. En el caso de conservación de alimentos, puede trabajarse a través del control de dióxido de carbono generado de la respiración de los alimentos, así como el control de la concentración de O_2 , para disminuir de la tasa de respiración; o por control de algún otro elemento inherente a la descomposición de los alimentos (como producción de Etileno) (De La Vega y col., 2017).

Se ha visto que la alta concentración de CO_2 mantiene un mejor firmeza, fenómeno que parece involucrar el Ca^{2+} retardando la actividad de enzimas degradadoras de pared celular como la pectato liasa (Wang y col., 2014).

La producción de etileno acelera la maduración de esta. Por tanto, mediante el control simultáneo de la concentración de O_2 ($\approx 2\%$) y de CO_2 ($< 15\%$), se puede controlar también la concentración del etileno. Sin embargo, este proceso debe estar constantemente monitoreado, para evitar la maduración de la fruta, que de acuerdo a Yahia (1995) debe ser menor a 3 ppm.

2.10. Efecto de las atmósferas controlada en la calidad de frambuesa

Se ha evaluado la aplicación de las AC en una gran variedad de productos entre los que se incluye la frambuesa (Forney y col., 2015; Giovanelli y Buratti, 2014; Goulart y col., 1992; Haffner y col., 2002), estos estudios demostraron la efectividad de las AC para extender la vida postcosecha de este fruto con concentraciones de O₂ (3-10%) y de CO₂(5-30%), no obstante también se ha reportado daño fisiológico y decoloración de los frutos (Barrios y col., 2014).

Sin embargo, también hay que considerar que niveles superiores a 15 KPa de CO₂ puede provocar lesiones en la frambuesa (Barrios y col., 2014).

Gonzalez-Orozco (2018) evaluó el efecto de la aplicación de dos AC para alargar la vida postcosecha en dos variedades de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) (F16 y F24); la aplicación continua de una atmósfera de 10%O₂ + 15%CO₂ mantuvo la calidad poscosecha a lo largo del almacenamiento, menor pérdida de peso (50%) y mayor firmeza (15%) en los frutos en comparación de la AC con 10% O₂ + 10% CO₂. Además, al evaluar diferentes tiempos de la exposición a AC, la exposición temprana (días de almacenamiento 1-3) a 10%O₂ + 15%CO₂ de los frutos de frambuesa incrementó la vida de anaquel sensorial hasta 16.8 días, la capacidad antioxidante y mayor luminosidad e intensidad de color a lo largo del almacenamiento, sin observar cambios en el perfil de compuestos fenólicos entre los tratamientos.

Es por ello resulta de interés evaluar los cambios bioquímicos inducidos por el tratamiento de AC como la determinación de las actividades enzimáticas de la pared celular y la posible formación o degradación de pectatos de calcio y establecer un posible mecanismo de la pérdida de firmeza de frambueso tratados con AC.

3. Hipótesis

La pérdida de firmeza de la frambuesa *R. idaeus* (cv. adelita y evita) está relacionada con altas actividades de enzimas de degradación de pared celular que inducen la pérdida de pectatos de calcio, favorece la pérdida de cohesión en la pared celular y la consecuente pérdida de firmeza de los frutos. No obstante, este

mecanismo bioquímico se ve alterado en función al alto contenido de CO₂ de las atmósferas controladas aplicadas.

4. Objetivo general

Determinar los cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan la pérdida de firmeza de frambuesa (*R. idaeus*) durante el almacenamiento en atmósferas controladas.

4.1. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las AC en los parámetros fisiológicos (tasa de respiración, producción de etileno) y de calidad postcosecha (pérdida de peso, firmeza, SST, AT, color) de frutos de frambuesa.
- Determinar el efecto de la actividad de enzimas de degradación de pared celular (pectil metil esterasa, poligalacturonasa, pectato liasa y β -galactosidasa) en la pérdida de firmeza de los frutos almacenados en AC.
- Evaluar el efecto de las AC en el contenido de pectatos de calcio, su correlación con la actividad de enzimas de degradación de la pared celular y el estado fisiológico de los frutos para establecer los cambios asociados con la firmeza de los frutos sometidos a diferentes condiciones de AC.

5. Materiales y métodos

5.1. Material biológico

El material biológico fueron frutos de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) proporcionados por la asociación nacional de exportadores de Berries (Aneberries) de la variedad “Adelita” desarrollada por las empresas Planasa (Plantas de Navarra S.A.) y cv. “Evita” proporcionada por Giddings, en el estado de Michoacán.

5.2. Equipo de AC

El equipo utilizado para el almacenamiento en atmósferas controladas. Fue de un equipo CONTROL-TEC® CAM RESEARCH de la marca TECNIDEX, Fruit Protection, S.A.U. que cuenta con cabinas estancas, con sistemas de homogeneización de la atmósfera en la cabina, con regulación de la temperatura,

humedad relativa, regulación de la concentración de gases (Aire, N₂ y CO₂), y que cuenta con el monitoreo y control de estos parámetros en tiempo real mediante una aplicación informática

El diagrama experimental (Figura 12). 1) las variedades de frambuesa cv. Adelita y Evita (R. idaeus) fueron cosechados directamente en clamshells de 170g. 2) El transporte de la fruta a las instalaciones del laboratorio de fisiología y bioquímica poscosecha de frutas y hortalizas. 3) almacenamiento de la fruta (para eliminar el calor de campo) en refrigeración previo al tratamiento durante 24 horas a 2°C. 4) tratamiento (a 0-1.5°C con humedad relativa de 90-95%) -T1(3d):10%O₂ y 15%CO₂ (por 3 días), -Control en aire. 5) se realizaron 6 muestreos después de los tratamientos con replica: 0,3,7,11, 14 y 16 días. 6) Se determino el contenido de pectatos de calcio además de la actividad enzimática (PME, PG, PL y β-Gal), así como variables de firmeza, tasa de respiración, pérdida de peso, color, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y pH.

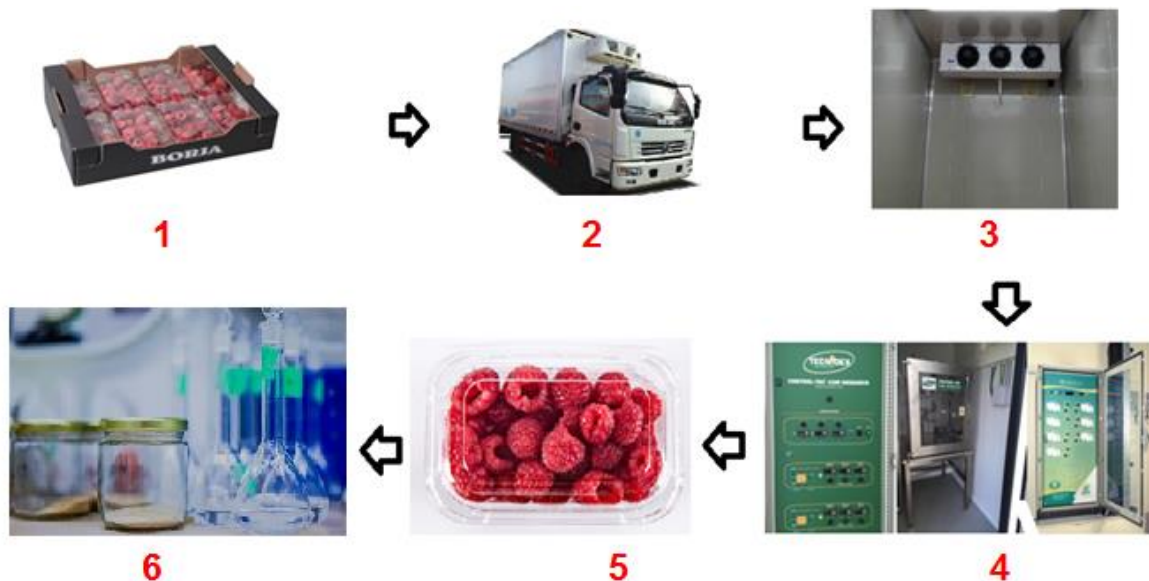


Figura 12. Estrategia experimental seguida durante el estudio.

5.3. Diseño del experimento y análisis estadístico

Para el desarrollo del estudio se utilizó un diseño unifactorial completamente aleatorizado, en donde el factor a evaluar fue el tratamiento de AC 10% O₂ y 15%CO₂ a dos niveles T1(3d): (por 3 días), por todo el almacenamiento y un control

negativo (aire), y las variables respuesta fueron la actividad de las enzimas de la pared celular, contenido de pectatos de calcio, pérdida de peso, cambio de color, así como contenido de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y grados brix en ambas variedades. El experimento se realizó por duplicado.

Para determinar diferencias entre los tratamientos, se llevó a cabo un ANOVA y se compararon las medias por la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$), utilizando los paquetes estadísticos JMP 10 y R.

5.4. Métodos de evaluación de parámetros fisiológicos y fisicoquímicos

5.4.1. Tasa de respiración y producción de etileno

La tasa de respiración y producción de etileno fue determinada a lo largo del tiempo de almacenamiento. La velocidad de respiración de los frutos se llevó a cabo mediante la cuantificación del CO₂ producido por las muestras utilizando un sistema cerrado (Kays, 1991). Para esto, clamshells de frambuesa (170 g) se colocaron en frascos de 500 mL cerrados herméticamente con una tapa acondicionada con una septa de hule látex, se mantuvieron en incubación durante 3 horas en sus respectivas condiciones de almacenamiento y transcurrido el tiempo de incubación se tomó 1 mL de gas del espacio de cabeza y se inyectó a un cromatógrafo de gases de la marca Agilent Technologies modelo 7890B acoplado a un detector de ionización de flama a 250°C. La columna utilizada fue una HP-PLOT Q con un flujo 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.

La cuantificación de CO₂ y etileno se realizó mediante el método de estándar externo usando un estándar certificado. Simultáneamente se evaluó la producción de CO₂ mediante un detector instantáneo marca Mocon modelo 0417ED584, los resultados se expresaron como mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Gonzalez-Orozco, 2018).

5.4.2. Pérdida de peso

La pérdida de peso debido a la respiración y a la transpiración de los frutos fue monitoreada durante el tiempo de almacenamiento. La pérdida de peso se calculó

como el diferencial del peso inicial menos el peso final dividido por el peso inicial por 100 (Krüger y col., 2011).

5.4.3. Color

El sistema CIE L*a*b fue utilizado para la evaluación del color, el parámetro L* define la luminosidad, por lo cual valores bajos indican colores más oscuros (0=negro) y altos valores indican colores más claros (100=blanco). Valores negativos de a* indican verde y valores positivos color rojo, mientras que valores negativos de b* indican tonos azules y valores positivos indican tonos amarillos. El ángulo hue (h*) o de matiz (color verdadero) es definido por el arco tangente de b/a, y el valor croma (C*) (saturación del color) es definido por $\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$, es cero en el centro y aumenta con la distancia respecto al centro- Altos valores del ángulo hue indican colores rojos-anaranjados y bajos valores rojos-ligeramente azulados. Se utilizó un espectrofotómetro de reflectancia Minolta Osaka-Light CM-2002, con un iluminante D65 y fue calibrado previo a su uso por un blanco estándar (Mazur y col., 2014).

5.4.4. Firmeza

La firmeza de la frambuesa se analizó por compresión mediante un analizador de textura (Brookfield CT3 25K) utilizando una sonda cilíndrica de acero inoxidable (36F) la cual comprimió la muestra a una velocidad de carga de 2 mm s.⁻¹. El fruto se colocó sobre una placa de aluminio de tal manera que el centro de la sonda tuviera su primer contacto con la muestra en el vértice del fruto. Los resultados fueron expresados como la fuerza necesaria para comprimir 20% de la altura inicial del fruto expresado en Newtons (N) (Giovanelli y Buratti, 2014).

5.4.5. Contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable

Para la medición de acidez titulable se empleó el método 942.15 de la AOAC (2005) con algunas modificaciones de Gonzalez-Orozco (2018), 5 g de frambuesa fueron homogenizados en 5 ml de agua destilada utilizando un Ultra Turrax (T 25). A dicha dilución se le midieron los sólidos solubles totales (°Brix) utilizando un refractómetro digital (A. Krüss Optronic GmbH) y el resultado fue expresado como porcentaje (%). Para la acidez titulable, una alícuota de 1 mL de la primera dilución se disolvió en 9 mL de agua destilada, la dilución se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de

8.2 ± 0.2. La acidez titulable fue expresada como porcentaje de ácido cítrico en 100 g de muestra utilizando la siguiente expresión:

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

5.5. Actividad de enzimas de degradación de pared celular

5.5.1. Obtención del extracto enzimático (PME y PG)

El extracto de enzimas se obtuvo mediante el método descrito por Carabalí y col., (2009), con ligeras modificaciones. Cinco gramos de la pulpa del fruto de guayaba se molieron en un homogenizador ULTRA-TURRAX T25 durante 1 min a 13500 rpm, con 20 mL de buffer de extracción (citrato-fosfato 0.1M, NaCl 0.1M, DTT (ditiotreitól) 1mM, pH 7). Posteriormente, se centrifugó a 10000 rpm a 4 °C durante 30 min. El sobrenadante se filtró mediante vacío y constituyó el extracto utilizado para la cuantificación de proteína y la actividad de pectinmetilesterasa y poligalacturonasa.

5.5.2. Actividad de Pectinmetilesterasa (PME)

Se preparó una mezcla de reacción con 2.5 mL de extracto enzimático y 25 mL de pectina cítrica de alto metoxilo al 1 % y NaCl 0.2 M a pH 7.0 ajustando con NaOH 0.01 N. La mezcla de reacción se incubó a 30 °C por 20 min. La actividad de la PME se determinó por cuantificación de los grupos carboxilo liberados por la PME mediante su titulación por neutralización con NaOH 0.01 M. Para lo cual, se midió el volumen de hidróxido de sodio necesario para ajustar el pH nuevamente a 7.0. Se realizaron blancos de sustrato y de extracto, en los cuales se mantuvieron las mismas condiciones de incubación y de cuantificación que en la mezcla de reacción. La unidad de actividad específica de PME fue definida como los moles de hidrógeno liberados por min por kg de proteína (Carabalí y col., 2009).

5.5.3. Actividad de la Poligalacturonasa (PG)

La cuantificación se realizó por espectrofotometría mediante el método reportado por Pires y Finardi-Filho, (2005), con algunas modificaciones. 100 µL de extracto enzimático se incubaron con 0.3 mL de ácido poligalacturónico al 0.5% v/v, durante

30 min a 37 °C. Transcurridos los 30 min, la reacción se detuvo utilizando 2 mL de buffer borato (0.1 M. pH 9) y 0.4 mL de cianocetamida al 1% v/v. Después de parar la reacción, la mezcla se homogenizó y se llevó a ebullición por 10 min. Posteriormente, se enfrió y se midió la absorbancia a 276 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 40. La liberación de unidades de ácido galacturónico se determinó con base en una curva patrón de ácido galacturónico (0 a 48 µg) y la actividad específica se expresó en unidades de ácido galacturónico liberado por kg de proteína en un minuto de reacción (mol kg⁻¹ de proteína min⁻¹).

5.5.4. Actividad de Pectato Liasa (PL)

Para determinar la actividad de la PL se realizó por el método descrito por Payasi y Sanwal (2003) con ligeras modificaciones en 50 g de pulpa se homogeneizaron en 200 ml de 0.02 M tampón de fosfato de sodio (pH 7.0) que contenía 0.02 M de cisteína, el homogenizado se centrifugó a 12,000 rpm durante 20min a 2°C. Las proteínas solubles se precipitaron mediante la adición de sulfato de amonio saturado (35%) en un baño de hielo, los sedimentos se recogieron después de centrifugar a 15,000 rpm durante 30 min para después ser disueltos en tampón fosfato de sodio 0.02M (pH 7.0) y el sobrenadante se separó como el extracto enzimático crudo y fue empleado para realizar la determinación de la actividad de la enzima.

La actividad de PL se determinó por el método descrito por (Collmer y col., 1988). La mezcla de reacción consistió en 1 ml de ácido poligalacturónico al 0,36% (p / v) en tampón Tris-HCl 0,05 M (pH 8,5), 0,6 ml de CaCl₂ 4 mM y 1 ml de enzima cruda. Las mezclas de reacción se incubaron a 37 ° C durante 30 minutos. Para el blanco, se añadió sustrato después de la incubación, y la absorbancia a 232 nm se leyó inmediatamente. Una unidad de enzima se definió como una unidad de absorbancia que aumenta por minuto a 232 nm.

5.5.5. Actividad de β-Galactosidasa (β-Gal)

Las β-galactosidasas se extrajeron de acuerdo con el método descrito por Andrew (1994). Dos gramos de tejido fresco fueron homogeneizados con 15 ml de tampón de fosfato de sodio 10 mM frío (pH 5.0) conteniendo 1% (v / v) de 2-mercaptoetanol y 5% (p / v) polivinilpirrolidona. Los homogeneizados se centrifugaron a 12,000

x g durante 20 min a 2 ° C y se consideró el sobrenadante como el extracto enzimático crudo.

La actividad de β -Gal fue analizado por el método descrito por Ranwala y col. (1992) usando *p*-nitrofenilo β -D- galactopiranosido como sustrato.

La mezcla de reacción consistió en 1 ml de sustrato 5 mM en tampón de acetato de sodio 40 mM (pH 5.0) y 1 ml de enzima. Las mezclas de reacción se incubaron a 37 ° C por 30 min. La reacción se terminó añadiendo 2 ml de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 10 mM (pH 9,2) y la absorbancia se leyó a 410 nm utilizando un espectrofotómetro Lambda 40 UVvisible (Perkin Elmer Instruments). La actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que cataliza la liberación de 1 nmol de *p*-nitrofenol por minuto a 37°C.

5.6. Determinación de pectatos de calcio

La fruta se homogenizó según Wang y col. (2014) (5 g) con 20 ml de etanol al 95 % usando un homogeneizador (Ultra-Turrax T25, IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania) a 25,000 rpm durante 1 minuto. El homogeneizado se incubó en un baño de agua en ebullición durante 20 min y se filtró a través de un miracloth (CalbioChem, LaJolla, California, EE. UU.). El residuo se transfirió a 100 ml de cloroformo: metanol (1: 1, v / v) y se agitó durante 30 minutos. Posteriormente, el residuo se enjuagó con 100 ml de etanol al 80 % y acetona al 100 % antes de secar a 25 °C. Para el ensayo de calcio unido a la pared celular, se calcinaron 10 mg de pared celular en una mufla (Dongyang Science Co., Corea) a 600 °C durante 8 h. Después de la calcinación, las cenizas se disolvieron con 10 ml de HCl 0,1 N. El calcio unido de la pared celular se cuantificó mediante un espectrómetro de absorción atómica (AA-7000, Shimadzu, Japón).

6. Resultados y discusión

6.1. Parámetros fisicoquímicos y fisiológicos

6.1.1. Tasa de respiración

Debido a la alta perecibilidad de la frambuesa uno de los objetivos del manejo postcosecha es disminuir la tasa de respiración con bajas temperaturas en combinación con atmósferas controladas (altos niveles CO_2 y bajos de O_2) en las cámaras de almacenamiento para asegurar una óptima calidad de fruto al momento de su consumo (Jin y col., 2012; González-Orozco y col., 2018). Como lo reporta Haffner y col. (2002) para 5 variedades de frambuesa roja almacenadas en AC ($10\%\text{O}_2 + 15\%\text{CO}_2$) por 7 días donde las AC disminuyeron su tasa de respiración en comparación con la fruta almacenada en aire.

En el presente trabajo, para el tratamiento de AC por tres días T1(3d) en ambas variedades no se observaron diferencias significativas en la tasa de respiración respecto al control en aire (Tabla 5), no obstante la fruta sometida a AC tendió a mostrar una menor tasa. Este fenómeno fue más marcado una vez que se hizo la transferencia de AC a aire y a medida que avanza el almacenamiento en aire la fruta tiende a estabilizarse hasta un valor más cercano a el control, lo que concuerda con lo ya reportado en frambuesa por Haffner y col. (2002), en donde la fruta con AC tuvo menor tasa de respiración respecto al control en aire (4.93 y 5.89 $\text{mmol CO}_2/\text{kg}$ por h, respectivamente). Según lo reportado por González-Orozco y col. (2018) en la variedad Adelita el tratamiento temprano de 1-3DA presentó su mayor tasa de respiración inmediatamente después del tratamiento en el día 3 con 26 $\text{mL CO}_2/\text{Kg-h}$ respecto al control en aire 6.8 $\text{mL CO}_2/\text{Kg-h}$ y al finalizar el almacenamiento (día 14) el tratamiento temprano fue diferente al control en aire presentando una menor tasa de respiración (14.8 y 17.5 $\text{mL CO}_2/\text{Kg-h}$, respectivamente). Mientras que Ledesma-Valladolid, (2019) reporto en zarzamora sometida a AC ($10\%\text{O}_2 + 15\%\text{CO}_2$) por 3 y 7 días a 1°C , una menor tasa de respiración que el control en aire (5.49, 3.42 y 8.79 $\text{mL CO}_2/\text{Kg-h}$, respectivamente a los 3 días) lo que concuerda con lo reportado en el presente trabajo.

La variación de resultados puede deberse a las diferencias en las variedades de frambuesa evaluadas, así como al estado de madurez de los frutos en el momento del estudio, ya que a pesar de que se tomaron frutos cosechados de acuerdo a los estándares de comercialización, puede haber diferencias en el estado de madurez.

Tabla 5. Cambios en la tasa de respiración y producción de etileno de los frutos de frambuesa roja cv. Adelita y cv. Evita almacenados en AC por 3 días T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

Color	Día	Tratamiento	Variedad		
			Adelita	Evita	
Tasa de respiración (mL CO ₂ /Kg-h)	0	Aire	161.74±12.24 ^{bcdA}	187.40±23.70 ^{aA}	
	7	Aire	204.51±12.24 ^{bA}	223.46±23.70 ^{aA}	
		T1(3d)	106.74±12.24 ^{dA}	136.88±23.70 ^{abA}	
	11	Aire	202.07±12.24 ^{bcA}	226.72±23.70 ^{aA}	
		T1(3d)	143.40±12.24 ^{cdA}	219.38±23.70 ^{aA}	
	16	Aire	301.07±12.24 ^{aA}	116.72±23.70 ^{aA}	
		T1(3d)	269.29±12.24 ^{aA}	122.22±23.70 ^{aA}	
	Producción de etileno (ppm/kg*h)	0	Aire	553.33±82.33 ^{bcA}	ND
		7	Aire	449.46±82.33 ^{bcA}	905.06±187.50 ^{abA}
			T1(3d)	626.65±82.33 ^{bA}	881.22±187.50 ^{abA}
11		Aire	742.33±82.33 ^{bA}	804.40±187.50 ^{abA}	
		T1(3d)	1210.74±82.33 ^{aA}	1042.82±187.50 ^{aA}	
16		Aire	ND	432.31±187.50 ^{abA}	
		T1(3d)	ND	730.37±187.50 ^{abA}	

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias estadísticas significativas entre variedades y tratamientos respectivamente de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), los datos no cuantificables se representan (ND).

En la producción de etileno tampoco se observó un efecto ($p \leq 0.05$) entre las diferentes variedades lo cual nos indica que la producción de etileno no se ve afectada por la aplicación de AC (10%O₂ y 15%CO₂) (Tabla 5). En cv. Adelita encontramos que hubo diferencia estadística en el día 11 encontrando mayor producción de etileno en el tratamiento T1(3d) con respecto al control en aire (1210.10 y 742.33 ppm/kg*h, respectivamente), mientras que para cv. Evita no se observó efecto significativo alguno entre los días de almacenamiento, lo cual

concuenda con lo reportado por Tian, Hewett y Lill (1994) quienes evaluaron el efecto del dióxido de carbono en enzimas formadoras de etileno en pera en donde observaron que en este fruto la producción de etileno con 20% CO₂ durante el almacenamiento fue similar al control en aire a los 35 días (23.9 y 22.2 nl C₂H₄ g⁻¹ h⁻¹, respectivamente).

6.1.2. Pérdida de peso

Independientemente de la variedad de frambuesa evaluada, al día 16 de almacenamiento, se observó menor pérdida de peso en las muestras sometidas a AC en comparación con los frutos control (almacenados en aire); esto demuestra que el tratamiento de AC es efectivo para retrasar la pérdida de peso en frambuesa (Figura 13). Con el tratamiento T1(3d) la variedad 'Adelita' disminuyó su pérdida de peso en casi el 50% en comparación a lo que presentó el control, mientras que la variedad 'Evita' redujo su pérdida de peso en solo 14.2% respecto a los frutos almacenados en aire. Estos datos señalan que las AC disminuyen la pérdida de peso, pero este efecto fue diferencial en función de la variedad sometida al proceso.

La pérdida de peso generalmente se correlaciona con la tasa de respiración y a la transpiración de los frutos. Uno de los principales propósitos de las AC es disminuir la pérdida de peso, ya que así se mantiene la turgencia y calidad de los frutos (Haffner y col., 2002; Eun-Ha y col., 2017; González-Orozco y col., 2018).

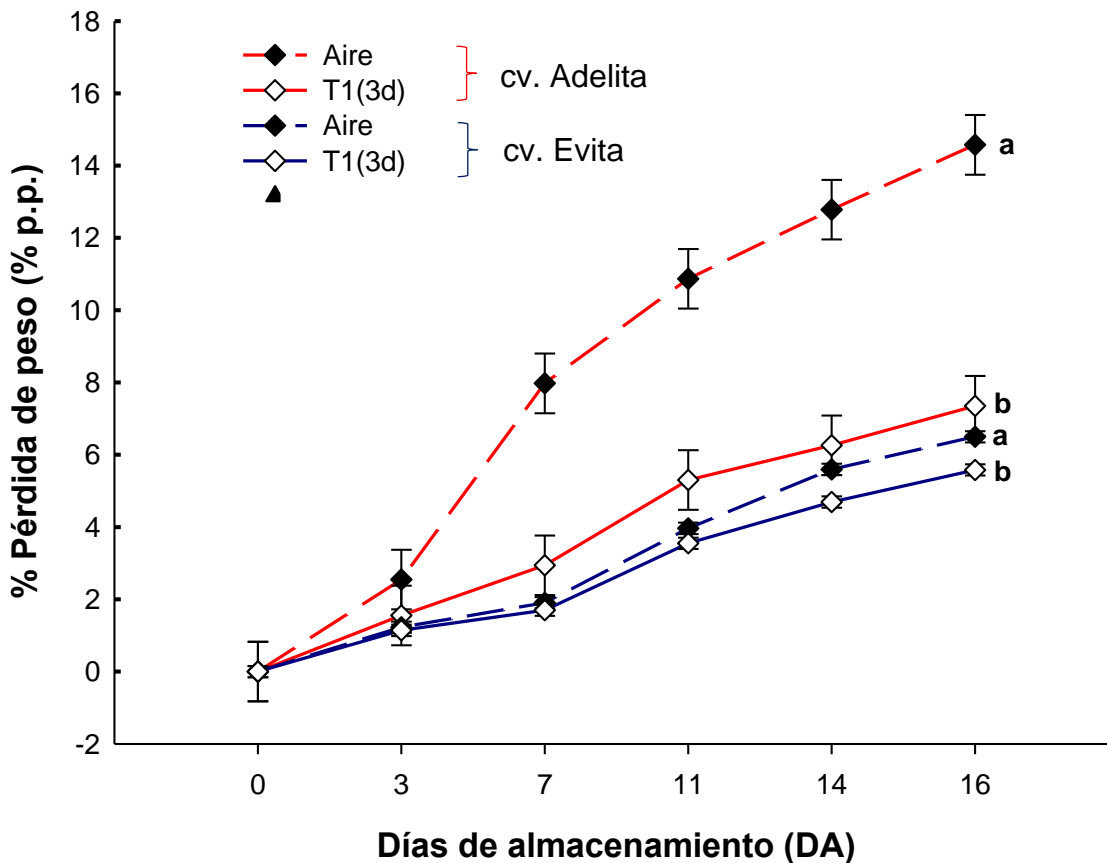


Figura 13. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa cv. Adelita y Evita almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

Esta pérdida de peso observada independiente del tratamiento se podría atribuir a la tasa de respiración; sin embargo, en este estudio, no se observó una correlación de este tipo, ya que no hubo diferencia significativa entre días y tratamientos en la tasa de respiración por tanto la menor pérdida de peso no se debe completamente a la respiración. De acuerdo con Alba-Jiménez y col. (2018) una posible explicación de una menor pérdida de peso podría deberse a que el calcio puede retrasar la velocidad de respiración y disminuir la pérdida de agua por transpiración, lo cual ayudaría a mantener al producto con mejores características sensoriales como una mejor apariencia, mejor elasticidad, crujencia o turgencia. Por su parte Krüger y col. (2011) indicaron pérdidas de peso del 7.2% en frutos almacenados en aire 3 días con temperatura de 2-4°C a HR de 95% más 1 día a 20°C. Sin embargo, González-

Orozco y col. (2020) reportaron que para frambuesa roja (*R. idaeus L.*) la pérdida de peso de los frutos almacenados en aire con refrigeración por 14 días fue 12.6%, mientras que para los frutos almacenados con AC por 3 días más 11 días en aire con refrigeración fue 12.1%, esta gran variación en resultados puede deberse a diferencias en las variedades de frambuesa evaluadas, al estado de madurez de los frutos en el momento del estudio, así como a las condiciones cambiantes de temperatura (0.5-2.5°C) y HR (80-90%) durante el almacenamiento.

6.1.3. Color

La comparación de los parámetros de color entre variedades mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$). La variedad 'Adelita' mostró valores de color significativamente más altos que la variedad 'Evita' (Tabla 6). La luminosidad (L^*) en ambas variedades al final del almacenamiento no mostró diferencias significativas respecto al tratamiento y los días de almacenamiento, lo cual concuerda con lo reportado por González-Orozco y col., (2018). En los demás parámetros de color (a^* , b^* , hue y C) que se evaluaron en la variedad Adelita no se observaron diferencias por efecto de los tratamientos (AC y control) y días de almacenamiento (16d).

Tabla 6. Cambios en el color objetivo (L^* , a^* , b^* , hue y C) de los frutos de frambuesa roja cv. Adelita y cv. Evita almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

Color	Día	Tratamiento	Variedad	
			Adelita	Evita
L^*	0	Aire	34.16±0.64 ^{aA}	30.68±0.43 ^{aB}
	16	Aire	26.99±0.64 ^{dA}	26.26±0.43 ^{deB}
		T1(3d)	27.52±0.64 ^{cdA}	25.88±0.43 ^{eB}
a^*	0	Aire	24.49±0.85 ^{abcdA}	30.40±0.55 ^{aB}
	16	Aire	27.65±0.85 ^{abA}	21.51±0.55 ^{cB}
		T1(3d)	26.06±0.85 ^{abcA}	20.92±0.55 ^{cB}
b^*	0	Aire	12.43±0.71 ^{abcA}	15.38±0.40 ^{aB}
	16	Aire	14.43±0.71 ^{aA}	9.15±0.40 ^{cdB}
		T1(3d)	13.28±0.71 ^{abA}	8.85±0.40 ^{cdB}
hue	0	Aire	26.29±0.65 ^{abA}	26.71±0.39 ^{aB}
	16	Aire	27.23±0.65 ^{aA}	22.85±0.39 ^{cB}

		T1(3d)	26.46±0.65 ^{abA}	22.85±0.39 ^{cB}
C	0	Aire	27.50±1.07 ^{abcA}	34.08±0.66 ^{aB}
	16	Aire	31.22±1.07 ^{aA}	23.40±0.66 ^{cB}
		T1(3d)	29.29±1.07 ^{abA}	22.73±0.66 ^{cB}

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias estadísticas significativas entre variedades y tratamientos respectivamente de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Según lo reportado por Haffner y col., (2002) para 5 variedades de frambuesa roja almacenadas en AC (10%O₂ + 15% CO₂) por 7 días, la luminosidad (L*) de los frutos fue mayor después del almacenamiento en AC con respecto al control y los valores fueron similares a los que presentaron los frutos al inicio del almacenamiento. Además, reportaron que al incrementar el tiempo de exposición se logra disminuir el incremento en a* respecto al tratamiento control a través de la implementación de AC, lo cual indicaría una mayor preservación de las características deseadas en la frambuesa. Por otro lado, la fruta control en conjunto con lo observado en los parámetros L y b* muestran una clara y progresiva disminución de la calidad de los frutos produciéndose coloraciones rojas opacas las cuales son características de frutos senescentes y de poca calidad.

Se sabe que el color está estrechamente relacionado con la concentración y composición de antocianinas en la fruta. Palonen y Weber (2019) examinaron la relación entre la producción de etileno, la estabilidad del color, el contenido de antocianinas, la calidad postcosecha y la vida útil en cinco genotipos de frambuesa durante el almacenamiento a 1 °C y 7°C, en donde observaron una respuesta de la síntesis de antocianinas a la temperatura, ya que el aumento promedio de antocianinas en todos los genotipos fue de 45% a 1° C y del 80% a 7°C durante 8 días de almacenamiento. Es decir, la temperatura juega un papel importante en la calidad de fruto, al pasar la coloración de la fruta de roja brillante a roja oscura. Sin embargo, (Kalt y col., 1999) argumentan que la disminución de los ácidos orgánicos juega un papel importante en el aumento de las antocianinas durante el almacenamiento y puede proporcionar esqueletos de carbono para la síntesis de los compuestos fenólicos tales como las antocianinas. Por otro lado, se ha demostrado que la falta de cutícula protectora y una tasa de respiración alta de la

fruta conduce a una rápida pérdida de humedad después de la cosecha (Mackenzie, 1979; Perkins-Veazie, 2013). Krüger y col. (2011) afirman que el aumento de antocianinas se debe a la considerable pérdida de peso de las bayas durante el almacenamiento, lo anterior podría explicar el cambio de color en el fruto observado en el presente estudio.

6.1.4. Firmeza

Los cambios de firmeza en las dos variedades estudiadas indicaron que, durante todo el almacenamiento, la variedad 'Adelita' tuvo valores de firmeza significativamente mayores que la variedad 'Evita' (Figura 14). Dentro de este comportamiento varietal, la aplicación de AC por tres días incrementó los valores de firmeza significativamente respecto de los frutos almacenados en aire.

Lo anterior, difiere con lo previamente reportado por González-Orozco y col. (2018) para frambuesa roja de la cv. Adelita almacenada en AC (15% CO₂ + 10% O₂) en donde se sometió a diferentes tiempos de exposición temprano (1-3 DA), intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C, reportando que el tratamiento temprano de 3DA en AC más 11 días en refrigeración no resultó diferente al control en aire en la pérdida de firmeza durante el almacenamiento con respecto al día 0. No obstante, el tratamiento continuo presentó los valores de firmeza más altos incluso observándose un incremento en la firmeza en el día 14 (4.9 N) con respecto al día 0 (2.4 N). Por otra parte, Haffner y col. (2002) almacenaron frambuesa por 7 días en una AC con la misma concentración de gases que la utilizada en el presente trabajo, encontrando que la firmeza no presentó cambios respecto al control. Sin embargo, podemos decir que tratamiento T1(3d) independientemente de la variedad tiene un efecto significativo, lo cual indica que es suficiente almacenar los frutos durante 3 días para tener el impacto deseado en la firmeza.

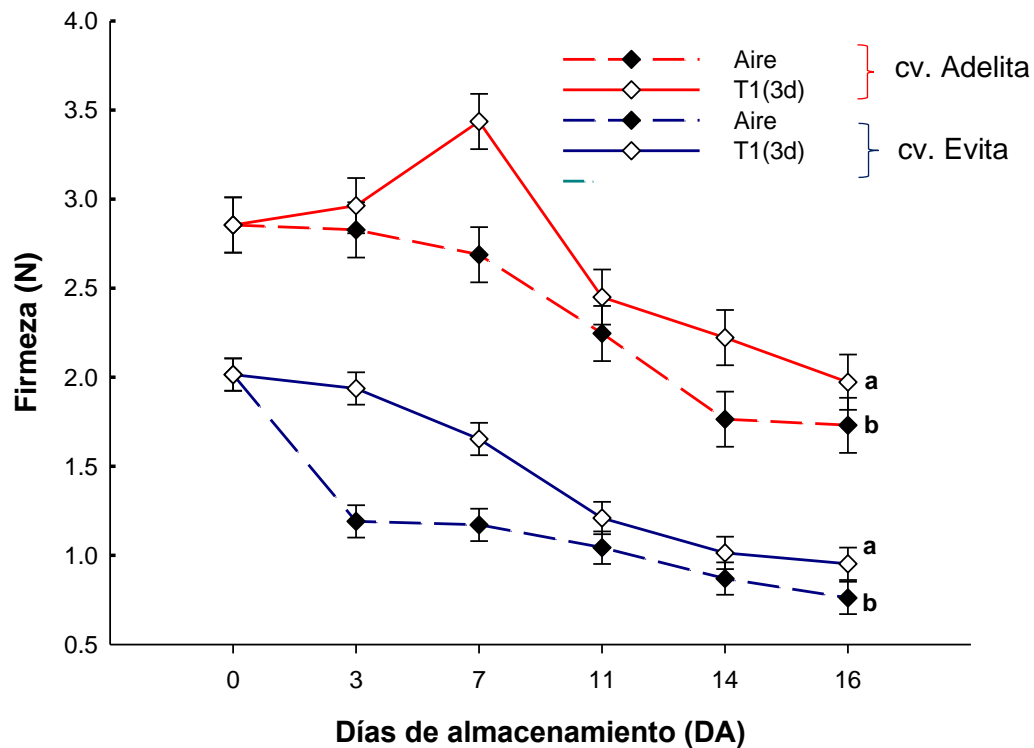


Figura 14. Firmeza (N) de frutos de frambuesa cv. Adelita y Evita almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

La pérdida de la firmeza en los frutos se relaciona principalmente con la pérdida de peso. Sin embargo, en este estudio, encontramos que la fruta sometida a AC presenta una menor pérdida de peso respecto al control en aire, mientras que se mantiene la firmeza e incluso aumenta, lo cual no podemos atribuir completamente a la pérdida de peso por tanto se puede atribuir a degradación de la pared celular (Figura 15).

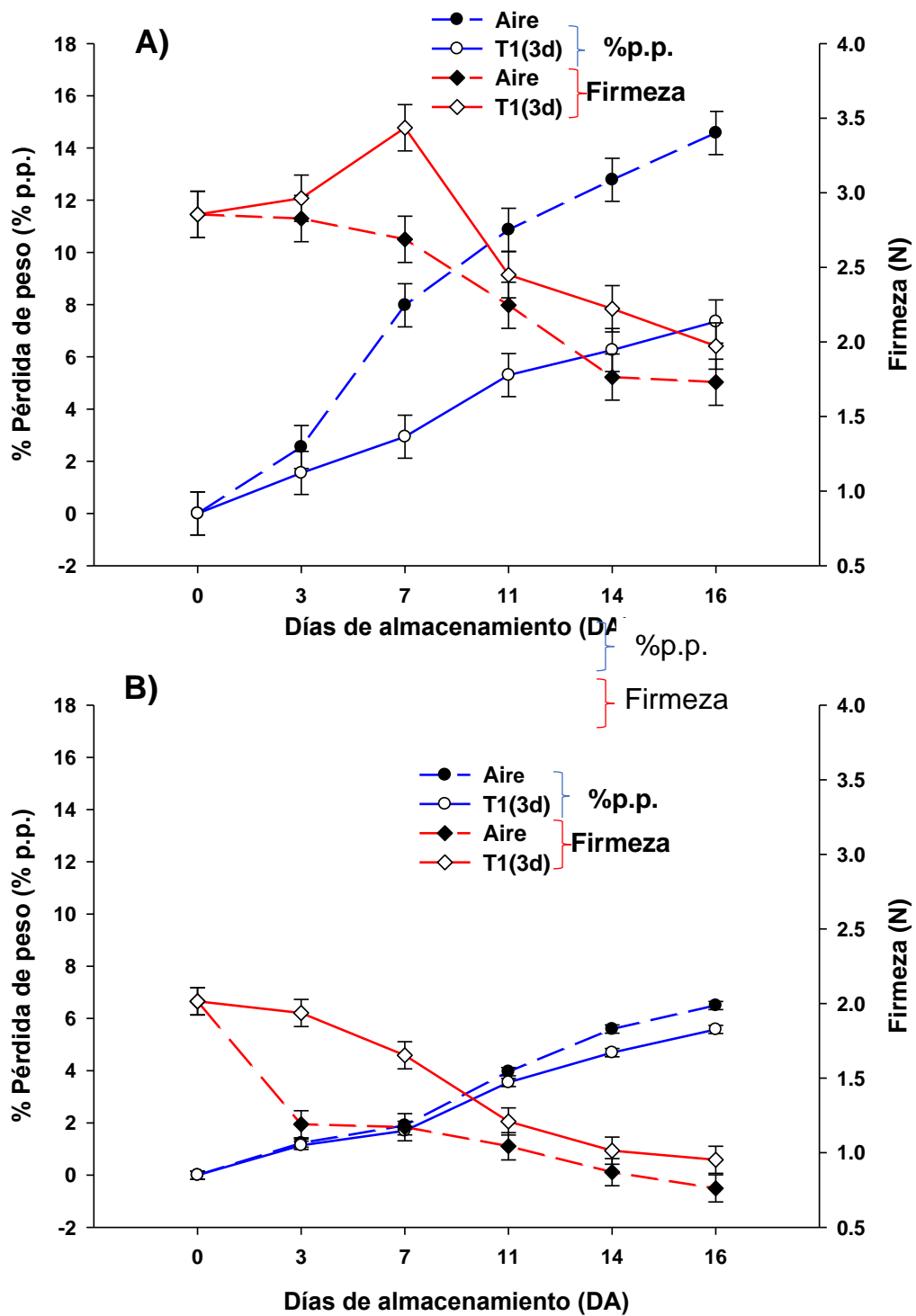


Figura 15. Firmeza (N) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

Hwang y col. (2012), indicaron que en fresas almacenadas en AC mostró un incremento transitorio en la firmeza del fruto, sugiriendo que en frutos expuestos a altas concentraciones de CO₂, este comportamiento puede estar relacionado con cambios de pH en el apoplasto que induce la adhesión célula-célula por un aumento de la retención de calcio celular. Esto puede favorecer la formación de pectatos de calcio en la pared celular (Harker y col. 2000), estos datos parecen sugerir que los frutos de frambuesa almacenados en AC debieran tener un mayor contenido de pectatos que favorecerían el manetnimiento de la firmeza

6.1.5. Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH

En la tabla 7 se muestran los resultados de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y pH, donde se observan diferencias significativas entre variedades para cada parámetro evaluado.

Al final del almacenamiento, frutos de la cv. Adelita del tratamiento T1(3d) presentaron mayor contenido SST que el control (10.67 °Bx y 8.59 °Bx, respectivamente), sin embargo, con respecto al día cero, los SST del control disminuyeron, lo cual sugiere que estos últimos presentaron un estado de senescencia más avanzado que los sometidos a AC. Estos resultados concuerdan con lo reportado por González-Orozco y col. (2018) para frambuesa cv. Adelita con exposición en AC entre los días 1 y 3 días mostrando un ligero incremento en SST en comparación al control (6.7°Bx y 6.1°Bx). En cuanto a la AT, ésta tendió a disminuir con la madurez del fruto. Lo cual fue confirmado en el presente estudio, donde la AT de las cv. Adelita y Evita disminuyeron durante el almacenamiento en ambas condiciones AC y control, mientras que no hubo efecto del tratamiento de AC. Estos resultados concuerdan con lo reportado con González-Orozco y col. (2018) e indican que el contenido de ácidos orgánicos está influenciado por la variedad y el estado de madurez de los frutos.

Tabla 7. Cambios en SST, AT y °Brix de los frutos de frambuesa roja cv. Adelita y cv. Evita almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

Color	Día	Tratamiento	Variedad	
			Adelita	Evita

SST (°Brix)	0	Aire	9.20±0.44 ^{aB}	10.55±0.45 ^{abcA}
	16	Aire	8.59±0.44 ^{aB}	11.81±0.45 ^{aA}
		T1(3d)	10.67±0.44 ^{aB}	11.38±0.45 ^{abA}
AT (%ácido cítrico)	0	Aire	0.20±0.006 ^{aB}	0.65±0.03 ^{abA}
	16	Aire	0.15±0.006 ^{cdB}	0.48±0.03 ^{cdeA}
		T1(3d)	0.14±0.006 ^{dB}	0.49±0.03 ^{cdeA}
pH	0	Aire	3.03±0.01 ^{cdB}	3.12±0.03 ^{efA}
	16	Aire	3.18±0.01 ^{aB}	3.50±0.03 ^{bcA}
		T1(3d)	3.04±0.01 ^{cdB}	3.49±0.03 ^{bcA}

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias estadísticas significativas entre variedades y tratamientos respectivamente de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Se observaron diferencias en el pH de los frutos de ambas variedades durante el almacenamiento tanto en AC como en frutos control. El pH en cv. Adelita fue mayor en frutos control después de los 16 DA en comparación con los de AC (3.18 y 3.04 respectivamente), mientras que para la cv. Adelita no se observó diferencia entre tratamientos al final del almacenamiento, lo cual concuerda con lo observado en acidez titulable. Hwang y col. (2012) reportaron que al someter fresas a una atmósfera enriquecida con CO₂, el pH intracelular disminuyó, argumentando que probablemente se deba a la disolución del CO₂ en el fruto y ésta acidificación ejerce cambios en los polímeros pécticos y como consecuencia se logra mantener la firmeza de los frutos. Este fenómeno podría explicar lo encontrado en el presente trabajo, donde se mantuvo e incluso se aumentó la firmeza de los frutos de frambuesa con la AC. Por otro lado, Haffner y col. (2002) reportaron que el almacenamiento en AC (10%O₂ + 15%CO₂) no provocó cambios en la SST, AT y pH de los frutos después del almacenamiento por 7 días. De igual manera, los pocos cambios en SST, AT y pH encontrados pueden asociarse a la variabilidad en el estado de madurez inicial de los frutos.

6.2. Efectos de las AC en la actividad enzimática de pared celular

6.2.1. Actividad de PME

La enzima PME hidroliza el enlace éster de las pectinas generando metanol, y el C-6 presente en los residuos de ácido galacturónico de las pectinas se transforma en un grupo carboxilo. La disociación de este grupo carboxilo genera protones que producen un descenso en el pH del medio de reacción, lo cual nos indica una mayor degradación de las pectinas (Guillermo, 2007).

Al inicio del almacenamiento, la actividad de PME en la variedad 'Adelita' fue significativamente mayor que la observada en la variedad 'Evita' (Figuras 16 A y B), en los tres primeros días de almacenamiento, se observó una notable disminución de la actividad en ambas variedades y a partir del día 7 las actividades se elevan en las muestras tratadas con aire y mantuvo valores significativamente mayores que las muestras tratadas con AC. Estos datos parecen indicar que bajo el efecto de las AC aplicadas en los 3 primeros días, la actividad de esta enzima se reduce notablemente y se vuelve a elevar al transferir los frutos a una atmósfera con aire, lo cual indica que la desmetilación de las pectinas es disminuida por la acción de AC y por tanto la generación de sustrato para acción de la poligalaturonasa se ve reducido en esta condición. Esta aseveración señala que la degradación de las pectinas, por estas enzimas se ve disminuida por la acción de la AC y probablemente la formación de pectatos de calcio no se vea favorecida o se encuentren en menor concentración.

Por otro lado, bajo una atmósfera de aire y después de 7 días de almacenamiento, la actividad de PME fue mayor (especialmente en la variedad 'Evita'), lo cual señala que en esta condición hubo una mayor desmetilación de la pectina, una mayor formación de grupos carboxilo y por tanto un mejor sustrato para la poligalacturonasa y mayores posibilidades de formación de pectatos de calcio.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) hacia el final del almacenamiento entre tratamientos en la cv. Adelita (Figura 16, A), lo cual nos indica que la actividad de dicha enzima no se ve afectada por la aplicación de AC esto es cierto en 'Adelita' pero no en 'Evita'. Estos datos muestran una variabilidad

de resultados entre variedades como también se ha demostrado en otros frutos; Ledesma-Valladolid, (2019) trabajando con zarzamora ‘Tupy’ no observaron un efecto de la aplicación de AC (10%O₂ y 15%CO₂) por 3 y 7 días de almacenamiento respecto de los frutos almacenados en aire. Hwang y col. (2012), por su parte reportaron que los cambios de firmeza en fresa por el tratamiento con alto CO₂ no influyeron en la actividad de la PME. Sin embargo, en la cv. Evita se observó una menor actividad inicial de PME, así como una disminución de la misma con el tratamiento T1(3d) respecto a el control en aire (Figura 16, B) después del día 14, lo cual podría asociarse a un estado avanzado de senescencia en los frutos control.

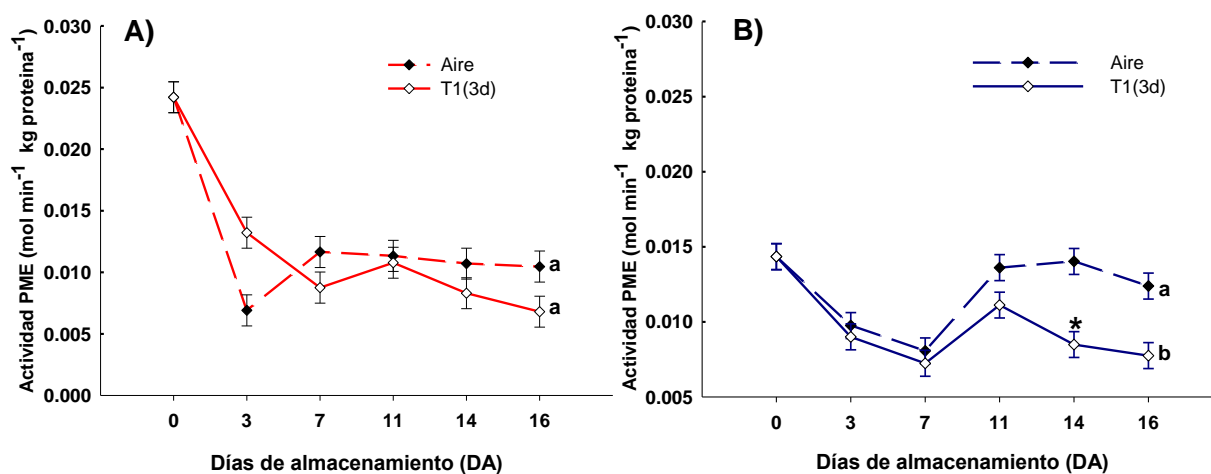


Figura 16. Cambios en la actividad específica de PME (mol min⁻¹ Kg proteína⁻¹) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

6.2.2. Actividad de PG

Las actividades de esta enzima fueron significativamente mayores en la variedad ‘Adelita’ y notablemente menores en la variedad ‘Evita’ (Figura 17). El efecto de las AC en la actividad de esta enzima también fue influenciado por la variedad y del tiempo de almacenamiento. Los frutos de la variedad ‘Adelita’ almacenados en aire y dentro de los 7 y 11 días de almacenamiento tuvieron una mayor actividad que los frutos almacenados en AC. Por su parte, la variedad ‘Evita’ no mostró efectos del tipo de atmósfera aplicado en la actividad de esta enzima.

La mayor actividad de PME, en la atmósfera de aire, soportaría la idea que se podría tener sustratos para la enzima PG y con ello explicar la pérdida de firmeza mostrada por esos frutos. Este esquema parece ser observado en la variedad 'Adelita' pero no tan claramente en la variedad 'Evita'. Estos datos sugieren que la pérdida de firmeza en los frutos almacenados en aire parece ser explicada parcialmente por la actividad de esta enzima. A su vez, la menor actividad de PG observada en los frutos de la variedad 'Adelita' almacenados con AC parece explicar la retención de firmeza de esas muestras. No obstante, los datos de la variedad 'Evita' no soportan claramente la misma idea.

Los resultados mostraron que después del almacenamiento (16d) del fruto, en la actividad de PG no se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el tratamiento y el control para ambas variedades Adelita y Evita) (Figura 17). El comportamiento de la actividad de PG durante los días de almacenamiento es transitorio mostrando mayores niveles en la actividad conforme se incrementaron los días de almacenamiento (Anexo 1). De igual manera, se observó menor actividad en el día 3 y 7 en la fruta tratada con AC respecto al control en aire, tanto en cv. Adelita como cv. Evita, observando una relación de los resultados con la evaluación de firmeza, teniendo una menor firmeza en el control y valores más altos en la actividad de la PG. Lo que concuerda con lo reportado por Ledesma-Valladolid, (2019) en zarzamora, donde observaron que a una mayor exposición de AC en frutos almacenados 3 y 7 días a 1°C se tiene una menor actividad enzimática respecto al control.

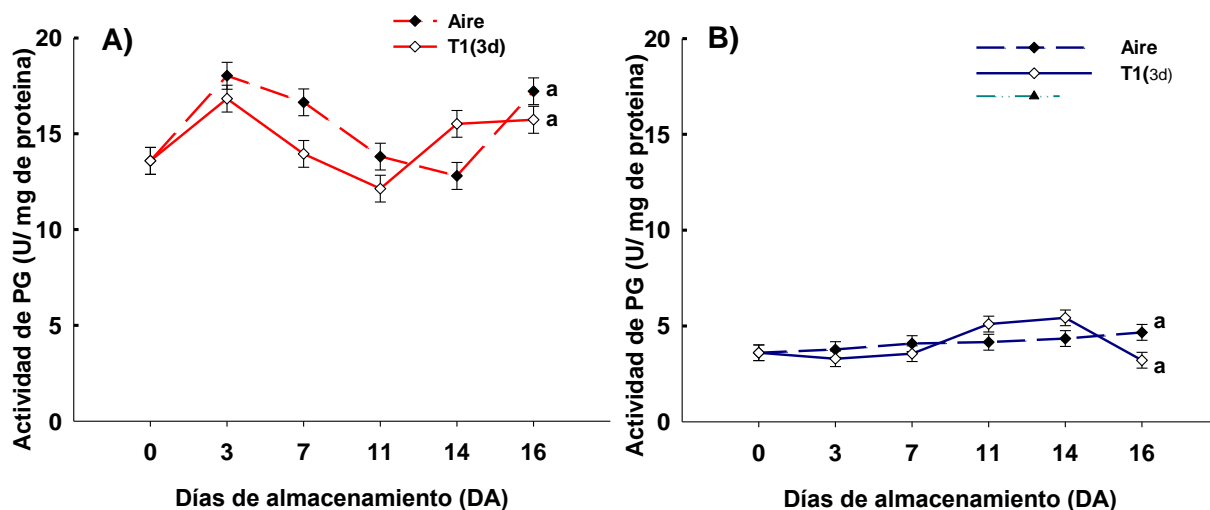


Figura 17. Cambios en la actividad específica de PG ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C .

6.2.3. Actividad de PL

Las actividades de esta enzima fueron mayores ($p \leq 0.05$) en la variedad 'Adelita' y menores en la variedad 'Evita' (Figura 18 A y B). El efecto de las AC en la actividad enzimática fue influenciado por variedad y el tiempo de almacenamiento a los días 3 y 7 se observó un incremento en la actividad de ambas variedades siendo aún más elevado en aire. Estos datos parecen indicar que bajo el efecto de las AC aplicadas en los 3 primeros días, la actividad de esta enzima se reduce, para cambiar en el transcurso de los días de almacenamiento con una atmósfera con aire, lo cual indica que la desmetilación de las pectinas debido a la PME es disminuida por la acción de AC y por tanto la generación de sustrato (HG) para acción de la poligalacturonasa y la pectato liasa se ve reducido en esta condición. Esto señala que la disminución de actividad de PL de fruta tratada con AC probablemente la formación de pectatos de calcio no se vea favorecida o se encuentren en menor concentración. Es decir, la menor actividad de PME con AC, soporta la idea de una menor actividad de la PL y con cuerda con lo ya mencionado de un aumento o mantenimiento de firmeza mostrada por esos frutos.

Por su parte Wang y col. (2014) quienes evaluaron enzimas de degradación de pared celular como PL, en rodajas de fresas tratadas con CO₂ a alta presión, observando que la actividad de PL a la baja se puede deber al ácido carbónico el cual podría formarse mediante un tratamiento con CO₂ a alta presión en los apoplastos de la fruta, ya que puede formar protones que afecta al menos en parte la actividad de PL al ser una enzima alcalina. Así la regulación a la baja de PL puede contribuir con el mantenimiento de la firmeza y ralentizar el proceso de ablandamiento, obteniéndose frutos con una mayor resistencia a la prueba de compresión (Figura 14).

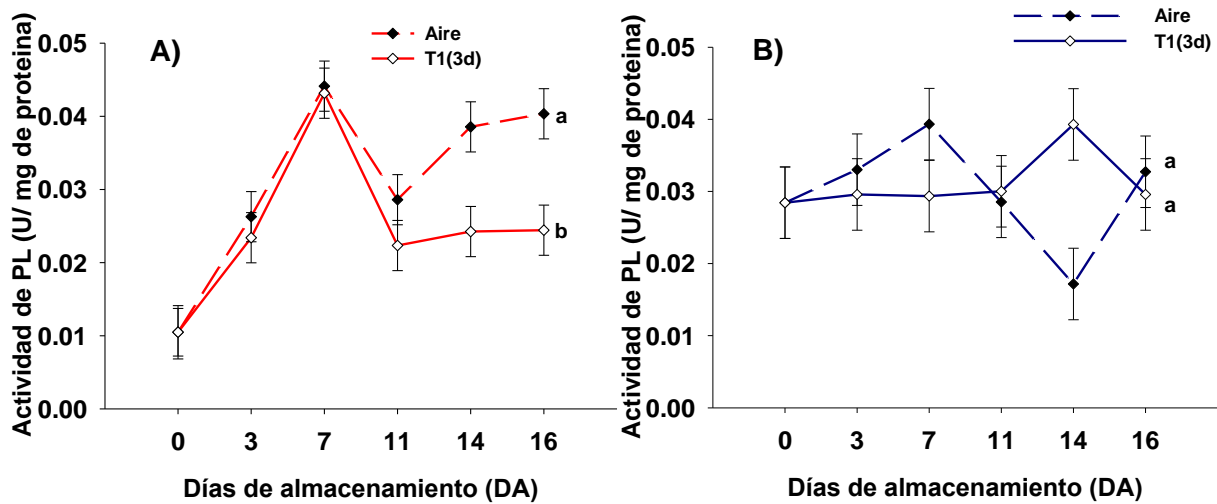


Figura 18. Cambios en la actividad específica de PL ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

6.2.4. Actividad β -Gal

Los cambios en actividad de esta enzima fueron estadísticamente significativos ($p \leq 0.05$) en ambas variedades (Figura 18 A y B). El efecto de las AC en la actividad enzimática fue influido por variedad y prácticamente en todo el tiempo de almacenamiento de la fruta se observó un incremento en la actividad de ambas variedades siendo aún más elevado en aire.

Estos datos parecen indicar que bajo el efecto de las AC aplicadas en los 3 primeros días de almacenamiento, se observó un aumento constante de la actividad en ambas variedades, las actividades se elevan más en las muestras tratadas con aire

y mantuvo valores significativamente mayores que las muestras tratadas con AC. Los datos indican que bajo el efecto de las AC se disminuye la actividad respecto a las muestras tratadas con aire, lo cual sugiere la degradación de los galactanos y ramnogalacturonanos y da soporte a la idea de que esta enzima pudiera estar involucrada en la pérdida de firmeza de los frutos, por tanto, la galactosa libre acelera la maduración del fruto.

Wang y col. (2014) en donde investigaron enzimas degradantes de pared celular como β -Gal, en rodajas de fresas tratadas con CO₂ a alta presión se reporta que la β -Gal no se vio afectada por el tratamiento con alta presión a CO₂ lo que difiere con lo encontrado en el presente trabajo; sin embargo, el tratamiento difiere a la composición empleada como AC en este estudio.

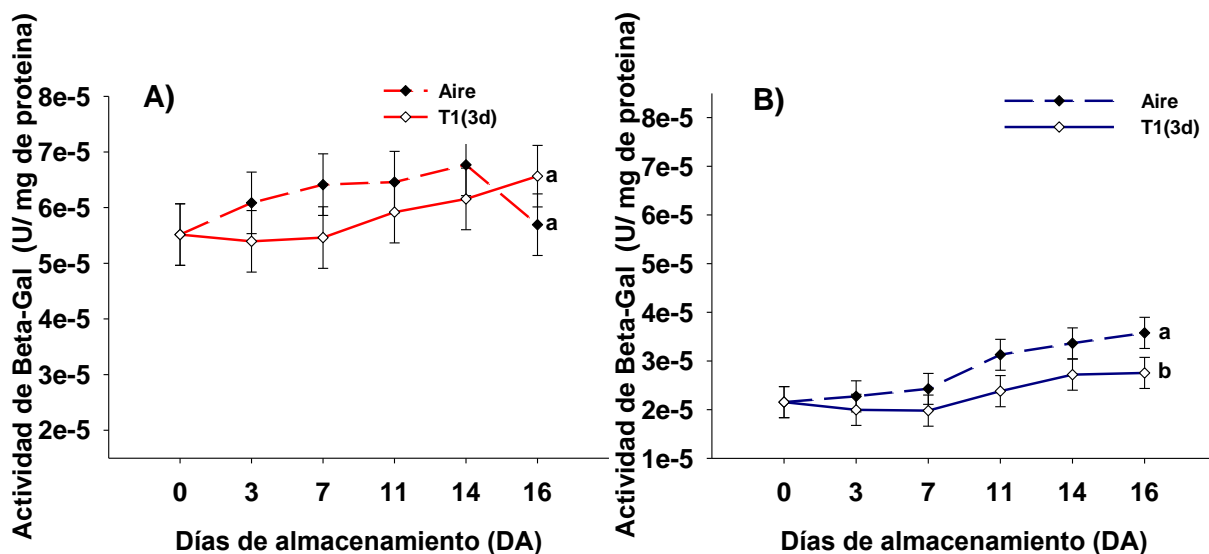


Figura 19. Cambios en la actividad específica de β -Gal ($\text{mol min}^{-1} \text{Kg proteína}^{-1}$) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC T1(3d) y aire (16d) a 1°C.

6.3. Determinación de pectatos de calcio

En el estudio de la participación del calcio en la interacción con polímeros pécticos se ha especulado que los cambios cuantitativos en la solubilidad de pectina se deben a cambios mediados por CO₂ en la distribución de calcio (Grant y col., 1973; Morris y col., 2009). Para evaluarlo, se determinó el contenido de calcio en pared celular de la fruta al inicio del almacenamiento además de los días en que se

observó mayor firmeza de la fruta (3 y 7 DA). Así bien algunos autores como O'Neill y York (2003) mencionan que la integridad de la membrana depende de varios factores que interactúan, por ejemplo, la disponibilidad del calcio que ha mostrado tener una influencia en su estabilización.

En el contenido de calcio no se observaron efectos ($p \leq 0.05$) entre las diferentes variedades y tratamientos aplicados (Figura 21), lo cual difiere con lo reportado por Hwan y col. (2012), quienes reportan que la firmeza de la fresa tratada con CO_2 a alta presión (100 kPa de CO_2) aumenta la firmeza y se integra la idea de que el Ca^{+2} está involucrado en la redistribución de polisacáridos pécticos. Por otro lado, Wang y col. (2014) reportan que el tratamiento a corto plazo con CO_2 a alta presión (99,8% CO_2 + 0,002% O_2) induce eficazmente un rápido aumento de la firmeza de las fresas y está asociado con un incremento en la retención del calcio celular favoreciendo la formación de pectatos de calcio en la pared; así mismo nosotros especulamos que probablemente el aumento del calcio se deba a que en el trabajo de Wang y col. (2014) se manejó un alto contenido de CO_2 que es superior al empleado en el presente trabajo y por tanto se ve reflejado en los cambios en el contenido de calcio de la pared celular.

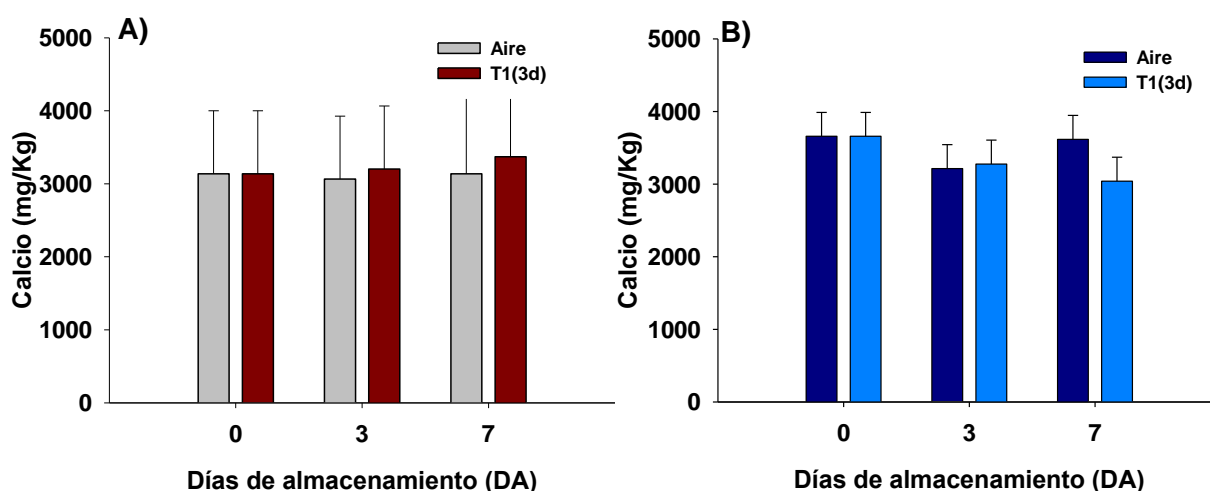


Figura 20. Cambios en el contenido de calcio (mg/Kg) de frutos de frambuesa cv. Adelita (A) y Evita (B) almacenados en AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (7 DA), T1 (1-3 DA) a 1°C.

7. Conclusiones

La aplicación de AC (10%O₂ + 15%CO₂) por 3 días retrasa eficazmente el deterioro poscosecha de los frutos de frambuesa durante el almacenamiento, incrementando la vida de anaquel hasta 16 días en ambas variedades (cv. Adelita y cv. Evita) ya que mantuvo la calidad poscosecha a lo largo del almacenamiento observándose menor pérdida de peso y mayor firmeza en los frutos tratados.

En particular cv. Adelita en T1(3d) mantuvo mejor la firmeza del fruto e incluso aumento en los días 3 y 7 (3.8% y 20.35% respectivamente) en comparación con el día 0.

Se observó una disminución de la actividad de PG, PL y β -Gal generalizada entre variedades y tratamientos con AC, aunque en pocos casos significativa, lo cual en conjunto con los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos podría indicar un retraso en la degradación de la pared celular y una mayor preservación de las características de firmeza deseadas en la frambuesa.

Particularmente la alta actividad de PL y la disminución de PG en los días 3 y 7 se correlacionan con el incremento y conservación de la firmeza observado en la variedad Adelita, esto debido a una disminución de la actividad de PME responsable de la degradación de la pectina por acción de AC lo que no favorece la formación de pectatos de calcio.

Se propone profundizar en la posible interacción de ambas enzimas y la cuantificación y distribución del calcio a través de técnicas más sensibles para confirmar su participación en los cambios de la firmeza de los frutos de frambuesa.

Referencias bibliograficas

- A.O.A.C. (2005). Association of official analytical chemists. *Official Methods of Analysis*, 1000-1050. Virginia.
- Agueero, C. B., Uratsu, S. L., Greve, C., Powell, A. L., Labavitch, J. M., Meredith, C. P., & Dandekar, A. M. (2005). Evaluation of tolerance to Pierce's disease and Botrytis in transgenic plants of *Vitis vinifera* L. expressing the pear PGIP gene. *Molecular Plant Pathology*, 6(1), 43-51. DOI:<https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2004.00262.X>
- 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.
- Andrews, P. K., & Li, S. (1994). Partial Purification and Characterization of beta.-D-Galactosidase from Sweet Cherry, a Nonclimacteric Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(10), 2177-2182. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00046a019>
- Anttonen, M. J., & Karjalainen, R. O. (2005). Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(8), 759-769. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.003>
- Barreiro, J., & Sandoval, A. (2006). Preparacion de los alimentos para la conservacion por bajas temperaturas. En J. Barreiro, & A. Sandoval, (Ed 1), *Operaciones de conservacion de alimentos por bajas temperaturas* (págs. 100-101). Venezuela: Equinoccio.
[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=r7y3XuFAB8UC&oi=fnd&pg=PA113&dq=Barreiro,+J.,+%26+Sandoval,+A.+\(2006\).+Preparacion+de+los+alimentos+par+a+la+conservacion+por+bajas+temperaturas.+&ots=VQSDttARiv&sig=UE3TJgo-0px_18Cv-8bVz3rifYE#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=r7y3XuFAB8UC&oi=fnd&pg=PA113&dq=Barreiro,+J.,+%26+Sandoval,+A.+(2006).+Preparacion+de+los+alimentos+par+a+la+conservacion+por+bajas+temperaturas.+&ots=VQSDttARiv&sig=UE3TJgo-0px_18Cv-8bVz3rifYE#v=onepage&q&f=false)
- Barrios, S., Lema, P., & Lareo, C. (2014). Modeling respiration rate of strawberry (cv.

San Andreas) for modified atmosphere packaging design. *International Journal of Food Properties*, 17(9), 2039-2051. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.784328>

Bartley, I. M., & Knee, M. (1982). The chemistry of textural changes in fruit during storage. *Food Chemistry*, 9(1-2), 47-58. DOI: [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(82\)90068-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90068-1)

Bascope, A. (2013). *Realidad productiva de la frambuesa EE.UU. y Mexico*. Santiago de Chile: ODEPA. Recuperado el 23 de marzo de 2020 de <http://www.agrimundo.cl/wp-content/uploads/Informe-Frambuesa-VF22012013.pdf>

Benen, J. A., Kester, H. C., & Visser, J. (1999). Kinetic characterization of *Aspergillus niger* N400 endopolygalacturonases I, II and C. *European Journal of Biochemistry*, 259(3), 577-585. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00080.x>

Brouillard, R. (1982). Chemical structure of antocyanins. En R. Brouillard, (Ed 1), *Anthocyanins as food colours* (págs. 1-40). Michigan: Pericles Markakis. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=SN8XbvA1w8gC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Brouillard,+R.+\(1982\).+Chemical+structure+of+antocyanins.+En+R.+Brouillard,+Anthocyanins+as+food+colours+\(p%C3%A1gs.+1-40\).+Michigan:+Pericles+Markakis.&ots=bhikzpzHZeW&sig=qVYclyfb5A4DOzV2CMb0kApv9C8#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=SN8XbvA1w8gC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Brouillard,+R.+(1982).+Chemical+structure+of+antocyanins.+En+R.+Brouillard,+Anthocyanins+as+food+colours+(p%C3%A1gs.+1-40).+Michigan:+Pericles+Markakis.&ots=bhikzpzHZeW&sig=qVYclyfb5A4DOzV2CMb0kApv9C8#v=onepage&q&f=false)

Brummell, D. A., & Harpster, M. H. (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant molecular biology*, 47(1), 311-339. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-010-0668-2_18

Burdon, J. N., & Sexton, R. (1993, August). Practical implications of differences in the ethylene production of *Rubus* fruits. In *International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops* 368 (pp. 884-892). DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.1994.368.106>

Burdon, J. N., & Sexton, R. (1990). Fruit abscission and ethylene production of red raspberry cultivars. *Scientia horticulturae*, 43(1-2), 95-102. DOI:

[https://doi.org/10.1016/0304-4238\(90\)90040-I](https://doi.org/10.1016/0304-4238(90)90040-I)

- Capita, N. C., & McCann, M. C. (2000). The cell wall. In Buchanan BB, Grissem W, Jones RL (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. (American S, pp. 52–108).
- Carabalí Miranda, I. L., & Narváz Cuenca, C. E. (2009). Extracción y medida de actividad de pectin metil estearasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*), enzima relacionada con el ablandamiento. *Acta biológica colombiana*, *14*(2), 73-82. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2009000200006
- Carey, A. T., Holt, K., Picard, S., Wilde, R., Tucker, G. A., Bird, C. R., ... & Seymour, G. B. (1995). Tomato exo-(1-> 4)-[beta]-D-galactanase (isolation, changes during ripening in normal and mutant tomato fruit, and characterization of a related cDNA clone). *Plant Physiology*, *108*(3), 1099-1107. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.108.3.1099>
- Capita, N. C. (1996). Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. *Annual review of plant biology*, *47*(1), 445-476. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.445>
- Castillejo, C., de la Fuente, J. I., Iannetta, P., Botella, M. Á., & Valpuesta, V. (2004). Pectin esterase gene family in strawberry fruit: study of FaPE1, a ripening-specific isoform. *Journal of Experimental Botany*, *55*(398), 909-918. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erh102>
- Carrington, C. S., & Pressey, R. (1996). β -Galactosidase II activity in relation to changes in cell wall galactosyl composition during tomato ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *121*(1), 132-136. DOI: <https://doi.org/10.21273/jashs.121.1.132>
- Collmer, A., & Keen, N. T. (1986). The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Annual review of phytopathology*, *24*(1), 383-409. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.24.090186.002123>

- Collmer, A., Ried, J., & Mount, M. (1988). Pectin lyase from *Phoma medicaginis* var. pinodella. En W. Wood, & S. T. Kellogg, *Methods in enzymology* (págs. 329-364). San Diego, Calif.: Academic P USA
- Cosgrove, D. J. (1997). Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annual review of cell and developmental biology*, 13(1), 171-201. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.171>
- Pires, T. D. C. R., & Finardi-Filho, F. (2005). Extraction and assay of pectic enzymes from Peruvian carrot (*Arracacia xanthorriza* Bancroft.). *Food chemistry*, 89(1), 85-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.023>
- De Alcántara, P. H., Dietrich, S. M., & Buckeridge, M. S. (1999). Xyloglucan mobilisation and purification of a (XLLG/XLXG) specific β -galactosidase from cotyledons of *Copaifera langsdorffii*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(9), 653-663. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0981-9428\(00\)80095-9](https://doi.org/10.1016/s0981-9428(00)80095-9)
- De la Vega, J. C., Cañarejo, M. A., & Pinto, N. S. (2017). Avances en tecnología de Atmósferas Controladas y sus Aplicaciones en la Industria. Una Revisión. *Información tecnológica*, 28(3), 75-86. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0718-07642017000300009>
- De Lorenzo, G., & Ferrari, S. (2002). Polygalacturonase-inhibiting proteins in defense against phytopathogenic fungi. *Current opinion in plant biology*, 5(4), 295-299. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(02\)00271-6](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00271-6)
- De Lorenzo, G., D'Ovidio, R., & Cervone, F. (2001). The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annual review of phytopathology*, 39(1), 313-335. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6019-7_4
- De Veau, E. I., Gross, K. C., Huber, D. J., & Watada, A. E. (1993). Degradation and solubilization of pectin by β -galactosidases purified from avocado mesocarp. *Physiologia Plantarum*, 87(3), 279-285. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1993.870305.x>
- De Vries, R. P., & Visser, J. A. A. P. (2001). *Aspergillus* enzymes involved in degradation

of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(4), 497-522. DOI: <https://doi.org/10.1128/mnbr.65.4.497-522.2001>

Di Matteo, A., Bonivento, D., Tsernoglou, D., Federici, L., & Cervone, F. (2006). Polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) in plant defence: a structural view. *Phytochemistry*, 67(6), 528-533. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.12.025>

Draye, M., & Van Cutsem, P. (2008). Pectin methylesterases induce an abrupt increase of acidic pectin during strawberry fruit ripening. *Journal of plant physiology*, 165(11), 1152-1160. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.10.006>

Edwards, M., Bowman, Y. J., Dea, I. C., & Reid, J. S. (1988). A beta-D-galactosidase from nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) cotyledons. Purification, properties, and demonstration that xyloglucan is the natural substrate. *Journal of Biological Chemistry*, 263(9), 4333-4337. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)68930-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)68930-6)

Federici, L., Caprari, C., Mattei, B., Savino, C., Di Matteo, A., De Lorenzo, G., ... & Tsernoglou, D. (2001). Structural requirements of endopolygalacturonase for the interaction with PGIP (polygalacturonase-inhibiting protein). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(23), 13425-13430. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.231473698>

Finn, C. E., & Hancock, J. F. (2008). Raspberry. Hancock, J. F. (Ed.1) *In Temperate Fruit Crop Breeding* (pp. 359–392). Michigan State, USA: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6907-9>

Forney, C. F., Jamieson, A. R., Pennell, K. D. M., Jordan, M. A., & Fillmore, S. A. (2015). Relationships between fruit composition and storage life in air or controlled atmosphere of red raspberry. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 121-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.017>

Fuentes, L., Monsalve, L., Morales-Quintana, L., Valdenegro, M., Martínez, J. P., Defilippi, B. G., & González-Agüero, M. (2015). Differential expression of ethylene biosynthesis genes in drupelets and receptacle of raspberry (*Rubus idaeus*). *Journal*

of plant physiology, 179, 100-105. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.02.005>

Gàmez, O. R., & Díaz, M. S. (2008). Poligalacturonasas de levaduras: un producto biotecnológico de grandes potencialidades. *Tecnología Química*, 28(1), 80-90.

Rubio, J. C. G., de Lena, G. G. G., & Ara, M. C. (2014). (Ed 1). *El cultivo del frambueso*. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). España: SERIDA. Recuperado el 15 de abril de 2020 de <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>

García-Viguera, C., Zafrilla, P., Artés, F., Romero, F., Abellán, P., & Tomás-Barberán, F. A. (1998). Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(4), 565-573. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<565::AID-JSFA154>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<565::AID-JSFA154>3.0.CO;2-P)

Giovanelli, G., Limbo, S., & Buratti, S. (2014). Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98, 72-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.002>

Girard, C., & Jouanin, L. (1999). Molecular cloning of cDNAs encoding a range of digestive enzymes from a phytophagous beetle, *Phaedon cochleariae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29(12), 1129-1142. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(99\)00104-6](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(99)00104-6)

Gomes, M. D. S., Cardoso, M. D. G., Guimarães, A. C. G., Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Vilas Boas, E. V. D. B., ... & Antunes, M. D. C. (2017). Effect of edible coatings with essential oils on the quality of red raspberries over shelf-life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 929-938. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7817>

Gonzalez-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 Alimentos) Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

- González-Orozco, B. D., Mercado-Silva, E. M., Castaño-Tostado, E., Vázquez-Barríos, M. E., & Rivera-Pastrana, D. M. (2020). Effect of short-term controlled atmospheres on the postharvest quality and sensory shelf life of red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 352-358. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1758216>
- Goulart, B. L., Hammer, P. E., Evensen, K. B., Janisiewicz, W., & Takeda, F. (1992). Pyrrolnitrin, Captan+ Benomyl, and high CO₂ enhance raspberry shelf life at 0 or 18C. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(2), 265-270. DOI: <https://doi.org/10.21273/jashs.117.2.265>
- Grant, G. T. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *Febs Lett.*, 32, 195-198. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7)
- Gross, K. C. (1985). Promotion of ethylene evolution and ripening of tomato fruit by galactose. *Plant Physiology*, 79(1), 306-307. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.79.1.306>
- Gross, K. C., & Sams, C. E. (1984). Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochemistry*, 23(11), 2457-2461. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)84075-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)84075-3)
- Guillermo, Rosli., H. (2007). Degradación de pared celular en frutillas. Análisis de sus componentes, evaluación de la actividad enzimática y expression de genes asociados. Tesis de Doctor en Biología Molecular y Biotecnología. Universidad Nacional de General San Martín. <http://www.iib.unsam.edu.ar/archivos/docencia/tesis/archivos/HernanRosli.pdf>
- Haffner, K., Rosenfeld, H. J., Skrede, G., & Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 279-289. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0925-5214\(01\)00147-8](https://doi.org/10.1016/s0925-5214(01)00147-8)
- Harker, F. R., Elgar, H. J., Watkins, C. B., Jackson, P. J., & Hallett, I. C. (2000). Physical and mechanical changes in strawberry fruit after high carbon dioxide

- treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 19(2), 139-146. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0925-5214\(00\)00090-9](https://doi.org/10.1016/s0925-5214(00)00090-9)
- Harshman, J. M. (2012). *Evaluation of Raspberry (Rubus sp.) Genotypes for Postharvest Quality and Resistance to Botrytis cinerea*. (Master's Thesis). University of Maryland, USA. Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park. , USA. <http://hdl.handle.net/1903/12834>
- Henrissat, B. (1998). Enzymology of cell-wall degradation. *Biochem. Soc. Trans*, 26, 153-156. DOI: <https://doi.org/10.1042/bst0260153>
- Horvitz, S. (2017). Postharvest handling of berries. *Postharvest handling*, 107-123. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.69073>
- Huynh, N. K., Wilson, M. D., Eyles, A., & Stanley, R. A. (2019). Recent advances in postharvest technologies to extend the shelf life of blueberries (*Vaccinium sp.*), raspberries (*Rubus idaeus L.*) and blackberries (*Rubus sp.*). *Journal of Berry Research*, 9(4), 687-707. DOI: <https://doi.org/10.3233/jbr-190421>
- Hwang, Y. S., Min, J. H., Kim, D. Y., Kim, J. G., & Huber, D. J. (2012). Potential mechanisms associated with strawberry fruit firmness increases mediated by elevated pCO₂. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 53(1), 41-48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-012-0097-0>
- Iannetta, P. P., Van Den Berg, J., Wheatley, R. E., McNicol, R. J., & Davies, H. V. (1999). The role of ethylene and cell wall modifying enzymes in raspberry (*Rubus idaeus*) fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, 105(2), 337-346. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999.105220.x>
- Jacob, N., & Prema, P. (2006). Influence of Mode of Fermentation on Production of Polygalacturonase by a Novel Strain of *Streptomyces lydicus*. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.002>
- Jaubert, S., Laffaire, J. B., Abad, P., & Rosso, M. N. (2002). A polygalacturonase of animal origin isolated from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *FEBS letters*, 522(1-3), 109-112. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)02906-x](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)02906-x)

- Jennings, D. L. (1988). Raspberries and blackberries: their, diseases and growth. *Academic Press, London*, 230.
- Jennings, D. L., Daubeny, H. A., & Moore, J. N. (1991). Blackberries and raspberries (Rubus). *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops* 290, 331-392. DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.1991.290.8>
- Jin, P., Wang, S. Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y., & Wang, C. Y. (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132(1), 399-405. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.011>
- Kader, A. A., Pelayo-Zaldivar, C., Arpaia, M. L., Barrett, D. M., Bruhn, C. M., Cantwell, M. I., ... & Baños, C. T. B. (2007). *Tecnología postcosecha de cultivos: Hortofrutícolas*. Universidad de California, California (EUA).
- Kader, A. A., & Watkins, C. B. (2000). Modified atmosphere packaging—toward 2000 and beyond. *HortTechnology*, 10(3), 483-486. DOI: <https://doi.org/10.21273/horttech.10.3.483>
- Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., & Prior, R. L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(11), 4638-4644. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf990266t>
- Kalunke, R. M., Tundo, S., Benedetti, M., Cervone, F., De Lorenzo, G., & D'Ovidio, R. (2015). An update on polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein that protects crop plants against pathogens. *Frontiers in plant science*, 6, 146. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00146>
- Kars, I., Krooshof, G. H., Wagemakers, L., Joosten, R., Benen, J. A., & Van Kan, J. A. (2005). Necrotizing activity of five *Botrytis cinerea* endopolygalacturonases produced in *Pichia pastoris*. *The Plant Journal*, 43(2), 213-225. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2005.02436.x>
- Kays, S. J. (1991). Postharvest physiology and handling of perishable plant products. New York: Van Nostrand Reinhold Inc. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19920316090?freeview=true>

- Kempler, C., Hall, H., Finn, C.E. (2012). Raspberry. In: Badenes, M., Byrne, D. (eds 1) Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding, vol 8. Springer, Boston, MA. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Kim, J., Gross, K. C., & Solomos, T. (1991). Galactose metabolism and ethylene production during development and ripening of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 1(1), 67-80. DOI: [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(91\)90020-c](https://doi.org/10.1016/0925-5214(91)90020-c)
- Kobe, B., & Kajava, A. (2001). The leucine-rich repeat as a protein recognition motif. *Opinion in Structural Biology*, 11(6), 725–732. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(01\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(01)00266-4)
- Krüger, E., Dietrich, H., Schöppllein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 31-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.12.001>
- Kruger, E., Schopplein, E., Rasim, S., Cocca, G., & Fischer, H. (2003). Effects of ripening stage and storage time on quality parameters of red raspberry fruit. *European Journal of Horticultural Science*, 68(4), 176-182.
- Ahmad-Mir, S., Ahmad-Shah, M., & Maqbool-Mir, M. (2018). Postharvest biology and technology of berries. Kumar, S., Baghel, M., Yadav, A., & Dhakar, M. K (Ed 1) In *Postharvest biology and technology of temperate fruits* (pp. 349-370). Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-76843-4>
- Lagaert, S., Beliën, T., & Volckaert, G. (2009, December). Plant cell walls: Protecting the barrier from degradation by microbial enzymes. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 20, No. 9, pp. 1064-1073). Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2009.05.008>
- Ledesma-Valladolid, J. P. (2019). “*Efecto de atmósferas controladas y ricas en especies reactivas de oxígeno en las características químicas y bioquímicas y calidad poscosecha de frutos de zarzamora (Rubus sp.)*.” (Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos) Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

- MacKenzie, K. A. D. (1979). The structure of the fruit of the red raspberry (*Rubus idaeus* L.) in relation to abscission. *Annals of Botany*, 43(3), 355-362. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085643>
- Manson, D., & C, D. (1978). Post-harvest spoilage of Scottish raspberries in relation to pre-harvest fungicide sprays. *Hortic Res*, 18, 41–53.
- Mattei, B., Bernalda, M. S., Federici, L., Roepstorff, P., Cervone, F., & Boffi, A. (2001). Secondary structure and post-translational modifications of the leucine-rich repeat protein PGIP (polygalacturonase-inhibiting protein) from *Phaseolus vulgaris*. *Biochemistry*, 40(2), 569-576. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi0017632>
- Mazur, S. P., Nes, A., Wold, A. B., Remberg, S. F., & Aaby, K. (2014). Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons. *Food chemistry*, 160, 233-240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.174>
- McNicol, R. J., Williamson, B., & Dolan, A. (1990). Effects of inoculation, wounding and temperature on post-harvest grey mould (*Botrytis cinerea*) of red raspberry. *Journal of horticultural science*, 65(2), 157-165. DOI: <https://doi.org/10.1080/00221589.1990.11516042>
- Mitcham, E., Crisosto, C., & Kader, A. (2014). *Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha de frambuesa*. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. Recuperado el 20 de marzo de 2020 de http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources
- Moore, P. P., Perkins-Veazie, P., Weber, C. A., & Howard, L. (2005, December). Environmental effect on antioxidant content of ten raspberry cultivars. In *IX International Rubus and Ribes Symposium 777* (pp. 499-504). DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2008.777.76>
- Morales, C., & Gloria, C. (2009) *Frambueso (Rubus idaeus L.), morfología y clasificación*. Villa Alegre, Chile: Informativo INIA Raihuen. no. 34. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/4310> (Consultado: 2 marzo 2020).

- Morris, V. J., Gromer, A., & Kirby, A. R. (2009). Architecture of intracellular networks in plant matrices. *Structural Chemistry*, 20(2), 255-261. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9410-7>
- Moustacas, A. M., Nari, J., Borel, M., Noat, G., & Ricard, J. (1991). Pectin methylesterase, metal ions and plant cell-wall extension. The role of metal ions in plant cell-wall extension. *Biochemical journal*, 279(2), 351-354. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj2790351>
- Mulderij, R. (2016). Overview global market berries [Internet]. Tholen, The Netherlands: Fresh Plaza; 2016 [updated 2016 Apr 29; cited 2019 Jun 19]. Available from: <https://www.freshplaza.com/article/2157238/overview-global-market-berries>
- Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., ... & Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191-5196. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf020140n>
- Rodríguez Nieto, J. E. I. M. M. Y., & Restrepo Sánchez, L. P. (2011). Extracción de enzimas pécticas del epicarpio de lulo (*Solanum quitoense* lam) involucradas en el proceso de ablandamiento. *Acta Biológica Colombiana*, 16(2), 193-204.
- Ó Neill, M.A., York, W.S. (2003). The composition and structure of plant primary cell walls. In: Rose, J.K.C. (Ed.), *The Plant Cell Wall*. Blackwell, Oxford, pp. 1-54. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0067>
- Palonen, P., & Weber, C. (2019). Fruit color stability, anthocyanin content, and shelf life were not correlated with ethylene production rate in five primocane raspberry genotypes. *Scientia Horticulturae*, 247, 9-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.088>
- Paniagua, C., Santiago-Doménech, N., Kirby, A. R., Gunning, A. P., Morris, V. J., Quesada, M. A., ... & Mercado, J. A. (2017). Structural changes in cell wall pectins during strawberry fruit development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 55-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.001>

- Pauly, M., Albersheim, P., Darvill, A., & York, W. S. (1999). Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants. *The Plant Journal*, 20(6), 629-639. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1999.00630.x>
- Pauly, M., Qin, Q., Greene, H., Albersheim, P., Darvill, A., & York, W. S. (2001). Changes in the structure of xyloglucan during cell elongation. *Planta*, 212(5), 842-850. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004250000448>
- Payasi, A., & Sanwal, G. G. (2003). Pectate lyase activity during ripening of banana fruit. *Phytochemistry*, 63(3), 243-248. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00027-x](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00027-x)
- Pelloux, J., Rusterucci, C., & Mellerowicz, E. J. (2007). New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends in plant science*, 12(6), 267-277. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.04.001>
- Pérez-Almeida, I., & Carpita, N. C. (2006). Las β -galactosidasas y la dinámica de la pared celular. *Interciencia*, 31(7), 476-483.
- Perkins-Veazie, P. Raspberry. In K. Gross, Ch. Wang and M. Saltveit (Eds 1). (2016). *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks*. Agriculture Handbook 66, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC p 540-542. Recuperado el Mayo de 2020. <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/oc/np/Commer>
- Perkins-Veazie, P., & Nonnecke, G. (1992). Physiological changes during ripening of raspberry fruit. *HortScience*, 27(4), 331-333. DOI: <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.4.331>
- Perkins-Veazie, P., (2013). Postharvest physiology and storage of raspberries. In: Funt, R.C., Hall, H.K. (Eds), *Raspberries*. CABI, Oxfordshire, UK, pp. 177-189. DOI: <https://doi.org/10.1079/9781845937911.0177>
- Pinto, N., Carlos, J., & Cañarejo, M. (2016). Fruits and vegetables' preservation method using controlled atmospheres. *Agroindustrial Science*, 2, 231–238. DOI: <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.02.08>

- Pissavin, C., Robert-Baudouy, J., & Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (1998). Biochemical characterization of the pectate lyase PelZ of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1383(2), 188-196. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(97\)00191-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(97)00191-X)
- Posé, S., García-Gago, J. A., Santiago-Doménech, N., Pliego-Alfaro, F., Quesada, M. A., & Mercado, J. A. (2011). Strawberry fruit softening: role of cell wall disassembly and its manipulation in transgenic plants. *Genes, Genomes and Genomics*, 5(1), 40-48.
- Powell, A. L., van Kan, J., ten Have, A., Visser, J., Greve, L. C., Bennett, A. B., & Labavitch, J. M. (2000). Transgenic expression of pear PGIP in tomato limits fungal colonization. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(9), 942-950. DOI: <https://doi.org/10.1094/mpmi.2000.13.9.942>
- Pressey, R. (1983). β -Galactosidases in ripening tomatoes. *Plant Physiology*, 71(1), 132-135. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.71.1.132>
- Ranwala, A. P., Suematsu, C., & Masuda, H. (1992). The role of β -galactosidases in the modification of cell wall components during muskmelon fruit ripening. *Plant physiology*, 100(3), 1318-1325. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.100.3.1318>
- Rao, A. V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871-3883. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf903484g>
- Redgwell, R. J., Fischer, M., Kendal, E., & MacRae, E. A. (1997). Galactose loss and fruit ripening: high-molecular-weight arabinogalactans in the pectic polysaccharides of fruit cell walls. *Planta*, 203(2), 174-181. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004250050179>
- Remberg, S. F., Sønsteby, A., Aaby, K., & Heide, O. M. (2010). Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of Glen Ample raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9120-9128. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf101736q>

- Ridley, B. L., O'Neill, M. A., & Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57(6), 929-967. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00113-3)
- Robbins, J. A., & Moore, P. P. (1990). Color change in fresh red raspberry fruit stored at 0, 4.5, or 20C. *HortScience*, 25(12), 1623-1624. DOI: <https://doi.org/10.21273/hortsci.25.12.1623>
- Robledo, P., Defilippi, B., & Becerra, C. (2017). *Cosecha y postcosecha de frambuesa*. Chile: Centro Regional de Investigación INIA. Recuperado el 31 de marzo de 2020 de <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR39110.pdf>
- Rogers, L. M., Kim, Y. K., Guo, W., González-Candelas, L., Li, D., & Kolattukudy, P. E. (2000). Requirement for either a host-or pectin-induced pectate lyase for infection of *Pisum sativum* by *Nectria hematococca*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(17), 9813-9818. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.160271497>
- Rodríguez, J. M. R., Sánchez, J. L., López, D. S., & Hellín, L. C. (1992). Métodos analíticos avanzados para la determinación de sustancias pécticas y actividades enzimáticas pectólicas. *Alimentación, equipos y tecnología*, 11(2), 149-155.
- Sagarpa. (2018). Gaceta Oficial de los Derechos de Obtentor de Variedades Vegetales. México, Recuperado el Mayo de 2020, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/370664/GacetaDOV_2doTrim18_.pdf
- Seeram, N. P. (2008). Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(3), 627-629. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf071988k>
- Serrat, M. (2003). *Producción, purificación y caracterización de la poligalacturonasa de una cepa de levadura aislada de residuales del beneficio húmedo del café*. (Tesis de doctorado en Biotecnología Industrial). Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

- Seymour, G. B., & Gross, K. C. (1996). Cell wall disassembly and fruit softening. *Postharvest News Info.*, 7, 45–52.
- SIAP. (2020). *Panorama agroalimentario 2020*. Mexico: Informativo SIAP. Recuperado el 27 de Junio de 2021, de SIAP 2020 del Sistema de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP):. Disponible en https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020 (Consultado: 27 junio 2021)
- Smith, D. L., & Gross, K. C. (2000). A family of at least seven β -galactosidase genes is expressed during tomato fruit development. *Plant Physiology*, 123(3), 1173-1184. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.123.3.1173>
- Stavang, J. A., Freitag, S., Foito, A., Verrall, S., Heide, O. M., Stewart, D., & Sønsteby, A. (2015). Raspberry fruit quality changes during ripening and storage as assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses. *Scientia Horticulturae*, 195, 216-225. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.045>
- Stewart, D., Iannetta, P. P., & Davies, H. V. (2001). Ripening-related changes in raspberry cell wall composition and structure. *Phytochemistry*, 56(5), 423-428. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00410-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00410-6)
- Stewart, D., McDougall, G. J., Sungurtas, J., Verrall, S., Graham, J., & Martinussen, I. (2007). Metabolomic approach to identifying bioactive compounds in berries: advances toward fruit nutritional enhancement. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(6), 645-651. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700056>
- Strik, B. C. (2007). Berry crops: Worldwide area and production systems. *Berry fruit: value-added products for health promotion*, 3-51. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781420006148-6>
- Sturm, K., Koron, D., & Stampar, F. (2003). The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. *Food chemistry*, 83(3), 417-422. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00124-9](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00124-9)
- Talbott, L. D., & Ray, P. M. (1992). Changes in molecular size of previously deposited

and newly synthesized pea cell wall matrix polysaccharides: effects of auxin and turgor. *Plant Physiology*, 98(1), 369-379. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.98.1.369>

Tardy, F., Nasser, W., Robert-Baudouy, J., & Hugouvieux-Cotte-Pattat, N. (1997). Comparative analysis of the five major *Erwinia chrysanthemi* pectate lyases: enzyme characteristics and potential inhibitors. *Journal of bacteriology*, 179(8), 2503-2511. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.179.8.2503-2511.1997>

Have, A. T., Mulder, W., Visser, J., & van Kan, J. A. (1998). The endopolygalacturonase gene Bcpg1 is required for full virulence of *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(10), 1009-1016. DOI: <https://doi.org/10.1094/mpmi.1998.11.10.1009>

Terry, L.A., Mena, C., Williams, A., Jenney, N., Whitehead, P., 2011. Fruit and Vegetable Resource Maps – RSC-008. University Library, Business Faculty Publications and Presentations. Portland State University. Consulted: 3 april 2020: <https://archives.pdx.edu/ds/psu/26550>

Tezotto-Uliana, J. V., Fargoni, G. P., Geerdink, G. M., & Kluge, R. A. (2014). Chitosan applications pre-or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 72-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.023>

Tian, M. S., Hewett, E. W., & Lill, R. E. (1994). Effects of carbon dioxide on ethylene-forming enzyme in Japanese pear and apple. *Postharvest Biology and Technology*, 4(1-2), 1-12. DOI: [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(94\)90002-7](https://doi.org/10.1016/0925-5214(94)90002-7)

Torki, M., Mandaron, P., Mache, R., & Falconet, D. (2000). Characterization of a ubiquitous expressed gene family encoding polygalacturonase in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 242(1-2), 427-436. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00497-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00497-7)

Travisany, D., Ayala-Raso, A., Di Genova, A., Monsalve, L., Bernales, M., Martínez, J. P., ... & Fuentes, L. (2019). RNA-Seq analysis and transcriptome assembly of raspberry fruit (*Rubus idaeus* Heritage) revealed several candidate genes involved in fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 254, 26-34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2019.05.011>

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.018>

Tzortzakis, N. G. (2007). Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(1), 111-116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.08.001>

Undurraga, D., & Vargas, S. (2013). *Manual de frambuesas*. Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias Extraíd. Recuperado el 28 de febrero de 2020 de <https://www.intagri.com/articulos/frutillas/el-cultivo-de-la-frambuesa>

Vicente, A. R., Ortugno, C., Powell, A. L., Greve, L. C., & Labavitch, J. M. (2007). Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 1. Analysis of raspberry (*Rubus idaeus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4119-4124. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf063547r>

Vieira, J. M., Flores-López, M. L., de Rodríguez, D. J., Sousa, M. C., Vicente, A. A., & Martins, J. T. (2016). Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 116, 88-97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.01.011>

Villarreal, N. M., Marina, M., Nardi, C. F., Civello, P. M., & Martínez, G. A. (2016). Novel insights of ethylene role in strawberry cell wall metabolism. *Plant Science*, 252, 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.06.018>

Vincken, J. P., York, W. S., Beldman, G., & Voragen, A. G. (1997). Two general branching patterns of xyloglucan, XXXG and XXGG. *Plant Physiology*, 114(1), 9. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.114.1.9>

Wang, C., & Meng, X. (2016). Effect of ⁶⁰Co γ -irradiation on storage quality and cell wall ultra-structure of blueberry fruit during cold storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 91-97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.003>

Wang, M. H., Kim, J. G., Ahn, S. E., Lee, A. Y., Bae, T. M., Kim, D. R., & Hwang, Y. S. (2014). Potential role of pectate lyase and Ca²⁺ in the increase in strawberry fruit firmness induced by short-term treatment with high-pressure CO₂. *Journal of food*

science, 79(4), S685-S692. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12382>

Wattad, C., Dinoor, A., & Prusky, D. (1994). Purification of pectate lyase produced by *Colletotrichum gloeosporioides* and its inhibition by epicatechin: a possible factor involved in the resistance of unripe avocado fruits to anthracnose. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, 7(2), 293-297. DOI: <https://doi.org/10.1094/mpmi-7-0293>

Weber, C. A., Perkins-Veazie, P., Moore, P. P., & Howard, L. U. K. E. (2005, December). Variability of antioxidant content in raspberry germplasm. In *IX International Rubus and Ribes Symposium 777* (pp. 493-498). DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2008.777.75>

Willats, w. g. y col. (2001). The pectic polysaccharides of primary cell walls. *Plant Mol. Biol.*, 47, 9–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-461012-5.50018-5>

Wills, R. B., & Golding, J. B. (2015). Reduction of energy usage in postharvest horticulture through management of ethylene. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), 1379-1384. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6930>

Yahia, E. M. (1995). La tecnología de las atmósferas modificadas y controladas. Iª parte. *Horticultura internacional*, (7), 37-39.

Yakoby, N., Beno-Moualem, D., Keen, N. T., Dinoor, A., Pines, O., & Prusky, D. (2001). *Colletotrichum gloeosporioides* pelB is an important virulence factor in avocado fruit-fungus interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(8), 988-995. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.8.988>

Zhang, C., Xiong, Z., Yang, H., & Wu, W. (2019). Changes in pericarp morphology, physiology and cell wall composition account for flesh firmness during the ripening of blackberry (*Rubus* spp.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 250, 59-68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.015>

Zoffolo, J., Naranjo, P., & Leiva, F. (2010). *Nuevas técnicas para prolongar el tiempo postcosecha*. Chile: Chile Alimentos, Asociación de Empresas de Alimentos.

Anexo

Anexo 1. Cambios en las medias de los valores de firmeza y actividad enzimática de la pared celular de los frutos de frambuesa roja cv. Adelita y cv. Evita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (16DA), T1 (1-3DA) y T2 (1-14DA) a 1°C.

Variedad	DA	Tratamiento	Firmeza	PG	PL
Adelita	0	Aire	2.85±0.15 ^{abcA}	13.58±0.70 ^{cdeA}	0.01±0.00 ^{dA}
	3	Aire	2.82±0.15 ^{abcA}	18.02±0.70 ^{aA}	0.02±0.00 ^{dA}
		T1	2.96±0.15 ^{abA}	16.83±0.70 ^{abcA}	0.02±0.00 ^{cdA}
	7	Aire	2.68±0.15 ^{bcdA}	16.64±0.70 ^{abcA}	0.04±0.00 ^{aA}
		T1	3.43±0.15 ^{aA}	13.94±0.70 ^{bcdA}	0.04±0.00 ^{aA}
	16	Aire	1.73±0.15 ^{eA}	17.21±0.70 ^{ab}	0.04±0.00 ^{abA}
T1		1.97±0.15 ^{deA}	15.73±0.70 ^{abcdA}	0.02±0.00 ^{bcdA}	
Evita	0	Aire	2.01±0.09 ^{aB}	3.60±0.41 ^{aB}	0.02±0.00 ^{aA}
	3	Aire	1.19±0.09 ^{cB}	3.76±0.41 ^{aB}	0.03±0.00 ^{aA}
		T1	1.93±0.09 ^{aB}	3.28±0.41 ^{aB}	0.02±0.00 ^{aA}
	7	Aire	1.17±0.09 ^{cB}	4.07±0.41 ^{aB}	0.03±0.00 ^{aA}
		T1	1.65±0.09 ^{abB}	3.55±0.41 ^{aB}	0.02±0.00 ^{aA}
	16	Aire	0.76±0.09 ^{cB}	4.66±0.41 ^{aB}	0.03±0.00 ^{aA}
T1		0.95±0.09 ^{cB}	3.21±0.41 ^{aB}	0.02±0.00 ^{aA}	

Anexo 2. Cambios en las medias de la determinación de calcio de la pared celular de los frutos de frambuesa roja cv. Adelita y cv. Evita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (16DA), T1 (1-3DA) y T2 (1-14DA) a 1°C.

	Día	Tratamiento	Variedad	
			Adelita	Evita
Calcio (mg/Kg)	0	Aire	3137.43±862.67 ^{aA}	3658.80±328.66 ^{aB}
	3	Aire	3064.06±862.67 ^{aA}	3214.35±328.66 ^{aB}
		T1(3d)	3202.40±862.67 ^{aA}	3276.20±328.66 ^{aB}
	7	Aire	3136.05±1056.55 ^{aA}	3616.05±328.66 ^{aB}
		T1(3d)	3370.10±862.67 ^{aA}	3040.80±328.66 ^{aB}