



Universidad Autónoma de Querétaro



Facultad de Química

Estudio comparativo del entintado en tres variedades de durazno (*Prunus persica* (L.)) y propuestas tecnológicas para evitarlo

Tesis para obtener el título de
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

L.Q.A Paula Nicole López Raesfeld

Director:

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

Santiago de Querétaro, Qro., 2022.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos



“Estudio comparativo del entintado en tres variedades de durazno (*Prunus pérsica*(L.)) y propuestas tecnológicas para evitarlo”

TESIS

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

Presenta:

L.Q.A Paula Nicole López Raesfeld

Dirigido por:

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva

SINODALES

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva
Presidente

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios
Secretario

Dra. Dulce María Rivera Pastrana
Vocal

Dr. Javier Añorve Morga
Suplente

M.C. Ángel Ramón Flores Sosa
Suplente

Centro Universitario Querétaro, Qro.

México

Agradecimientos

A mi asesor, **Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva**, por la confianza depositada en mí, por sus enseñanzas y guía en este trabajo, y por el tiempo y asesoramiento dedicado en la dirección de este trabajo, por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y del Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas, y por compartir sus conocimientos conmigo y ser tan buen asesor.

A los miembros de mi comité, **Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios, Dra. Dulce María Rivera Pastrana, Dr. Javier Añorve Morga y M.C. Ángel Ramón Flores Sosa**, por formar parte del proyecto, por sus comentarios y asesorías para llevar a cabo este trabajo, así como su tiempo dedicado a la revisión del mismo.

En particular a **Ramón**, por el apoyo incondicional que me brindó durante mi estancia en el laboratorio, por todos sus consejos, por compartir su conocimiento y por ayudarme a ser mejor alumna.

A **Carmelita y Arlette**, por todo su apoyo y ayuda en las labores administrativas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico otorgado para la realización del presente proyecto de investigación.

A la **Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ)** y a la **Facultad de Química** por brindarme las facilidades para la realización y culminación de este trabajo.

A la **Agropecuaria Marlee S.A., Rancho San Carlos** y a los **Ing. Gustavo y Carlos Martínez**, por todo su apoyo durante mis muestreos, por compartir su conocimiento e información para poder llevar a cabo este trabajo.

Dedicatorias

A mis padres, **Lydia** y **Sócrates**, por su amor infinito, por todo el apoyo incondicional que me brindaron para alcanzar mis metas, por ser el pilar fundamental en mi formación personal y profesional, por ser mi motivación para convertirme en la persona que quiero ser, por su confianza en mí y por enseñarme a no rendirme, por sus palabras de aliento, por impulsarme a ser mejor persona y mejor profesionalista, y por todo lo que han hecho y siguen haciendo por mí.

A mis hermanos, **Pepe** y **Max**, por estar conmigo en todo momento, por apoyarme siempre, por ser mi ejemplo a seguir, por ser mi motivación para alcanzar mis sueños y metas, por levantarme el ánimo en los momentos de estrés, por sus consejos, y porque aún en la distancia siempre me alentaron y me apoyaron.

A **Manuel**, por entenderme, escucharme, apoyarme, por darme todo su cariño, ser mi acompañante incondicional, por ser parte de mi motivación, alentarme a seguir adelante y por siempre animarme en los peores momentos.

A mi hermanita académica, **Vanesa**, por siempre escucharme, por siempre apoyarme y alentarme, por los buenos momentos y risas que compartimos, y por brindarme su amistad y hermandad.

A mis amigas y amigos de laboratorio, **Judith**, **Mariana**, **Marina**, **Montse** y **Ramón**, por compartir conmigo tantos momentos, tantas risas y brindarme su amistad, y por todo el apoyo que me brindaron en el laboratorio.

A mis roomies, **Mariana** y **Jimena**, por todo su apoyo, por siempre escucharme y alentarme al llegar a casa en los días buenos y en los días malos, por darme un empujón de energía y confianza en los momentos más difíciles, y por brindarme una pequeña familia.

A mis amigos, **Fer**, **Annette**, **Anlly**, **Flor**, **Alexis** y **Pablo**, por apoyarme cuando los necesitaba, por extenderme su mano en momentos difíciles, y porque aún en la distancia siempre me escucharon y me alentaron para salir adelante.

Índice general

Agradecimientos	I
Dedicatorias	II
Índice general	III
Índice de figuras	VII
Índice de tablas	XI
Resumen	XIV
Abstract.	XVI
1. Introducción:	1
2. Antecedentes:	3
2.1 Importancia económica de la producción de durazno.....	3
2.1.1 Producción Mundial.....	3
2.1.2 Producción nacional de durazno	8
2.1.3 Evolución de las importaciones de durazno al mercado mexicano	10
2.1.4 Evolución comparativa del consumo per cápita de durazno, manzana y mango en México.	12
2.2 Características generales del durazno.....	15
2.2.1 Composición nutricional	16
2.3 Calidad del durazno	18
2.3.1 Normatividad mexicana	19
2.3.2 Normatividad de Estados Unidos	20
2.4 Factores que afectan la calidad de durazno.	23
2.4.1 Factores pre cosecha	23
2.4.1.1 Genotipo o variedades y factores ambientales.....	23
2.4.1.2 Factores de Cultivo.....	26
2.4.1.2.1 Nutrición mineral.....	26
2.4.1.2.2 Irrigación.....	28

2.4.1.2.3 Manejo de la planta	28
2.4.1.2.4 Factores patológicos que afectan la calidad.....	31
2.4.1.2.4.1 Pudrición café.....	31
2.4.1.2.4.2 Moho gris.....	32
2.4.2 Factores de cosecha que afectan la calidad del fruto.....	34
2.4.3 Factores poscosecha que afectan la calidad del fruto.....	36
2.4.3.1 Presencia de pudriciones poscosecha - Pudrición por Rhizopus	36
2.4.3.2 Efectos de la baja temperatura (daño por frío)	36
2.4.3.3 Entintado de durazno o Inking	38
3. Justificación	47
4. Hipótesis.....	48
5. Objetivos.....	48
6. Metodología.....	49
6.1 Material biológico	49
6.2 Estrategia experimental	50
6.3 Métodos utilizados	52
6.3.1 Análisis enzimáticos	52
6.3.1.1 Actividad de polifenol oxidasa (PPO)	52
6.3.1.2 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL).....	53
6.3.1.3 Actividad de peroxidasa (POD)	54
6.3.2 Análisis de metales en epidermis	55
6.3.3 Análisis de fenoles.....	56
6.3.3.1 Contenido de fenoles totales	56
6.3.3.2 Determinación del perfil fenólico.....	57
6.4 Análisis estadístico	59
7. Resultados.....	60

7.1 Primera etapa. Estudio comparativo de frutos de diferentes variedades con entintado y sin entintado desde la cosecha.	60
7.1.1 Análisis y cuantificación de metales pesados.....	60
7.1.2 Cambios en el contenido de fenoles totales de frutos con y sin entintado.....	63
7.1.2.1 Identificación y cuantificación de fenoles por HPLC de frutos con y sin entintado	64
7.1.3 Actividad enzimática de síntesis y degradación de fenoles.....	67
7.1.3.1 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL).....	67
7.1.3.2 Actividad de la polifenol oxidasa (PPO).....	69
7.1.3.3 Actividad de la peroxidasa (POD).....	72
7.2 Segunda etapa. Estudios complementarios de inducción del fenómeno de entintado. Factores que lo inducen.	73
7.2.1 Efecto del cepillado en el desarrollo del entintado y calidad visual	74
7.2.1.2 Cambios en el contenido de fenoles totales	78
7.4.2.2 Identificación y cuantificación de perfil fenólico por HPLC	81
7.4.2.3 Cambios en la actividad enzimática	83
7.4.2.3.1 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL).....	83
7.4.2.3.2 Actividad de polifenol oxidasa (PPO)	85
7.4.2.3.3 Actividad de peroxidasa (POD)	87
7.3 Tercera etapa. Efecto de la presencia del ion Fe(III) y cepillado en el desarrollo de entintado/oscurecimiento.	89
7.3.1 Efecto de la exposición de iones metálicos	89
7.3.1.1 Cambios en el contenido de fenoles totales	93
7.3.1.2 Identificación y cuantificación del perfil fenólico	94
7.3.1.3 Actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL).....	96

7.3.2 Efecto de daño mecánico y exposición a iones metálicos.....	98
7.3.2.1 Contenido fenólico total.....	101
7.3.2.2 Identificación y cuantificación del perfil fenólico	103
7.4.3.3 Cambios en la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL)	106
7.5 Evidencias de formación de complejos Fe(III)-ácido clorogénico	108
8. Conclusiones	112
9. Bibliografía	114
10. Anexos	126

Índice de figuras

Figura 1: Evolución de la producción mundial de durazno en el periodo de 2010-2020.....	4
Figura 2: Participación porcentual de los diferentes continentes en la producción de durazno para el año 2010..	5
Figura 3: Distribución porcentual por continente en la producción de duraznos en 2020.....	6
Figura 4: Evolución de la producción nacional de durazno en México en los años 2010 a 2020.....	9
Figura 5: Evolución de la importación de durazno en México en los años 2010 a 2020.....	11
Figura 6: Evolución comparativa de la producción nacional de durazno, manzana y mango en México, en los años 2010 a 2020..	12
Figura 7: Evolución del consumo per-cápita de durazno, manzana y mango, en México de 2010 a 2020. Datos calculados a partir de la producción nacional, importaciones y exportaciones, y los registros de población registrada por el INEGI	13
Figura 8: Evolución del precio por kg de durazno, manzana y mango, en México de 2010 a 2020. Datos calculados a partir del valor agregado y la producción nacional de cada año..	14
Figura 9: Tratamiento de raleo aplicados a árboles de durazno. (0) Se removió el excedente de frutos, y los frutos restantes tenían una separación de 5 cm (1), 10 cm (2), 15 cm (3) y 30 (4) entre sí..	29
Figura 10: Impacto en las características y calidad de frutos de duraznos sometidos a diferentes intensidades de raleo.	30
Figura 11: Presencia de pudrición café en duraznos de pulpa firme y hueso pegado procedentes de Aguascalientes, México.....	32
Figura 12: Ataque de Botrytis cinérea o moho gris en durazno.	33

Figura 13: Cambios de color durante el proceso de maduración de dos variedades de durazno.....	35
Figura 14: Contaminación en duraznos por Rhizopus.....	36
Figura 15: Manifestaciones del daño por frío en frutos de durazno.....	37
Figura 16: Manifestaciones del entintado de durazno.....	38
Figura 17: Oscurecimiento de frutos de duraznos rojos después de 15 minutos de incubación en soluciones de diferentes iones metálicos (pH 3.5). Las barras verticales representan el error estándar..	43
Figura 18: Efecto de las aplicaciones de Fe en el oscurecimiento de los frutos de durazno rojos sometidos o no al lavado y daño por abrasión....	44
Figura 19: Manifestación visual de inking o entintado en frutos de durazno de la región de Aguascalientes México.....	45
Figura 20: Desarrollo de la decoloración oscura en frutos de durazno en varias soluciones de pH tampón fosfato.....	46
Figura 21: Estrategia experimental a seguir.....	51
Figura 22: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos de frutos de durazno de tres variedades comerciales (MG8, Colegio y 229) sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.....	65
Figura 23: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos obtenido mediante HPLC de frutos de durazno de la variedad 'MG8' con y sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.....	66
Figura 24: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos obtenido mediante HPLC de frutos de durazno de la variedad 'Colegio' con y sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.....	66
Figura 25: Actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de tres variedades de durazno ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado.....	68
Figura 26: Cambios en la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (PPO) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado.....	71

Figura 27: Cambios en la actividad enzimática de la peroxidasa (POD) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado.....	73
Figura 28: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. 'MG8'	76
Figura 29: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. 'Colegio'.....	77
Figura 30: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. '229'.....	78
Figura 31: Cambios del contenido de fenoles totales (mg 100 g ⁻¹) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229, después de haber sido sometido a cepillado por diferentes tiempos.. ..	80
Figura 32: Perfil de los compuestos fenólicos de frutos de durazno de la variedad 'Colegio' sometidos a diferentes tiempos de cepillado (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.	82
Figura 33: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepillados por 5 minutos.	84
Figura 34: Cambios en la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (PPO) de frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepilladas por 5 minutos.. ..	86
Figura 35: Cambios en la actividad enzimática de peroxidasa (POD) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepilladas por 5 minutos	88
Figura 36: Entintado de durazno cv. 'MG8' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.....	90
Figura 37: Entintado de durazno cv. 'Colegio' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.	91
Figura 38: Entintado de durazno cv. '229' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.....	92

Figura 39: Cambios en el perfil de fenoles de frutos de durazno de la variedad Colegio asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de diferente (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.	95
Figura 40: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') asperjados con soluciones $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ en diferentes concentraciones.....	97
Figura 41: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. 'MG8' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y min) y asperjados con solución de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).	99
Figura 42: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. 'Colegio' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y min) y asperjados con solución de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).	99
Figura 43: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. '229' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y min) y asperjados con solución de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).	100
Figura 44: Perfil de compuestos fenólicos en frutos de durazno de la variedad 'Colegio' con A) sin cepillado y asperjados con soluciones $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, B) cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico	104
Figura 45: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades A) 'MG8', B) 'Colegio' y C) '229' sin cepillar y cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	107
Figura 46: Reacción in vitro de ácido clorogénico (0.1-0.5 mg ml ⁻¹) y $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (60 y 250 ppm).....	108
Figura 47: Perfil cromatográfico de diferentes mezclas de reacción de ácido clorogénico con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	109

Índice de tablas

Tabla 1: Principales países productores de durazno en el mundo y su contribución en la producción global para los años 2010 y 2020.....	7
Tabla 2: Principales estados productores de durazno en México y su participación en la producción nacional en 2010 y 2020.....	8
Tabla 3: Composición nutricia del durazno.....	16
Tabla 4: Zonas de producción de durazno en México en base a su altitud, horas de frío y época de producción.....	24
Tabla 5: Efecto de la severidad del raleo sobre la fisiología del durazno y los atributos de calidad externa del fruto.....	29
Tabla 6: Comparación de los niveles de diferentes nutrientes en hojas de durazno sugeridos en la literatura con los niveles encontrados en la zona de Aguascalientes.....	40
Tabla 7: Comparación de medias del contenido de hierro (ppm 100 g ⁻¹) en pieles de frutos de diferentes variedades de durazno con y sin entintado.....	60
Tabla 8: Comparación de medias de los contenidos de fenoles totales (mg 100g ⁻¹) de las variedades MG8, Colegio y 229 sin y con entintado.....	63
Tabla 9: Valor promedio del contenido de ácido clorogénico eq (mg 100g ⁻¹) de las variedades MG8, Colegio y 229, y en las variedades MG8 y Colegio con presencia y ausencia de entintado.....	65
Tabla 10: Comparación de medias del contenido de ácido clorogénico eq (mg 100g ⁻¹) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 cepillados por diferentes tiempos.....	82
Tabla 11: Comparación de medias del contenido de fenoles totales (mg 100g ⁻¹) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 asperjados con diferentes soluciones de Fe ₂ (SO ₄) ₃	93
Tabla 12: Comparación de medias del contenido de ácido clorogénico eq. (mg 100g ⁻¹) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 asperjadas con soluciones de Fe ₂ (SO ₄) ₃ a diferentes concentraciones.....	95

Tabla 13: Comparación de medias del contenido de fenoles totales (mg 100g-1) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 cepillados por 0 y 5 min y asperjados con diferentes soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 102

Tabla 14: Comparación de medias del del contenido de ácido clorogénico eq. (mg 100g-1) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 sin cepillar y cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 105

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE:

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

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

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Paula Nicole López Raesfeld', with a long horizontal flourish extending to the right.

Paula Nicole López Raesfeld

Resumen

El durazno es uno de los frutos más conocidos a nivel mundial, es fuente de carbohidratos, potasio, fósforo, vitaminas y compuestos bio activos. En el periodo 2010-2020, la producción mundial se incrementó 25% alcanzando 25,737,841 tons en el 2020, de las cuales China produjo el 62%. En contraste, México registró una producción de 173,475.89 tons en el 2020 observándose una disminución de la producción y consumo respecto del año 2010 (227 421 tons). Se desconocen las causas de esta disminución pero posiblemente está relacionada con el fenómeno de entintado o “inking”, el cual se manifiesta como un oscurecimiento de la piel mediante reacciones que involucran iones metálicos (Fe, Cu y Zn) que reaccionan con los compuestos fenólicos del fruto. El objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia en campo del entintado en tres variedades de durazno amarillo ('MG8', 'Colegio' y '229') del estado de Aguascalientes, México; cuantificar su contenido de microelementos en la piel y evaluar el efecto de la aplicación de iones Fe(III) y el cepillado en el entintado de los frutos para aportar conocimiento que permitan dilucidar los mecanismos del entintado del fruto para definir estrategias tecnológicas que lo eviten. Las pieles de 50 frutos entintados y no entintados de cada variedad fueron separadas y liofilizadas para su análisis de microelementos por espectroscopia de absorción atómica. En muestras de diferentes frutos, se aplicaron soluciones de Fe(III) (0, 60 y 250 ppm) o cepillados por 0, 1, 3 y 5 min para analizar su contenido de fenoles, ácido clorogénico y la actividad enzimática de PAL, PPO y POD después de 0, 24 y 48 h de almacenamiento a 1 °C. Las variedades 'Colegio' y 'MG8' fueron más susceptibles al entintado y la '229' fue la menos susceptible. El contenido de Fe(III), fenoles totales y ácido clorogénico fue mayor en frutos entintados y también las actividades de PAL, PPO y POD. Las aplicaciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a frutos sin cepillar o cepillados sin la aplicación de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ incrementaron los contenidos de fenoles, ácido clorogénico y las actividades enzimáticas. A diferencia de los frutos cepillados, los frutos con $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ sin cepillar no mostraron incidencia de entintado. Estos resultados señalaron que las

aplicaciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ indujeron la síntesis de ácido clorogénico sin mostrar signos de entintado; la aplicación de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ y cepillado de los frutos generó un mayor entintado comparados con los frutos cepillados. Se discuten alternativas de control y posibles mecanismos del origen del entintado de estos frutos

Palabras clave: Ácido clorogénico, durazno, complejo Fe(III)-clorogénico, inking, PAL, PPO, POD, *Prunus persica* (L.).

Abstract

Peach is one of the best-known fruit worldwide, it is a source of carbohydrates, potassium, phosphorus, vitamins and bioactive compounds. On 2010-2020 period, the world production increased 25% reaching 25,737,841 tons in 2020 and China produced 62% of that production. On another hand, Mexico registered a production of 173,475.89 tons in 2020, observing a decrease in production and consumption compared to the production of 2010 (227,421 tons). The causes of this decrease are unknown, but it is possibly related to inking, which manifests as a skin discoloration through reactions involving metal ions (Fe, Cu, and Zn) that react with the phenolic compounds of the fruit. The objective of this work was. i) to evaluate the field incidence of inking in three yellow peach varieties ('MG8', 'Colegio' and '229') produced in Aguascalientes, Mexico. To quantify its content of microelements on skin and to evaluate the effect of the Fe(III) ions and brushing in the inking development. To provide knowledge that allows elucidating the mechanisms of the inking of the fruit to define technological strategies that avoid it. The skins of 50 inking and non-inking fruits of each variety were separated and freeze drying to microelements analysis by atomic absorption spectroscopy. In different fruit samples, Fe(III) solutions (0, 60 and 250 ppm) were applied or brushed for 0, 1, 3 and 5 min to analyze their phenolics and chlorogenic acid content as well as the PAL, PPO and POD enzymatic activities were measured after 0, 24 and 48 h of storage at 1 °C. The 'Colegio' and 'MG8' varieties were more susceptible to inking and '229' variety was the least susceptible. The content of Fe(III), total phenols and chlorogenic acid was higher in inking fruit and also the PAL, PPO and POD activities. The $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ solution applications to fruits without brushing or brushing without $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ application, increased the phenolics contents, chlorogenic acid and the enzymatic activities. Unlike the brushed fruit, the fruit with $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ without brushing did not show inking incidence. These results indicated that the $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ applications induced the synthesis of chlorogenic acid without showing inking signs; the application of $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ and brushing of the fruits generated a greater inking in

comparison to brushed fruit. Control alternatives and possible mechanisms for inking origin in these fruits are discussed.

Key words: Chlorogenic acid, Fe(III)-chlorogenic complex, inking, peach, *Prunus persica* (L.), PAL, PPO, POD.

1. Introducción:

El durazno es uno de los frutos más conocidos a nivel mundial, rico en carbohidratos, potasio, fósforo, compuestos bioactivos, compuestos fenólicos, como las antocianinas en frutos rojos y carotenoides en frutos de piel amarilla, entre otros. La producción mundial de este fruto alcanzó 25,737,841 tons en el año 2020 que comparativamente con la producción del año 2010 se registró un incremento del 25%; la principal zona productora se concentra en China. A nivel nacional, en el 2020 se registró una producción de 173,475.89 tons concentradas en los estados de Chihuahua, Michoacán, Puebla, Zacatecas y Estado de México, mientras que el estado de Aguascalientes aportó 7,701.09 tons ocupando el séptimo lugar a nivel nacional.

El análisis de producción y consumo de durazno en México en el periodo 2010-2020, indica un declive en la producción, que puede estar motivado por una competencia en el mercado de consumo con otros frutos de mayor aceptación y menores precios. No obstante, estos datos no muestran si esa disminución en la producción y consumo, también estén implícitos factores de calidad visual del producto, que también estén influyendo en la decisión de compra de los consumidores.

Un desorden de gran importancia que puede estar repercutiendo en la calidad visual del fruto, es el entintado o “inking”, el cual es un desorden de ciertos frutos que se caracteriza por un desarrollo de oscurecimiento de la piel generándose tonalidades marrón oscuro. Este desorden solo se presenta en la piel de los frutos afectando su apariencia y por lo tanto rechazos en la compra, pérdidas en la comercialización y pérdidas económicas a las industrias (Crisosto *et al.*, 2009).

Se ha reportado que este desorden en variedades de durazno rojizas, el entintado puede ser debido a la presencia de iones metálicos como el Fe, Cu y Al

suministrados en exceso durante la nutrición de las plantas: así como también por el valor de pH alcalino del agua de lavado y por los daños mecánicos generados durante el cepillado de los frutos en la línea de empaque (Crisosto *et al.*, 2009). Se ha señalado que bajo estrés de metales pesados, un pH básico del agua de lavado y daño mecánico del fruto, se desarrollan tonalidades oscuras, afectando su comercialización.

En variedades de durazno amarillas, no se ha estudiado este desorden y no hay registros de su incidencia ni si está asociado a los mismo factores descritos en variedades de color rojizo.

Diversos autores han propuesto medidas para evitar o reducir el entintado en los frutos; entre las cuales se mencionan: el reducir el daño mecánico, evitar la contaminación de agua con metales, monitorear la presencia de metales como el Fe, Cu y Al en los diferentes insumos utilizados en la producción de la fruta, utilizar agua con un pH de entre 6.5 y 7.0, y retrasar el empaquetado por 48 horas para detectar y remover el producto afectado (Crisosto *et al.*, 2000; Crisosto *et al.*, 2009).

El presente trabajo de Tesis se enfocó en determinar la incidencia del entintado en campo de tres variedades de durazno amarillas ('MG8', 'Colegio' y '229') producidas en el estado de Aguascalientes México; cuantificar la presencia de iones metálicos en frutos entintados y no entintados; evaluar los efectos de la presencia de ion Fe(III) y del cepillado de los frutos en el desarrollo del desorden y definir los posibles mecanismos del origen del desorden para plantear estrategias de control en campo y manejo poscosecha.

2. Antecedentes:

2.1 Importancia económica de la producción de durazno.

Actualmente, el durazno es una de las especies frutales con mayor número de variedades comercializadas, su producción ha ido en aumento gracias al uso de tecnologías de cultivo y variedades más eficientes y más adaptadas a las zonas de cultivo.

2.1.1 Producción Mundial.

La producción de durazno en el mundo ha ido aumentando (FAOSTAT, 2020), para satisfacer también las necesidades alimenticias de la población que también crece y que demanda más productos hortofrutícolas para el consumo directo o destinado a producción de productos derivados.

Un análisis de la evolución de la producción de este fruto en el periodo 2010-2020 (Figura 1), señala una clara tendencia al alza; así, en el año 2010 se alcanzó una producción de 20,531,684 ton y en 2019 25,737,841 ton, indicando un incremento de 5,206,157 ton equivalentes a un incremento del 25% respecto de la producción del año 2010, sin embargo, para el año 2020, la producción de durazno a nivel mundial sufrió un decremento.

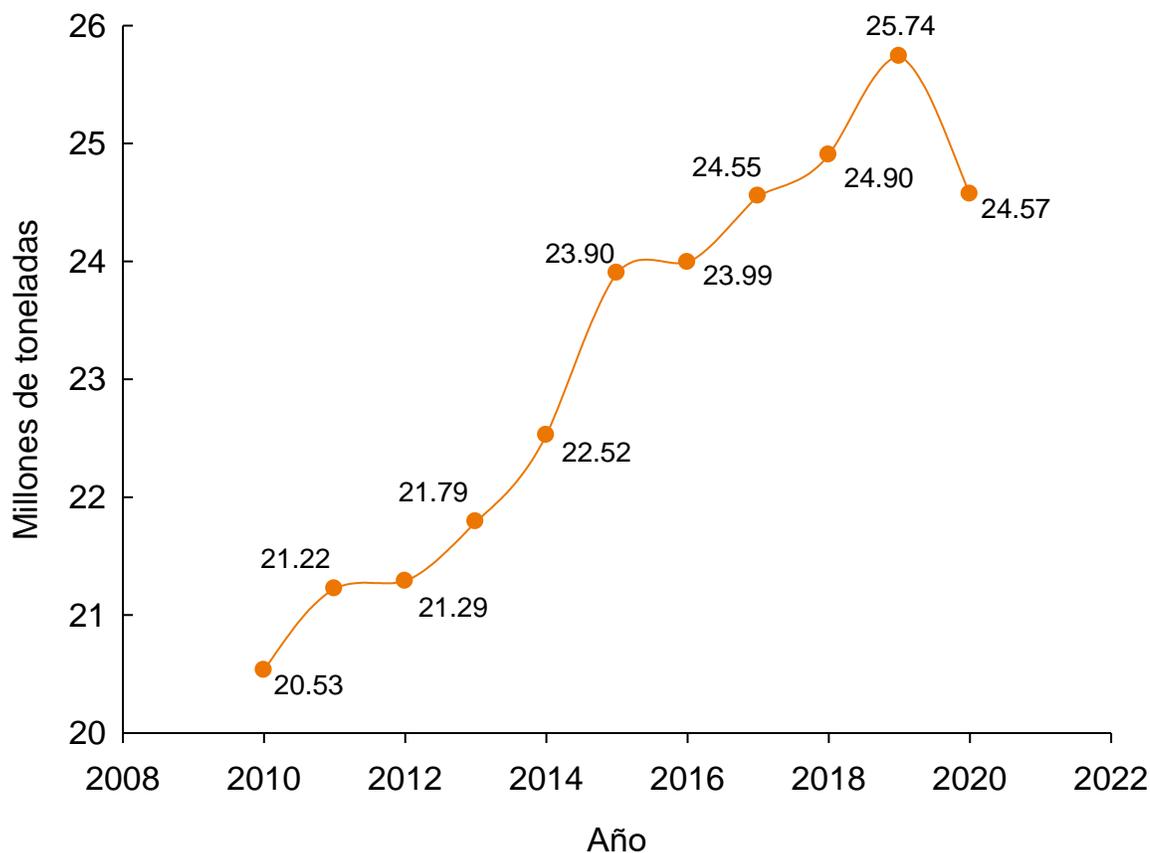


Figura 1: Evolución de la producción mundial de durazno en el periodo de 2010-2020. Fuente: FAOSTAT (2010-2020)

La distribución de la producción señala que Asia es el continente que concentra la mayor producción de durazno; en el 2010 el continente asiático produjo 12,760,458 ton con lo que aportó 62.2%, seguido por Europa con el 21%. En ese continente y a nivel mundial, China ha sido el principal productor de durazno: en el 2010 alcanzó una producción de 10, 592,317 ton que representaron el 83% de la producción total de Asia y el 51% de la producción mundial (FAOSTAT, 2010).

La Figura 2 muestra la participación en los volúmenes de producción de esta fruta de los diferentes continentes para el año 2010. En ese año (2010), mientras que Asia aportaba el 62.2% de la producción, Europa lo hacía con el 21%, América con el 12.4%, África con el 4% y Oceanía con el 0.4%.

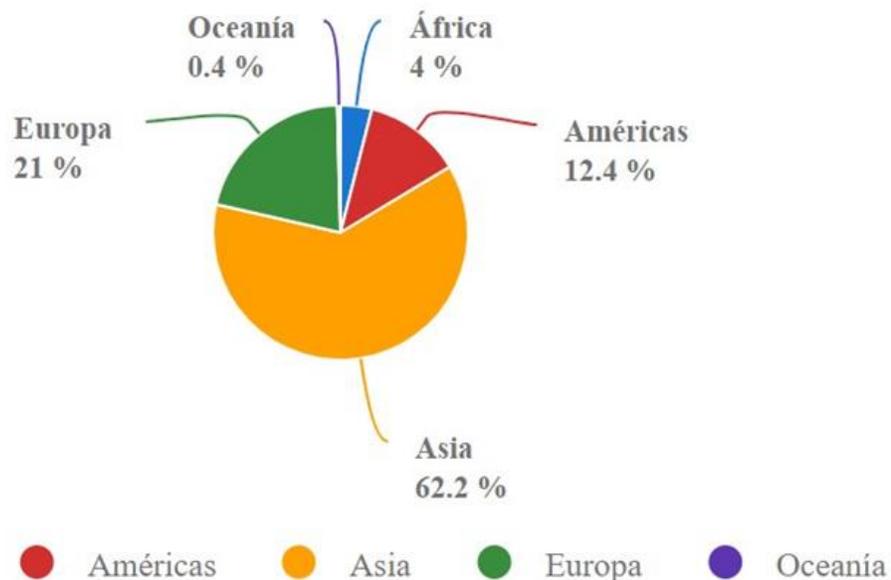


Figura 2: Participación porcentual de los diferentes continentes en la producción de durazno para el año 2010. Fuente: FAOSTAT, 2020.

Para el año 2020, ha habido una concentración mayor de esa producción en Asia quien continúa siendo el continente de mayor producción, pero contribuyendo ahora con el 73.6% mientras que Europa solo aportó el 14.9%, América el 7% y Oceanía el 0.3% (FAOSTAT, 2020); por su parte África se mantuvo con su contribución del 4.3% (Figura 3). La producción en Asia aumentó un 68.67% en 10 años; donde China, continúa siendo el primer productor con 15,016,103 ton, representando el 83.07% de la producción total de Asia y el 61.11% de la producción mundial.

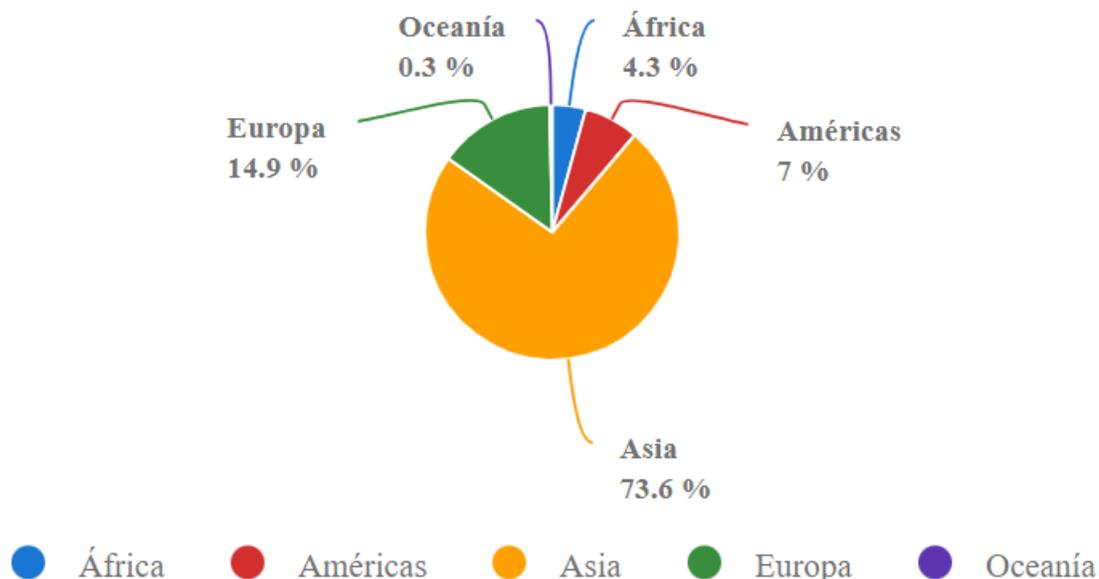


Figura 3: Distribución porcentual por continente en la producción de duraznos en 2020. Fuente: FAOSTAT, 2020.

Estos datos permiten suponer que, aunque la producción mundial se ha incrementado, por el aporte de la producción de Asia, en otras regiones puede estar ocurriendo un descenso. Según los datos de la FAO (FAOSTAT, 2020) se puede comparar las contribuciones de los principales países productores y sus cambios en los años 2010 y 2020 (Tabla 1). China mantiene la primera posición, contribuyendo en ambos años, con más de la mitad de la producción mundial, en 2010 contribuyó con un 51.59%, mientras que en 2020 este porcentaje aumentó a 60.9%. otros países que siguieron una tendencia al alza, aunque en menor proporción respecto a China, fueron Turquía (3.6%), Irán (2.7%) y Egipto (1.4%).

Por otro lado, otros países disminuyeron su producción y participación en el volumen producido. Estos países fueron Italia que pasó de segundo lugar al tercer lugar (4.1%); Estados Unidos que bajó su producción en casi 700 mil toneladas y pasó del cuarto al séptimo lugar (2.3%); Francia bajó su producción en 100 mil toneladas y pasó del noveno al treceavo lugar (0.8%). México también siguió esta tendencia y

disminuyó su producción en 54 mil toneladas y pasó del lugar 13° al lugar 17° (0.7%).

Llama la atención la disminución de la producción de esta fruta en dichos países y en particular en México. Estos movimientos podrían ser explicados por cambios en las importaciones de frutas que hayan desalentado la producción nacional o bien una pérdida en el consumo de la misma.

Tabla 1: Principales países productores de durazno en el mundo y su contribución en la producción global para los años 2010 y 2020. (FAOSTAT, 2020).

2010				2020			
	País	Producción (ton)	% de contribución		País	Producción (ton)	% de contribución
1	China	10,592,317	51.6	1	China	15,000,000	60.9
2	Italia	1,590,660	7.7	2	España	1,306,020	5.3
3	España	1,286,456	6.3	3	Italia	1,015,350	4.1
4	Estados Unidos	1,254,818	6.1	4	Turquía	892,048	3.6
5	Grecia	882,310	4.0	5	Grecia	890,580	3.6
6	Turquía	539,403	2.6	6	Irán	663,564	2.7
7	Irán	512,608	2.5	7	Estados Unidos	560,423	2.3
8	Chile	355,814	1.7	8	Egipto	337,910	1.4
9	Francia	301,096	1.5	9	Chile	307,754	1.3
10	Egipto	273,256	1.3	10	India	265,683	1.1
13	México	227,421	1.1	13	Francia	202,820	0.8
17	Corea del Sur	138,576	0.7	17	México	172,950	0.7

Fuente: FAOSTAT, 2010-2020

2.1.2 Producción nacional de durazno

El duraznero en México es un cultivo importante en las zonas de frío invernal. Mediante los programas de selección de variedades y el uso de tecnologías más eficientes de producción, su cultivo se lleva a cabo en diferentes zonas geográficas del país. La Tabla 2 muestra los principales estados productores de durazno y su participación en la producción nacional en los años 2010 y 2020.

Tabla 2: Principales estados productores de durazno en México y su participación en la producción nacional en 2010 y 2020.

	2010				2020		
	Estado	Producción (ton)	% de contribución		Estado	Producción (ton)	% de contribución
1	Zacatecas	51,747.86	22.8	1	Zacatecas	66,651.71	38.5
2	Michoacán	35,313.56	15.5	2	Chihuahua	30,093	17.4
3	México	30,209.63	13.3	3	Michoacán	25,859.21	14.9
4	Chihuahua	21,337.40	9.4	4	Puebla	23,402.15	13.5
5	Morelos	18,692.11	8.2	5	México	18,006.32	10.4
6	Puebla	18,051.62	7.9	6	Chiapas	11,279.42	6.5
7	Guerrero	9,466.56	4.2	7	Aguascalientes	7,963.86	4.6
8	Chiapas	8,934.32	3.9	8	Tlaxcala	7,585.32	4.1
9	Tlaxcala	5,995.08	2.6	9	Guerrero	7,154.24	4.1
10	Hidalgo	5,118.95	2.3	10	Morelos	4,647.90	2.7

Fuente: SAGARPA, 2010-2020.

Como ya se ha indicado, a nivel mundial México registró una disminución en su producción en 60 mil toneladas en los últimos 10 años. Así mismo los estados productores han mostrado reflejos de esta situación, tal es el caso de Morelos, que en el 2010 ocupó la quinta posición contribuyendo con un 8.2% de la producción nacional total; en el 2020 su producción descendió 14,044.21 toneladas y su

contribución nacional fue del 2.7%. El estado de México que ocupó el tercer lugar en 2010, para el año 2020 disminuyó su producción 12,203.31 ton y ahora ocupa el quinto lugar de la participación. Guerrero disminuyó su producción en 2,312.32 toneladas, por su parte, Hidalgo no aportó producción en el 2020 con lo que se considera que 5,118 ton también forman parte de la tendencia a la menor producción.

Aunque hubo estados que incrementaron su producción como Chihuahua (8,755.6 ton), Chiapas (2,345.1 ton) y Aguascalientes (3,730.09 ton), estos incrementos no sustituyeron las disminuciones de la producción que superaron las 50,000 ton.

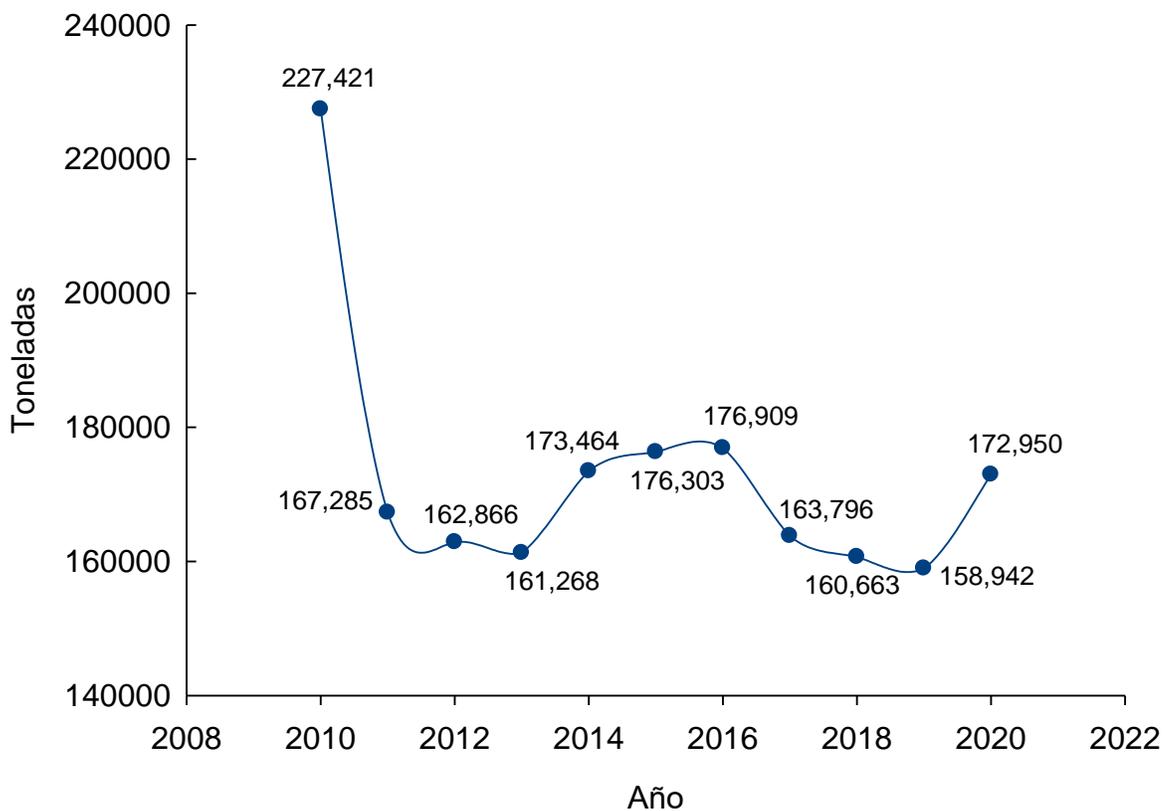


Figura 4: Evolución de la producción nacional de durazno en México en los años 2010 a 2020. Fuente: SAGARPA, 2010-2020.

Los datos anteriores señalan de manera evidente que, la producción nacional de durazno ha ido en declive en los últimos 10 años, sin embargo, para el año 2020 se registra un incremento (Figura 4) (SAGARPA, 2020).

La caída más importante ocurrió entre los años 2010 y 2011, que a pesar de registrar una ligera recuperación en el año 2016, a partir de ese año nuevamente se registró una disminución hasta el año 2019 en el que se registró la producción más baja. No obstante, en el último año, la producción aumentó.

2.1.3 Evolución de las importaciones de durazno al mercado mexicano

Una explicación al desaliento de la producción puede ser debido al incremento en las importaciones de durazno al mercado nacional. La Figura 5, muestra los cambios en las importaciones de este fruto durante el periodo 2010-2020.

En los años 2010 al 2013 las importaciones de esta fruta variaron entre 31,000 y 34,000 ton; aunque estas importaciones sustituyeron parte del mercado que dejó la pérdida de producción nacional, en realidad no cubrieron todo el posible mercado que había dejado la falta de producción nacional.

También estas importaciones sufrieron una baja importante entro los años 2013 hasta 2017 y se han recuperado en los años 2018-2019, sin alcanzar los niveles del 2010-2012, sin embargo, para el año 2020 nuevamente se registró una baja en las importaciones de durazno.

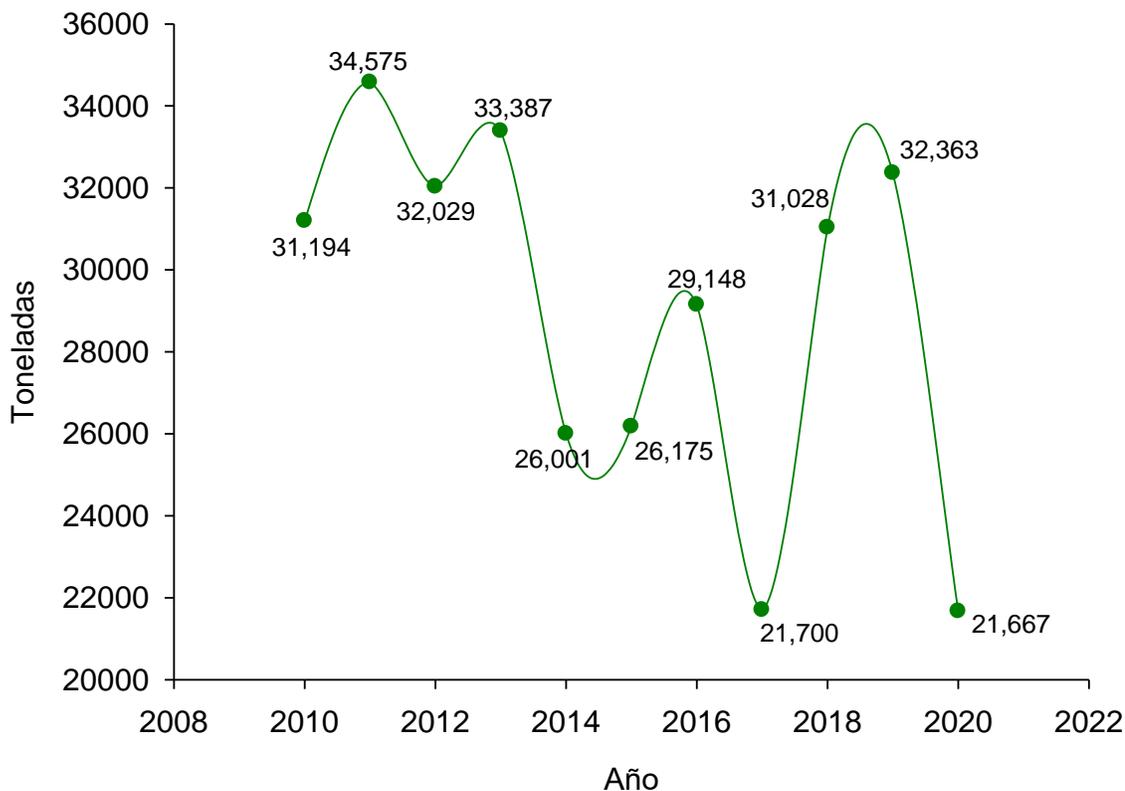


Figura 5: Evolución de la importación de durazno en México en los años 2010 a 2020. Fuente: FAOSTAT, (2020).

Estos datos sugieren que la baja producción no se explica completamente por la entrada de durazno de importación, lo cual sugiere que en el proceso de comercialización de esta fruta están interviniendo otros factores que están limitando su consumo.

Otro factor que puede inducir la baja en la producción es la competencia en el mercado de consumo otras frutas que capturen la atención de los compradores.

Las frutas que coinciden con la misma época de producción del durazno, son el mango y la manzana. En el caso del mango, en el periodo de 2010 a 2020, la producción aumentó un 27.75%; para la manzana se registró un aumento de 22.15%, mientras que para el durazno se registró una disminución en su producción de 23.95% (Figura 6). A diferencia de la manzana y el durazno, el mango ha

incrementado su producción desde el año 2014, y la manzana ha estabilizado su producción alrededor de las 750 mil toneladas.

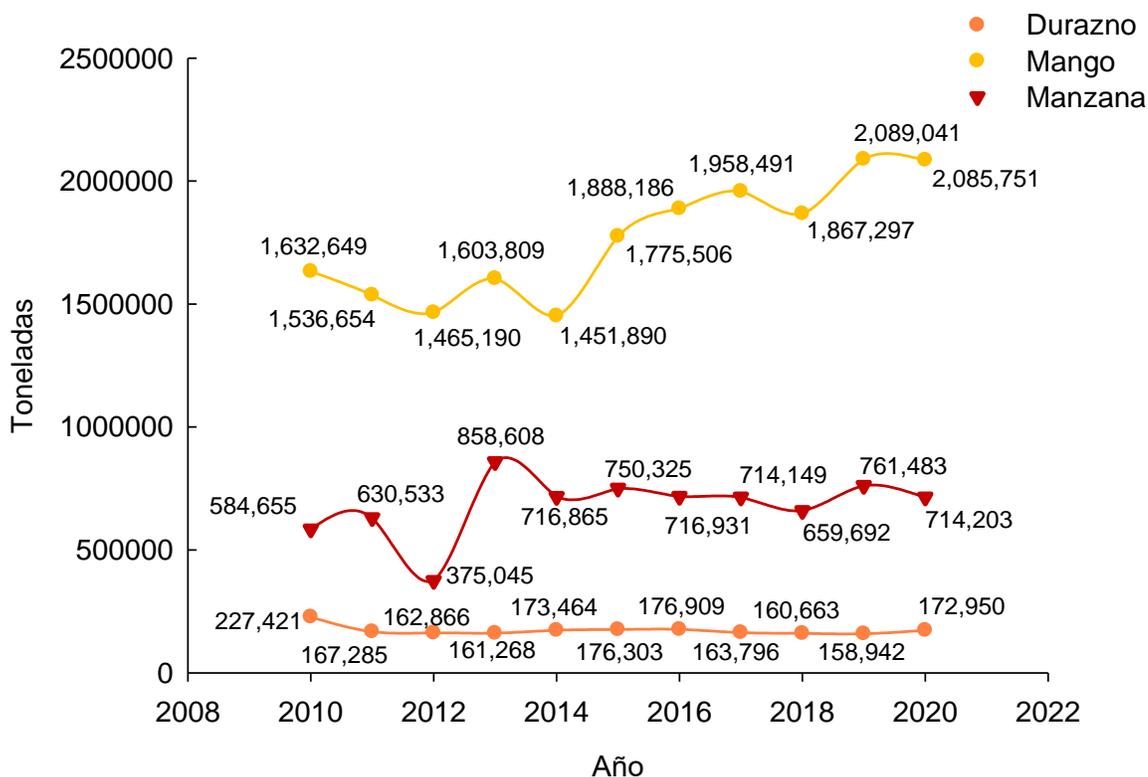


Figura 6: Evolución comparativa de la producción nacional de durazno, manzana y mango en México, en los años 2010 a 2020. Fuente: SAGARPA, 2010-2020.

Este incremento en la producción de mango, se debe a la alta demanda de la población por este producto.

2.1.4 Evolución comparativa del consumo per cápita de durazno, manzana y mango en México.

El cálculo de consumo per cápita en México, para cada uno de estos frutos, se obtuvo mediante los datos de producción del SAGARPA (2020), más los datos de importación, a los cuales se les restó los datos de exportación (FAOSTAT, 2020) y los datos de población del INEGI (2020).

El consumo per cápita de mango como de manzana, es mayor que el de durazno (Figura 7). Cabe destacar que, durante el periodo 2014 a 2020, el consumo de mango aumentó de 9.7 a 13.2 kg per cápita; la manzana bajó su consumo de 9.7 a 7.6 kg en el mismo periodo, y el durazno también bajó de 2.3 a 1.5 kg por persona en el periodo 2010-2020. Estos datos señalan que el durazno no constituye una fruta de primera intención de consumo, desalentando así su producción, por ello la presencia de mango y manzana en el mercado son un elemento disuasorio para la compra de durazno.

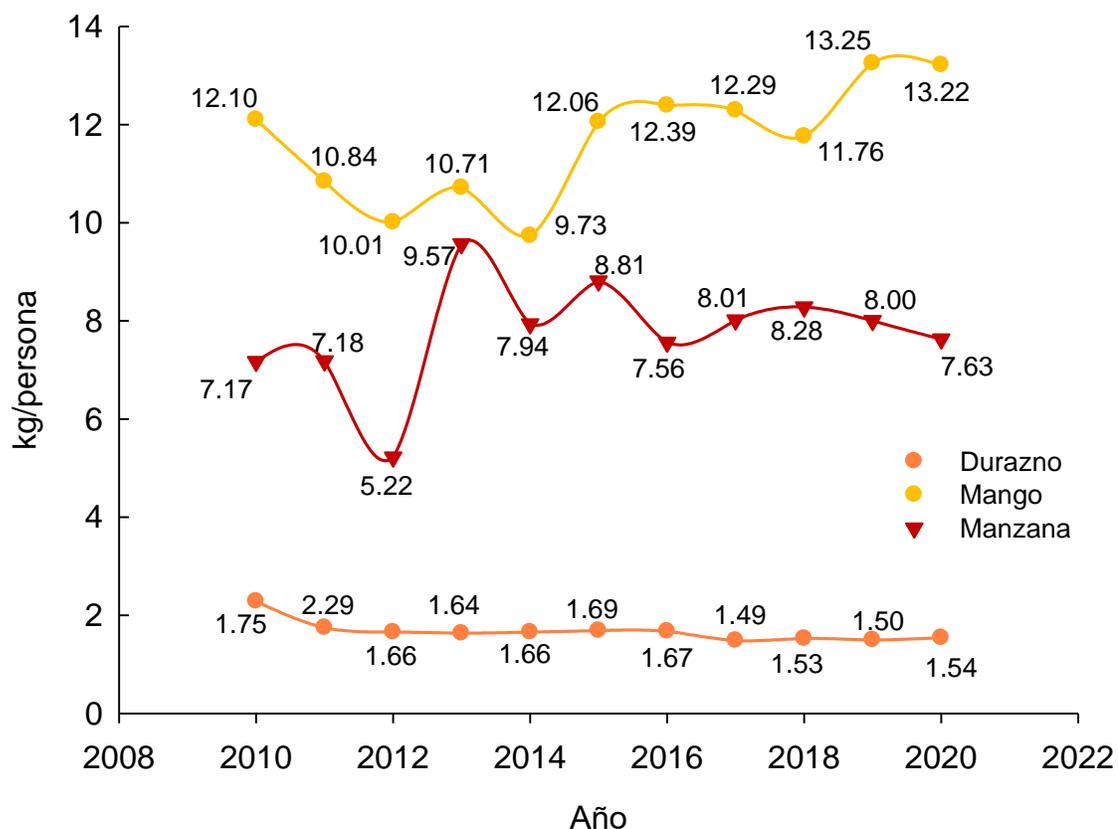


Figura 7: Evolución del consumo per-cápita de durazno, manzana y mango, en México de 2010 a 2020. Datos calculados a partir de la producción nacional, importaciones y exportaciones, y los registros de población registrada por el INEGI. Fuente: FAOSTAT, 2020; SAGARPA, 2010-2020; INEGI, 2010-2020.

Otro factor que podría tener un impacto significativo en la disminución del consumo; son los precios por kilogramo del fruto, que se traducirían en el precio en el que los productores venden el producto. En los últimos 10 años, el durazno, ha tenido precios significativamente mayores que el mango o la manzana (Figura 8).

El mango, durante el periodo 2010-2020, ha tenido precios hasta dos veces menores que el durazno; mientras que la manzana ha tenido fluctuaciones durante esta década, sin embargo, sus precios en la mayoría se mantienen por debajo que el durazno. Esto nos indica que, al tener un precio mayor, el consumidor decide productos más accesibles en precio como el mango o la manzana.

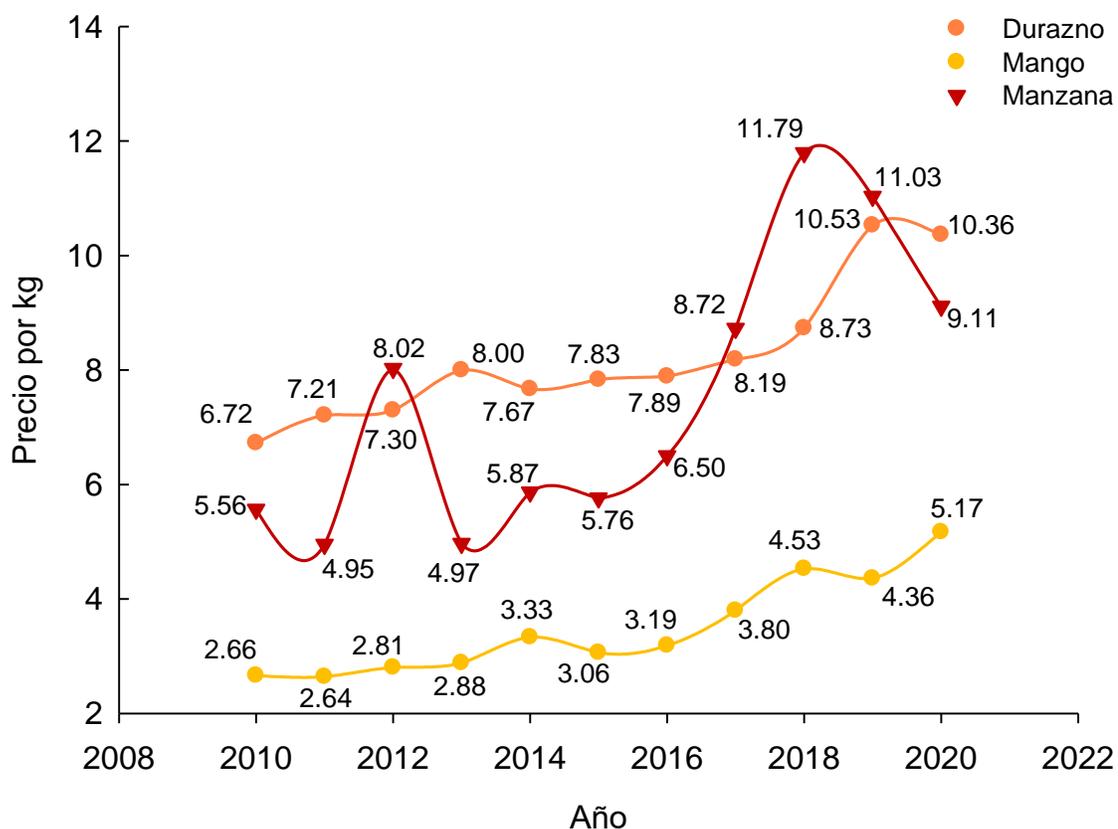


Figura 8: Evolución del precio por kg de durazno, manzana y mango, en México de 2010 a 2020. Datos calculados a partir del valor agregado y la producción nacional de cada año. Fuente: SAGARPA, 2010-2020.

Los datos anteriores muestran una problemática importante en el cultivo del durazno que se resume de la siguiente forma: hay un declive en la producción, que puede estar motivada por una competencia en el mercado con otros frutos de alta aceptación y menores precios al consumidor. No obstante, estos datos no muestran si en esa tendencia de baja en el consumo, están implícitos factores de calidad en el producto, que también estén influyendo en la decisión de compra de los consumidores.

2.2 Características generales del durazno

El durazno es un fruto de hueso, originario de China, dentro de este grupo se encuentran las ciruelas, cerezas, albaricoques, entre otras especies (Lockwood & Myers, 2005).

El durazno es una drupa redonda y ovalada de 4 - 10 cm de diámetro (Cárdenas & Fischer, 2013). El fruto tiene una epidermis delgada, con coloraciones que va desde verde amarillentas, a rojizo o púrpura dependiendo de la variedad y del estado de madurez. Su pulpa (mesocarpio), es carnosa y con tonalidades blancas, amarillas o rojizas, tiene un sabor dulce y puede tener notas ligeramente aciduladas, esta pulpa puede estar adherida o no al hueso, dependiendo de la variedad (Araya *et al.*, 2006).

El durazno es considerado como un fruto climatérico, y puede madurar aun cuando ya fue retirado de la planta, donde se manifestará un aumento en la respiración, llegando a un punto máximo al inicio de la maduración, y posterior habrá una producción elevada de etileno que controlará la velocidad de madurez del fruto (Fernández-Trujillo *et al.*, 2007; Omboki *et al.*, 2015). Diferentes autores indican diferentes tasas respiratorias en distintas variedades, Brovelli *et al.*, en 1999 reportaron tasa respiratoria entre 59 y 102 mg CO₂/ kg*h, mientras que Santana *et al.*, en 2011, reportaron que para la variedad “Douradao”, la tasa de respiración

oscilaba entre 95 mg CO₂/kg*h al inicio de la maduración, y posteriormente podría alcanzar valores entre 120-130 mg CO₂/mg*h.

El incremento en la tasa respiratoria, también señala una mayor hidrólisis del almidón y por tanto un incremento de los sólidos solubles totales, además de los cambios en el color de la epidermis y la pulpa, se reduce la acidez total titulable y el fruto presenta una firmeza menor (Altube *et al.*, 2001), este último cambio podría considerar un parámetro clave para determinar estándares de calidad y consumo, considerando de igual manera importantes, cambios en características organolépticas como el olor y el color (García- Taín *et al.*, 2011).

2.2.1 Composición nutricional

La composición nutricia del durazno por 100 g de muestra húmeda se muestra en la Tabla 3:

Tabla 3: Composición nutricia del durazno. Fuente: USDA Nutrient.

Componente	Cantidad
Energía	42 kcal
Agua	88.3 g
Proteína	0.91 g
Lípidos totales	0.27 g
Carbohidratos	10.1 g
Fibra dietética total	1.5 g
Azúcares	8.39 g
Calcio (Ca)	4 mg

Hierro (Fe)	0.34 mg
Magnesio (Mg)	8 mg
Fósforo (P)	22 mg
Potasio (K)	122 mg
Sodio (Na)	13 mg
Zinc (Zn)	0.23 mg
Vitamina C	4.1 mg

El fruto del durazno, se reconoce como fuente de fenoles, en particular del ácido clorogénico el cual se reconoce por sus propiedades antioxidantes que complementa de manera notable a la acción del ácido ascórbico en particular cuando el fruto es sometido a situaciones de estrés oxidativo (Kalinowska *et al.*, 2022).

De manera convencional los durazno se reconocen de acuerdo a su adherencia del mesocarpio o pulpa a la semilla o hueso, reconociendo los duraznos de pulpa pegada o despegada al hueso. Las variedades utilizadas en este estudio pertenecen a frutos con pulpa adherida al hueso.

La clasificación de semilla adherida al mesocarpio, se puede subdividir dependiendo de la tonalidad del mesocarpio, clasificándose en: de mesocarpio blanco, amarillo o rojizo, siendo la de color amarillo la que tiene un mayor valor comercial debido a que es la más común.

De acuerdo a los antecedentes anteriormente planteados, el presente trabajo de tesis de Maestría se enfocó a identificar los principales factores involucrados en la

generación del entintado en frutos de durazno producidos en la zona de Aguascalientes, México.

2.3 Calidad del durazno

La calidad del durazno en fresco, está determinada en primer lugar por factores como color, forma, tamaño, ausencia de defectos; en segundo lugar los factores de textura y/o resistencia mecánica; en tercer lugar se encuentran los factores asociados al sabor como los °Brix, acidez, contenido de azúcares y fenoles y finalmente los factores de inocuidad química y microbiológica (Minas *et al.*, 2018). Sin embargo, los conceptos de calidad pueden variar de acuerdo a los actores en los diferentes puntos de la cadena de manejo del producto (productores, empacadores y consumidores).

En el caso de los productores se toma muy en cuenta el rendimiento, las dimensiones, y la resistencia a enfermedades como aspectos de importancia en la calidad del fruto. En el área de empaquetamiento se consideran la firmeza y textura las propiedades más importantes, debido a que como el durazno es un fruto perecedero y que puede deteriorarse, se busca que la firmeza y textura sean adecuados para facilitar el transporte, almacenamiento y tener una vida de anaquel poscosecha prolongada. Por último, y la definición que normalmente es la que se toma en mayor consideración, es la del consumidor; esta toma características como la apariencia, el tamaño, la textura y el sabor, nutricionales y beneficios a la salud, además de propiedades sensoriales (Minas *et al.*, 2018). La calidad deseada por el consumidor se podría alcanzar en la cosecha, sin embargo, debido a que el durazno es un fruto climatérico, su madurez idónea se alcanza después de la cosecha y se requiere tomar en cuenta factores precosecha, que puedan influir en la calidad del fruto.

Para considerar un durazno apto para el consumo, debe cumplir con ciertos estándares de calidad establecidos en normas oficiales nacionales e

internacionales. La calidad y aceptación, va a estar en función de la apariencia, textura y características organolépticas que tenga el fruto, las más importantes para definir la calidad son: forma, color, ausencia de defectos, tamaño, peso (Bastidas-Parrado *et al.*, 2015).

Además, también se toman en consideración otros parámetros de calidad que involucran características fisicoquímicas del fruto como: acidez, contenido de azúcar (°Brix) y algunos compuestos volátiles que determinan el aroma del fruto (Bastidas-Parrado *et al.*, 2015).

2.3.1 Normatividad mexicana

En México se usa como referencia para el cumplimiento de los estándares de calidad de frutos de durazno, la norma NMX-FF-060-SCFI-2009: “Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- fruta fresca- durazno y nectarina (*Prunus persica* L.) Batsch- Especificaciones y Métodos de prueba.”

Dentro de esta norma se establecen, las especificaciones de calidad del durazno, en sus distintas variedades que pueden ser comercializadas en estado fresco en todo el territorio nacional. Dentro de la norma no se incluyen los duraznos que son destinados al sector industrial.

La norma específica tres grados de calidad: Extra, Clase I, Clase II. Dentro de las especificaciones de calidad visual se indica que, los duraznos deben ser: enteros, sanos y limpios, exentos de daños físicos, mecánicos, plagas y enfermedades, libres de pesticidas, no deben presentar olor y/o sabor extraño, deben estar en un estado de maduración que resista el manejo y transporte, y que asegure que tenga las características deseadas, al momento de llegar al consumidor, de olor, color, y sabor características de acuerdo a la variedad.

Cada grado de calidad tiene sus propias especificaciones. Los frutos de calidad Extra, son los frutos con la mejor calidad, con un tamaño igual o mayor a 55 cm de diámetro, y con uniformidad visual. Los duraznos Clase I, tienen una calidad buena,

deben presentar el mismo tamaño que los Extra, para ambos grupos se aceptan frutos con grado de daño en su superficie de máximo 5%. Los duraznos Clase II, presentan una calidad buena y el mismo tamaño que los otros dos grupos, para este grupo se aceptan frutos con un grado de daño máximo 7%.

Dentro de esta Norma, destacan dos definiciones sobre lo que debemos considerar como un defecto en el producto: se define “defecto menor alto” como aquel defecto que no afecta la aceptación del fruto de forma considerable, y que puede ser consumido en fresco ya que no se ven afectadas las condiciones organolépticas del fruto; estos defectos pueden ser: raspaduras, manchas superficiales, daños por insectos, daños por granizo y frutos que estén cicatrizados en el área de la sutura, el fruto que presente este tipo de defecto, no puede tener un área de daño mayor a 11% de la superficie total del fruto.

Otra definición importante es la de “defecto menor bajo”, que se define como aquel daño que no afecta la aceptación por el consumidor de manera considerable, puede ser consumido en fresco y no se afectaron sus condiciones organolépticas; dentro de estos defectos pueden ser: raspaduras, manchas superficiales, daños por insectos, daños por granizo y frutos que estén cicatrizados en el área de la sutura; el fruto que presente este tipo de defecto, no puede tener un área de daño mayor al 4.2% de la superficie total del fruto.

En cuanto a especificaciones microbiológicas, la norma marca que los duraznos deben tener menos de 100 U.F.C de *E.coli* y ausencia de *Salmonella* en 25 g de muestra.

2.3.2 Normatividad de Estados Unidos

En los Estados Unidos, se usa como referencia para el cumplimiento de los estándares de calidad, la “United States Standars for Grades of Peaches” (USDA, 2004).

Dentro de esta norma se establecen, las especificaciones de calidad del durazno, análogamente a la norma mexicana, esta norma establece cuatro grados de calidad: U.S Fancy, U.S Extra No.1, U.S. No, 1 y U.S No. 2.

Para el caso de los duraznos dentro de la clasificación U.S Fancy, son frutos que están maduros, pero no tienen una textura ni demasiado blanda, ni demasiado madura. Son frutos bien formados, libres de manchas bacterianas, cortes, grietas, lesiones, hueso partido, agujeros por gusanos, lesiones, magulladuras, suciedad, u otro material extraño, enfermedades o insecto. Deben tener no menos de 1/3 de su superficie con color rosado o rojizo.

Los frutos de la clase U.S Extra No.1, son duraznos que deben cumplir con los estándares de los U.S No.1, pero que además el 50% de los duraznos por lote, deberá tener no menos $\frac{1}{4}$ parte de su superficie con color rosado o rojizo. Duraznos pertenecientes a la clase U.S. No.1, son frutos que están maduros, pero no tienen una textura ni demasiado blanda, ni demasiado madura. Son frutos bien formados, libres de manchas bacterianas, cortes, grietas, lesiones, huesos partidos, agujeros por gusanos, lesiones, magulladuras, suciedad, u otro material extraño, enfermedad o insecto.

Por último, la clase U.S. No.2, son duraznos que están maduros, pero no tienen una textura ni demasiado blanda, ni demasiado madura. Deben estar libres de pudrición, pueden presentar cierto grado de deformación, no deben tener grietas, gusanos, magulladuras, suciedad, manchas, daños, hoyos u alguna enfermedad.

Dentro de la norma, se permiten ciertas variaciones o defectos relacionadas con la clasificación y el manejo adecuado de cada uno de ellos.

Para el caso de las clases: U.S. Fancy, U.S. Extra No.1 y U.S. No. 1; se permiten cierto porcentaje de tolerancia de frutos dañados dependiendo del punto donde sufrió el daño. Por defectos en el punto de envío, se permite que el 10% de los duraznos en cualquier lote, no cumpla con los requisitos de calidad para cada grado específico; por defectos en ruta a destino, está permitido que el 14% de los frutos

en cualquier lote, no cumpla con los requisitos de calidad; por último, defectos por color, se permite que el 10% de los frutos no cumpla con los requisitos de color característico.

La clase U.S. No. 2, se permiten los mismos porcentajes para frutos dañados por defectos en el punto de envío y defectos en ruta de destino. Para el caso de defectos por color, no se marca porcentaje permitido para esta clase.

La norma define términos importantes para identificar la calidad del fruto. En primer lugar, se define el término de “maduración”, que se define como el durazno que ha alcanzado la etapa de crecimiento que asegura una finalización adecuada del proceso de maduración.

En segundo lugar, se define “bien formado”, como aquel fruto que tiene la forma que puede ser ligeramente irregular pero no hasta el punto en que su apariencia se vea afectada. “Lesión por frotamiento de hojas o extremidades”, se define como una cicatriz que no es “suave”, no tiene color claro o se encuentra en más de $\frac{1}{4}$ de pulgada de diámetro. “Muy deforme”, hace referencia a frutos que están claramente deformados y que su apariencia se ve seriamente afectada.

Finalmente, se define los términos “daño” y “daño severo”; para el caso de “daño”, se define como cualquier lesión o defecto que afecte la apariencia y la calidad del fruto; dentro de los daños se encuentran: manchas bacterianas, manchas de costra, escamas, lesión por granizo, frotaciones de hojas o ramas, hueso partido.

Para el caso de “daño severo” hace referencia a cualquier lesión o defecto que afecte seriamente la apariencia y calidad del fruto; dentro de estos daños se encuentran los mismos daños ya mencionados anteriormente, pero en este caso en la mayoría de la superficie del fruto, se agregan además daños como fosa dividida, duraznos suaves o demasiados maduros y frutos con gusanos o agujeros por gusanos.

2.4 Factores que afectan la calidad de durazno.

Existen diferentes tipo de daños y defectos que el durazno puede sufrir durante su producción y manejo poscosecha, que puede repercutir en la aceptación por el consumidor. Es importante conocer el origen de estos defectos para establecer estrategias y soluciones para evitarlo. En este apartado, se describen algunos factores pre cosecha y poscosecha que generan defectos en el fruto y que deben ser considerados durante la producción hasta su empaque.

2.4.1 Factores pre cosecha

Dentro de los factores pre cosecha que afectan la calidad del fruto se consideran los siguientes:

- Genéticos: como la variedad utilizada en la producción, el porta injerto utilizado como sostén de la variedad de producción.
- Ambientales: que incluyen el clima, régimen de lluvia, temperatura, luz, humedad relativa, viento.
- Factores de cultivo: tipo de suelo, sistema de riego, nutrición, podas, raleo, control de plagas, y enfermedades.
- Cosecha: momento y método de cosecha.

2.4.1.1 Genotipo o variedades y factores ambientales.

La variedad cultivada tiene una contribución importante en el sabor, la composición nutrimental y el potencial de vida de anaquel. Así mismo, el contenido de sólidos solubles totales y la acidez pueden estar definidos también por la variedad y el portainjerto (Liverani *et al.*, 2002; Byrne, 2003).

La elección adecuada de la variedad, para ciertas condiciones ambientales del sitio de cultivo, reducen la posibilidad de trastornos fisiológicos, presencia de defectos de forma ataque de enfermedades y presencia de plagas que pueden alterar la

calidad visual y vida de anaquel de los frutos. Actualmente, en cada país existen programas de mejoramiento genético de este frutal, con la finalidad de crear variedades que mejoren la producción (mayores rendimientos y resistencia a enfermedades) y mejor calidad visual o apariencia del producto. Por ello, los programas de mejoramiento de cada país tienen que desarrollar variedades que mejor se adapten a cada una de las zonas de cultivo (Crisosto & Costa, 2008).

En México, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrarias y Pecuarías (INIFAP), en su programa de mejoramiento genético de durazno, ha dividido las zonas de producción de durazno en el país por su ubicación sobre el nivel del mar, las horas de frío que alcanzan durante el año y época de producción (tradicional y fuera de temporada) (Tabla 4). En función de esta distribución de zonas productoras, se han generado variedades que se aproximan a las condiciones ambientales de esas zonas (Fernández-Montes *et al.*, 2011).

Tabla 4: Zonas de producción de durazno en México en base a su altitud, horas de frío y época de producción.

Región	Estados o Municipios	Altitud msnm	Horas frío 2 a 8 °C	Época de floración	Época de cosecha
Sierra 1	Bachiniva-Cuauhtémoc, Chih	2000-2500	Más de 900	Mar-Abr	Jun-Oct
Sierra 2	Sombrete, Zac. Arteaga, Coah.	2200-2600	550 a 850	Mar	Jun- Oct
Sierra 3	Puebla, Tlaxcala, Michoacán y Oaxaca	2300-2700	400 a 800	Feb-Mar	May-Oct

Sierra 4	México, Morelos, Michoacán, Jalisco, Chiapas	2100- 2200	250 a 350	Oct-Ene	Abr-Jun
Valle 1	Casas Grandes, Chih.	1800- 2200	750 a 900	Mar-Abr	Jun-Oct
Valle 2	Delicias y Camargo, Chih	1700- 2000	450 a 600	Feb-Mar	May-Sep
Valle 3	Aguascalientes y Jerez, Zac.	1900- 2100	350 a 460	Feb-Mar	Jun-Oct
Media	Michoacán, México, Morelos, Puebla	1600- 1800	150 a 250	Oct-Ene	Ene-Jun
Media Baja	Michoacán, México, Morelos, Puebla	1400- 1600	100 a 200	Oct-Ene	Dic-May
Baja	Sonora	200-600	Menos de 100	Ene	Mar-May

Fuente: Fernández-Montes *et al.*, 2011.

La zona productora del Valle de Aguascalientes, está ubicada a una altitud de 1900-2100 msnm, con posibilidades de cultivo de variedades cuyos requerimientos de frío son de 300 a 450 horas de frío y época de cosecha convencional de Mayo a Agosto donde se plantan las variedades 'MG8' y 'San Carlos', plantadas sobre porta injerto de la variedad Diamante.

Aunque las variedades actualmente disponibles puedan haber sido generadas por un mejor desempeño en cada una de las regiones, es posible que las condiciones de cultivo y el cambio climático general estén modificando el comportamiento de dichas variedades y por tanto modificando su calidad de los frutos.

2.4.1.2 Factores de Cultivo

2.4.1.2.1 Nutrición mineral

La planta debe tener una nutrición mineral balanceada para que tenga un desarrollo y crecimiento óptimo. Se debe tener una nutrición con los nutrimentos minerales esenciales durante el ciclo de producción y evitar una nutrición deficiente, en exceso o desbalanceada (Crisosto & Costa, 2008). Hay minerales que tienen un papel importante en la nutrición de la planta.

El nitrógeno es el mineral con mayor efecto en la calidad del durazno, Tagliavini *et al.*, (2000) señalaron que el contenido de nitrógeno en la planta debe permanecer en un rango entre 2.6 y 3% del peso fresco de las hojas para que el durazno alcance una calidad idónea, sin que haya una reducción en el tamaño del fruto o se reduzca la producción del mismo.

Una nutrición excesiva o deficiente de nitrógeno tiene repercusiones en la calidad del fruto; el exceso de nitrógeno puede provocar cambios en la coloración de la piel, inhiben el crecimiento, retrasan la madurez, limitan el cambio de color, reducen el contenido de sólidos solubles totales. Como consecuencia de este exceso, los frutos no presentan un color acorde a la etapa maduración en la que se encuentra. Los productores de durazno, retrasan la cosecha con la expectativa de que el fruto presente el color adecuado, y al momento de cosecharlos, los frutos ya presentan un ablandamiento, reduciendo su vida de anaquel y aumentando su posibilidad a presentar descomposición (Crisosto & Costa, 2008) representando pérdidas en la producción.

Por otro lado, una deficiencia de nitrógeno conduce a frutos con tamaño reducido, con un sabor desagradable y menor rendimiento por hectárea.

Otro nutriente importante es el calcio, este está involucrado en varios procesos bioquímicos y morfológicos de la planta, no obstante, también está implicado en múltiples desordenes que pueden impactar en la comercialización, producción y

calidad del durazno. Se ha indicado que en otros frutos la acumulación de calcio ocurre en las primeras etapas de desarrollo del fruto, mientras que, en el durazno, debido a su capacidad de mantener tasas de transpiración significativas, acumula el calcio hasta que se presenta el momento de la cosecha (Tagliavini *et al.*, 2000). Esto puede indicar que los frutos pueden tener deficiencia de calcio en el momento de la cosecha con consecuencias en la firmeza y calidad del fruto

Las aplicaciones de este elemento se realizan en forma de aspersiones foliares, sin embargo, se debe tener precauciones para evitar exposiciones a otros elementos que puedan generar defectos en la calidad del fruto debido a que estas aspersiones pueden contener metales pesados (Fe, Al, Cu) que pueden ocasionar un oscurecimiento en la piel del fruto (Crisosto & Costa, 2008).

En cuanto al potasio, es el principal nutriente presente en los duraznos, de manera similar al calcio, se acumula progresivamente a medida que el fruto se acerca a su estado de madurez óptimo (Tagliavini *et al.*, 2000). Cuando la planta tiene una nutrición óptima de potasio, se presentan altas tasas de fotosíntesis y se presenta una mejor redistribución de azúcares y ácidos orgánicos que conducen a una mejora en la calidad del fruto (Crisosto & Costa, 2008).

Por último, el hierro se absorbe en cantidades pequeñas, aunque una deficiencia de este nutriente puede conducir a una afectación en los rendimientos del fruto y su calidad (Álvarez-Fernández *et al.*, 2003). Un estudio realizado en España, reporta que el 47% de los frutos que presentaban una deficiencia de Fe, tenían un tamaño de fruto deficiente (Álvarez-Fernández *et al.*, 2003). Asimismo, el color del fruto se ve afectado por una deficiencia de este nutriente, se presentan bajos valores en la coordenada del color “a” y mayores valores en las coordenadas “L” y “b” (Crisosto & Costa, 2008).

2.4.1.2.2 Irrigación

Paralelamente a los factores mencionados, un suministro de agua apropiado a la tierra o cultivo para su desarrollo y crecimiento es relevante. En árboles que crecen sin riego durante una temporada, se ven afectados sus rendimientos, el tamaño de los frutos es reducido, la textura del fruto es anormal, y el contenido de sólidos solubles totales aumenta (Ben-Mechlia *et al.*, 2002; Crisosto & Costa, 2008).

La planta puede estar sometida a un estrés hídrico debido a la reducción en la cantidad de agua suministrada, esto provoca defectos en el fruto como formación de frutos dobles o sutura profunda (Layne & Bassi, 2008).

Se han utilizado técnicas de riego, como la técnica de déficit de riego regulado (RID por sus siglas en inglés), que impone un estrés hídrico en el fruto, con la finalidad de reducir el crecimiento vegetativo y ahorrar agua en una determinada etapa fenológica del cultivo, sin mostrar afectaciones en el rendimiento, aumentando, en ciertas ocasiones, el tamaño del fruto y el contenido de sólidos solubles totales (Goldhamer *et al.*, 2002).

2.4.1.2.3 Manejo de la planta

Se le denomina dosel a la región que se encuentra en la parte superior del árbol, también conocida como canopia o copa del árbol. Es importante realizar la práctica de raleo o “thinning”, que consiste en remover el exceso de frutos en el árbol, con la finalidad de mejorar el tamaño y calidad de los frutos que permanecen en el dosel, aunque puede haber una disminución en el rendimiento, la calidad lograda de los frutos remanentes es mejor (Crisosto & Costa, 2008).

Diferentes estudios han demostrado que un exceso de frutos en el árbol, reduce el tamaño del mismo, se disminuyen el contenido de sólidos solubles totales y el fruto no alcanzar una maduración adecuada. Al haber un mayor número de frutos, los

fotosintatos se distribuyen en todos ellos, disminuyendo su tamaño y su composición (Costa *et al.*, 2006). A este respecto Anthony *et al.*, (2020), evaluaron el efecto de diferentes grados de raleo (Figura 9) en el rendimiento, peso del fruto, diámetro y color de los frutos. El rendimiento, carga de frutos, número de frutos por árbol y producción, disminuía a medida que el raleo era mayor; mientras que el peso del fruto, su diámetro y, color aumentaron (Tabla 5 y Figura 10).

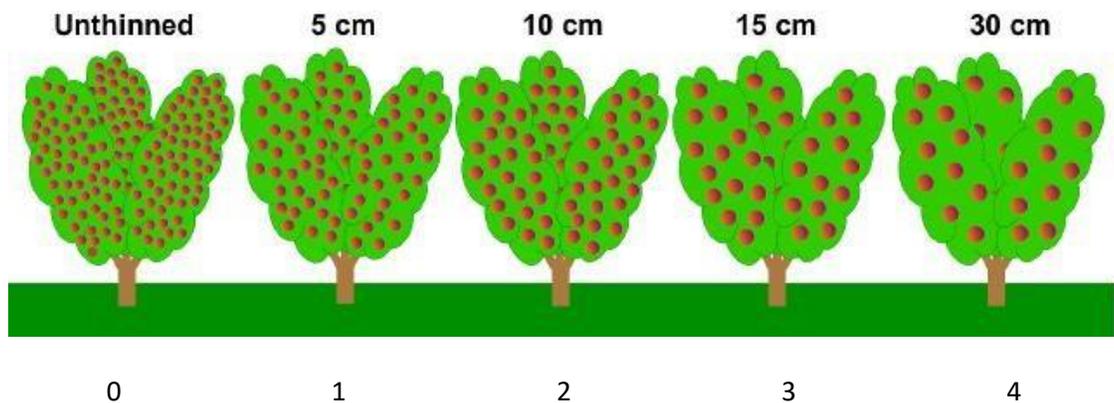


Figura 9: Tratamiento de raleo aplicados a árboles de durazno. (0) Se removió el excedente de frutos, y los frutos restantes tenían una separación de 5 cm (1), 10 cm (2), 15 cm (3) y 30 (4) entre sí. (Anthony *et al.*, 2020).

Tabla 5: Efecto de la severidad del raleo sobre la fisiología del durazno y los atributos de calidad externa del fruto (Anthony *et al.*, 2020).

Tratamiento De raleo	No. De frutos por árbol	Carga del cultivo (no. De frutos/cm ²)	Rendimiento (kg/árbol)	Producción (MT/ha)	Peso promedio del fruto (g)	Diámetro (mm)	Color (%)
Sin raleo	731 ± 51	11.8 ± 0.27	61.5 ± 6.9	31.2 ± 3.5	84.6 ± 9.3	57 ± 0.4	64 ± 1.0
5 cm	346 ± 43	5.7 ± 0.72	53.6 ± 3.6	27.2 ± 1.8	157.4 ± 10.4	69 ± 0.3	59 ± 1.0
10 cm	220 ± 45	3.6 ± 0.62	40.5 ± 9.7	20.6 ± 4.9	181.5 ± 6.5	75 ± 0.3	67 ± 0.8
15 cm	169 ± 21	2.6 ± 0.27	38.5 ± 4.0	19.5 ± 2.0	228.6 ± 7.6	78 ± 0.3	68 ± 0.9

30 cm	111 ± 5	1.6 ± 0.18	27.8 ± 1.6	14.1 ± 0.8	249.9 ± 13.7	80 ± 0.4	71 ± 0.8
Significancia	***	***	**		***	***	***

*, **, *** indican que no son significativos o que son significativos a valores de p <0.05, 0.01 o 0.0001.

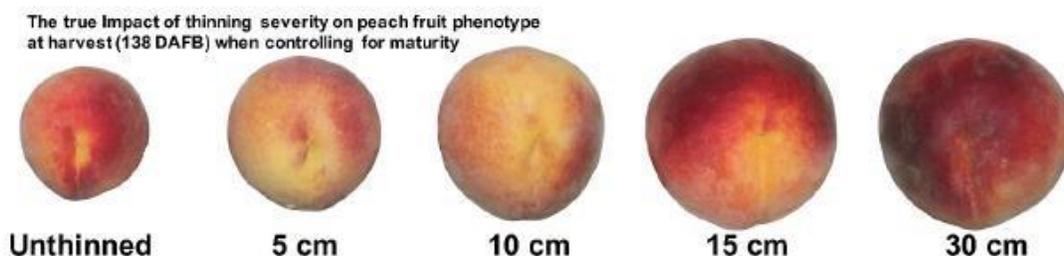


Figura 10: Impacto en las características y calidad de frutos de duraznos sometidos a diferentes intensidades de raleo (Anthony *et al.*, 2020).

Sin embargo, no solo remover el exceso de frutos es importante; la posición del fruto dentro del dosel tendrá un impacto en la calidad del fruto. Los frutos expuestos a ambientes de mucha luz (parte exterior del dosel) tienen mejor tamaño, mayor contenido de sólidos solubles y acidez, y una vida útil más larga; que los frutos expuestos a ambientes de poca luz (parte interior del dosel). Por ello es necesario realizar podas, para permitir mayor penetración de la luz en las partes del interior del dosel (Forlani *et al.*, 2002).

Dentro de las prácticas de cultivo que afectan la calidad de los frutos es el anillado o “grinding”, que es la interrupción del flujo de fotosintatos a las partes bajas del árbol mediante la eliminación de una sección circular de corteza; esto permite un aumento en el tamaño del fruto, en el contenido de sólidos solubles totales, y contenido de compuestos fenólicos del fruto. Sin embargo, también puede conducir a que los frutos tengan huesos partidos, que presentarán un ablandamiento más rápido y serán más susceptibles a la descomposición (Layne *et al.*, 2001). No obstante, esta práctica es complicada para llevarse a cabo en operaciones comerciales y por ello no se aplica.

2.4.1.2.4 Factores patológicos que afectan la calidad

2.4.1.2.4.1 Pudrición café

Las enfermedades ocasionadas por hongos, se consideran de gran importancia ya que ocasionan grandes pérdidas económicas. Dentro de las que más afectan al durazno están la pudrición café (*Monilinia*) y el moho gris ocasionado por *Botrytis cinérea* (Zhang *et al.*, 2019).

La pudrición café en los duraznos es causada por especies del género *Monilinia*, en particular *M. frutícola*, se le considera la enfermedad fúngica más importante y más predominante en durazno (Yañez-Mensizábal, 2012).

Este hongo se desarrolla en climas húmedos, puede iniciar como una infección en la flor y se puede desarrollar en la fruta durante la maduración, el almacenamiento, y transporte (Figura 11) (Larena *et al.*, 2005). La evolución de este patógeno puede ocasionar pérdidas elevadas, alcanzando hasta el 90% (Larena *et al.* 2005).

El método más utilizado para prevenir la pudrición por *Monilinia*, es el control químico mediante fungicidas (Yañez-Mensizábal, 2012), sin embargo, se busca limitar el uso de los agentes químicos debido a la demanda de los consumidores por tener productos libres de residuos (Usall *et al.*, 2015), además del desarrollo de cepas del hongo resistentes a esos fungicidas (Liu *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2013; Elmer & Gaunt, 1994; Holb & Schnabel, 2007).



Figura 11: Presencia de pudrición café en duraznos de pulpa firme y hueso pegado procedentes de Aguascalientes, México.

Entre las alternativas al control químico, se han desarrollado métodos genéticos para estudiar interacciones entre el fruto y el patógeno, recientemente el mecanismo de resistencia/susceptibilidad entre el patógeno y el hospedador (durazno) (Baró-Montel *et al.*, 2019), abriendo la posibilidad de generar genotipos y cultivares con mayor tolerancia o resistencia a *Monilinia* (Baró-Montel *et al.*, 2019). Se ha identificado que la tolerancia a este hongo puede estar asociado con la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el fruto (Obi *et al.*, 2020).

Se han hecho estudios para aplicar tratamientos físicos como la inmersión en agua caliente, luz ultravioleta (Liu *et al.*, 2012), en los que señalan una inmersión del fruto en agua a 46 °C durante 2.5 minutos, produjo una notable reducción en la incidencia de *Monilinia fruticola*.

2.4.1.2.4.2 Moho gris

La aparición de *Botrytis cinerea* o pudrición gris puede darse durante el almacenamiento si la fruta fue infectada durante la cosecha o por heridas durante el manejo del fruto (Flores-Lazo, 2012). Este moho se presenta normalmente en

frutas maduras o casi maduras, que son almacenadas a temperaturas entre 20 y 25 °C (Quiñonez-Estacio, 2019).



Figura 12: Ataque de *Botrytis cinérea* o moho gris en durazno (University of California, Davis).

De manera similar al control de *Monilia*, los fungicidas químicos son los más utilizados para evitar el desarrollo de estos hongos, ya que presentan una alta eficiencia (Zhang *et al.*, 2019). Sin embargo, en los últimos años, la preocupación por utilizar alternativas de origen natural ha ido en aumento.

Se ha considerado el uso de controles biológicos como agentes microbianos para controlar el desarrollo de estos patógenos y para reducir el uso de fungicidas químicos como *Bacillus spp.* como agente biológico potencial para aumentar la resistencia de los frutos al desarrollo de los hongos Zhang *et al.*, 2019).

El ácido jasmónico, tiene un papel importante durante el desarrollo de planta, y que induce una respuesta contra el estrés biótico y abiótico (Suktawee *et al.*, 2019); esta fitohormona induce resistencia a enfermedades, mediante la inducción de enzimas de defensa, la síntesis de compuestos fenólicos incrementó de la capacidad antioxidante, y acumulación de peróxido de hidrogeno (Suktawee *et al.*, 2019).

2.4.2 Factores de cosecha que afectan la calidad del fruto

El durazno es considerado un fruto climatérico, que se caracteriza por presentar un aumento en la tasa de respiración y biosíntesis de etileno después de la cosecha que indican el inicio de la maduración de consumo, este aumento está asociado a cambios en el color, textura, aroma y otras características del fruto importantes en la calidad sensorial de los frutos (Ruperti *et al.*, 2002; Trainotti *et al.*, 2003; Trainotti *et al.*, 2007). Este tipo de frutos permite cosecharlos en su estado de madurez fisiológica y alcanzarán su madurez de consumo en la poscosecha.

Por ellos es importante establecer el momento de la cosecha adecuado (madurez fisiológica), para lograr un estado de madurez óptimo (madurez de consumo) en el periodo poscosecha con la calidad sensorial del fruto y una mayor vida de anaquel del producto (Crisosto & Costa, 2008).

El reconocer o establecer el estado de madurez fisiológico en durazno es complicado y se utilizan diferentes procedimientos como los cambios de color superficiales, los cambios de firmeza, los cambios en los sólidos solubles totales, la acidez o la relación °Brix/acidez (Figura 13) (Minas *et al.*, 2018).

Para el indicador de firmeza, utilizando un penetrómetro manual, se considera un nivel mínimo de firmeza de 27 N (Crisosto *et al.*, 2001; citado en Minas *et al.*, 2018). En Estados Unidos se utilizan dos grados de firmeza para determinar el tiempo de cosecha en el durazno, una firmeza de entre 45 y 54 N, son frutos que se destinan a mercados de larga distancia y frutos con un nivel de firmeza de entre 30 y 36 N que se destinan a mercados más cercanos o locales, con un tiempo de almacenamiento de menos de una semana (Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 1996; citado en Minas *et al.*, 2018).

La medición de la firmeza, junto con la determinación de la acidez titulable y el contenido de sólidos solubles totales, son considerados métodos destructivos, que

consumen tiempo y solo señalan la condición de madurez de la cosecha en su conjunto.

La dificultad para establecer de manera precisa el momento de cosecha genera que tanto en fruta de variedades tempranas o tardías se cosechen frutos inmaduros o sobremaduros. Los frutos inmaduros tienen un contenido de fenoles mayor que los frutos maduros (Liu *et al.*, 2018), la presencia de estos compuestos contribuye al oscurecimiento en la piel cuando simultáneamente ocurren daños mecánicos durante el manejo poscosecha del fruto.

Existen métodos que ayudan a medir la madurez fisiológica y la calidad interna del fruto, que no se consideran destructivos. Algunas de las ventajas que estos métodos ofrecen es el potencial de realizar mediciones repetidas precisas al mismo fruto, monitorear la evolución fisiológica de los frutos individualmente cuando están en el árbol y cuando no lo están, además de que proporcionan datos en tiempo real de los diversos parámetros de calidad simultáneamente, proporcionando la capacidad de poder separar a los frutos en la postcosecha, de acuerdo a las diferentes clases de maduración. No obstante estos procedimientos en las huertas y empaques de fruta en México no son utilizados.

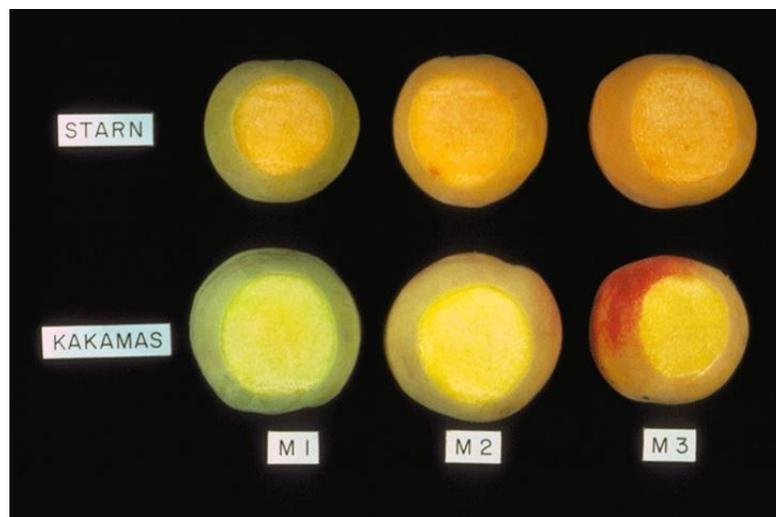


Figura 13: Cambios de color durante el proceso de maduración de dos variedades de durazno. Fuente: University of California, Davis.

2.4.3 Factores poscosecha que afectan la calidad del fruto

2.4.3.1 Presencia de pudriciones poscosecha - Pudrición por *Rhizopus*

Los duraznos son frutos muy susceptibles a ser atacada por patógenos de almacén o poscosecha. Uno de los más comunes es *Rhizopus* (Salem *et al.*, 2016).



Figura 14: Contaminación en duraznos por *Rhizopus*. Fuente: University of California, Davis.

Este hongo, tiene un crecimiento rápido, se desarrolla en condiciones húmedas y temperaturas desde 5 a 25°C con capacidad de reproducirse fácilmente durante el almacenamiento a través de una propagación rápida desde frutos infectados a no infectados (Salem *et al.*, 2016; Alfaro-Gutiérrez, 2011).

2.4.3.2 Efectos de la baja temperatura (daño por frío)

El durazno es un fruto sensible a la temperatura, cuando se encuentra a temperaturas entre 5-7 °C, puede sufrir daños por frío. Entre los síntomas más comunes ocasionados por el daño por frío o “chill injury” (CI) son: oscurecimiento interno, harinosidad en la pulpa (Figura 15), maduración anormal y aumento en la susceptibilidad al deterioro fisiológico (Wang *et al.*, 2019), esta sensibilidad al frío podría considerarse una limitación para poder conservar el fruto.



Figura 15: Manifestaciones del daño por frío en frutos de durazno.

Diferentes autores reportan investigaciones donde se proponen distintos métodos y alternativas para poder reducir esta susceptibilidad del durazno al frío. Wang *et al.*, (2019) propusieron el uso de glicina betaína (GB), derivado de la glicina y un compuesto de amonio cuaternario, como regulador osmótico que proporciona protección al tejido vegetal contra un estrés ambiental; Mansour en 1998, reportó que el GB protege la estabilización de la membrana y aumenta la tolerancia de la planta contra situaciones de estrés por frío o agua. El uso de GB en durazno demostró reducir el daño durante la refrigeración, esto debido a mecanismos que aumentaron la actividad de enzimas antioxidantes y por una acumulación de prolina (Wang *et al.*, 2019).

Por otro lado, el contenido de azúcares en el fruto ha demostrado tener un papel importante en la protección contra el daño por frío, estos no solo van a contribuir a un mejor sabor, también contribuyen en el metabolismo energético y estructura celular por ejemplo la sacarosa contribuye a la tolerancia al frío en el mismo (Wang *et al.*, 2019).

Otra alternativa para disminuir las afectaciones por las bajas temperaturas, es el uso de hormonas. Gao *et al.*, (2018), utilizaron la melatonina (MT) para poder reducir el daño por frío. Se ha demostrado que esta hormona tiene influencia en la estructura y función de la membrana celular (Gao *et al.*, 2018); también estos autores, indicador que la MT provocó un retraso en la senescencia del fruto, por un mecanismo antioxidante.

Por último, entre otras de las estrategias que se han desarrollado para prevenir el daño por frío, se encuentra el acondicionamiento a bajas temperaturas. En este método el fruto es almacenado previamente a una temperatura ligeramente superior al almacenamiento en frío (Wang *et al.*, 2017). Se ha demostrado que esta técnica es eficaz para reducir el daño por frío, Jin *et al.*, (2009), reportó que almacenar los frutos a 10 °C durante dos días previo al almacenamiento a 0 °C, disminuyó la sensibilidad del daño por frío en frutos de durazno.

2.4.3.3 Entintado de durazno o Inking

El entintado o “inking”, es un defecto visual que presentan los frutos de durazno que se manifiesta como manchas de color más oscuro que los pigmentos naturales de la frutos y que pueden observarse como puntos o líneas en la piel (Figura 16). Este tipo de defecto solo se presenta en la piel afectando su apariencia y por tanto provocando pérdidas económicas a las industrias debido a que representa rechazo del producto (Crisosto *et al.*, 2009).



Figura 16: Manifestaciones del entintado de durazno.

Se ha reportado que el “inking” puede ocurrir debido a distintos factores, los síntomas suelen aparecer 24 a 48 horas después de la cosecha. Comúnmente observado en la etapa del empaquetamiento y durante el transporte, pero se puede

observar desde las operaciones de cosecha (Cheng & Crisosto, 1994) por lo cual es de suma importancia evitar que este daño se presente.

El “inking” se asocia a factores post cosecha, como el manejo el fruto, operaciones como la abrasión o el lavado de los frutos a pH alcalino. No obstante, se ha indicado que son varios factores pueden influir en la aparición de estas manchas, desde factores pre cosecha como la nutrición mineral de la planta.

Cheng and Crisosto (1997), informaron que las manchas ocasionadas por el “inking”, pueden ser ocasionadas por dos tipos de reacciones, por reacciones enzimáticas o por reacciones no enzimáticas, donde están involucrados los compuestos fenólicos, oxígeno y contaminantes como iones metálicos (Cheng and Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 1994; Denny *et al.*, 1986; Hopfinger, 1989; Phillips, 1988). Las oxidaciones enzimáticas de compuestos fenólicos, producidas por enzimas como la polifenol oxidasa y las peroxidases, promueven el oscurecimiento y formación de manchas pardas o cafés en la piel (Cheng & Crisosto, 1997)

Por otro lado, las reacciones no enzimáticas, como la formación de complejos con iones metálicos pueden provocar el entintado y, son los principales responsables de la formación del “inking” (Cheng & Crisosto, 1997).

Esta formación de complejos entre compuestos fenólicos con iones metálicos, puede ocurrir desde la pre cosecha debido a sobre fertilización de la planta de esos iones o por contaminación de productos agroquímicos aplicados durante el desarrollo del cultivo. Los metales pesados son un grupo de elementos que se definen como aquellos que tiene un peso atómico mayor de 40 y una densidad al menos cinco veces mayor que el agua (Tchounwou *et al.*, 2014). Algunos de estos metales son Co, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, y Cu y pueden suministrarse en los fertilizantes como micronutrientes para que la planta tenga un desarrollo óptimo, además que pueden estar involucrados en reacciones redox, transporte de electrones y en procesos metabólicos que para la planta son esenciales. Sin embargo, existen elementos que podrían significar un agente toxico para la planta (Pb, Cd, Cr, Hg).

La contaminación de los cultivos con estos metales se puede deber a actividades urbanas, industriales y prácticas agrícolas inadecuadas (Michalak, 2006).

Como ya se mencionó, estos iones metálicos los podemos encontrar en diferentes productos utilizados en los programas de fertilización para el desarrollo de la planta. No obstante, algunos fertilizantes utilizados pueden estar contaminados de estos minerales y, pueden contribuir a una sobre fertilización y desencadenar el entintamiento. La Tabla 6 compara los niveles críticos y los niveles administrados de distintos minerales, a frutos de durazno de cosechas temprana, intermedia y tardía (A,B,C).

Tabla 6: Comparación de los niveles de diferentes nutrientes en hojas de durazno sugeridos en la literatura con los niveles encontrados en la zona de Aguascalientes.

Época de cosecha	Elemento	Johnson & Uriu 1989			Nivel suministrado (%)	% de exceso
		Nivel mín. (%)	Nivel óptimo (%)	Nivel Máx. (%)		
A (temprana)	N (Nitrógeno)	2.3	2.6-3.0	-	3.74	125
B (intermedia)					4.03	134
C (tardía)					4.04	135
A	K (Potasio)	1	1.2	-	4.06	338
B					4.20	350
C					4.47	373
A	Ca (Calcio)	-	Arriba de 1	-	2.57	257
B					2.30	230
C					2.01	201
A	Mg (Magnesio)	-	Arriba de 0.25	-	0.45	45
B					0.48	48
C					0.49	49

A	P (Fosforo)	-	0.1-0.3	-	0.25	82
B					0.28	92
C					0.26	88
A	B (Boro)	18	20-80	100	49.30	62
B					56.20	70
C					60.55	76
A	Zn (Zinc)	-	Arriba de 15	-	24.84	124
B					30.09	150
C					26.00	130
A	Fe (Hierro)	<60	>60	-	160.86	268
B					185.50	309
C					183.33	306
A	Mn (Manganes o)	<20	>20	-	54.28	271
B					54.93	275
C					53.38	267
A	Cu (Cobre)	-	>4	-	7.05	157
B					7.00	156
C					5.74	128

Todos los elementos analizados, mostraron un sobrefertilización de ellos (Johnson & Uriu, 1989). De acuerdo a Cheng y Crisosto (1994) la presencia de Fe, Al y Cu, en las pieles del fruto, puede provocar reacciones con los compuestos fenólicos (en especial Fe y Cu) formando complejos que inducen el entintado de los frutos. Estos análisis foliares podrían indicar una posible causa del entintado o “inking” de los frutos cultivados por agricultores de durazno de la zona de Aguascalientes.

Michalak en 2006, reporta que cuando la planta está expuesta a concentraciones excesivas de estos oligoelementos, puede haber una toxicidad y conducir a la

inhibición del crecimiento de la planta, además de inhibir procesos como la respiración, fotosíntesis y afectar el metabolismo del nitrógeno y nutrición mineral.

En frutos de durazno de color rojo debido a la presencia de antocianinas (Zhou *et al.*, 2019). El “inking” puede ocurrir debido a la reacción entre las antocianinas y compuestos metálicos como el hierro o aluminio. Esta unión se debe a que los compuestos fenólicos poseen grupos hidroxilo y carboxilo, por lo que cuentan con la capacidad de unir iones como el Fe y el Cu (Michalak, 2006). Se ha reportado que la actividad entre los compuestos fenólicos bajo un estrés de metales pesados, incrementa la actividad de ciertas enzimas, entre ellas las peroxidasas que pueden conducir al oscurecimiento del fruto (Michalak, 2006).

Sin embargo, Crisosto *et al.*, (2009) señalaron que la presencia de iones metálicos como el Fe, Cu y Al, en combinación con compuestos fenólicos, solo es un factor que induce el “inking”, que, el daño mecánico, y la actividad de enzimas como las peroxidasas, pueden incrementar la presencia de este desorden. El “inking” está altamente asociado al daño físico ocurrido durante el manejo del producto y su transporte. En el estudio de laboratorio realizado por Crisosto *et al.*, en 1999, con diferentes variedades rojas de durazno sometidos a soluciones de iones metálicos (Na, Al, Fe, Cu, Sn y Zn), observaron que, a concentraciones de iones de Fe, Sn y Zn moderadas, sin daño mecánico (abrasión), no se indujo el oscurecimiento en la piel (Figura 16) en tanto que la presencia de Cu indujo el oscurecimiento,

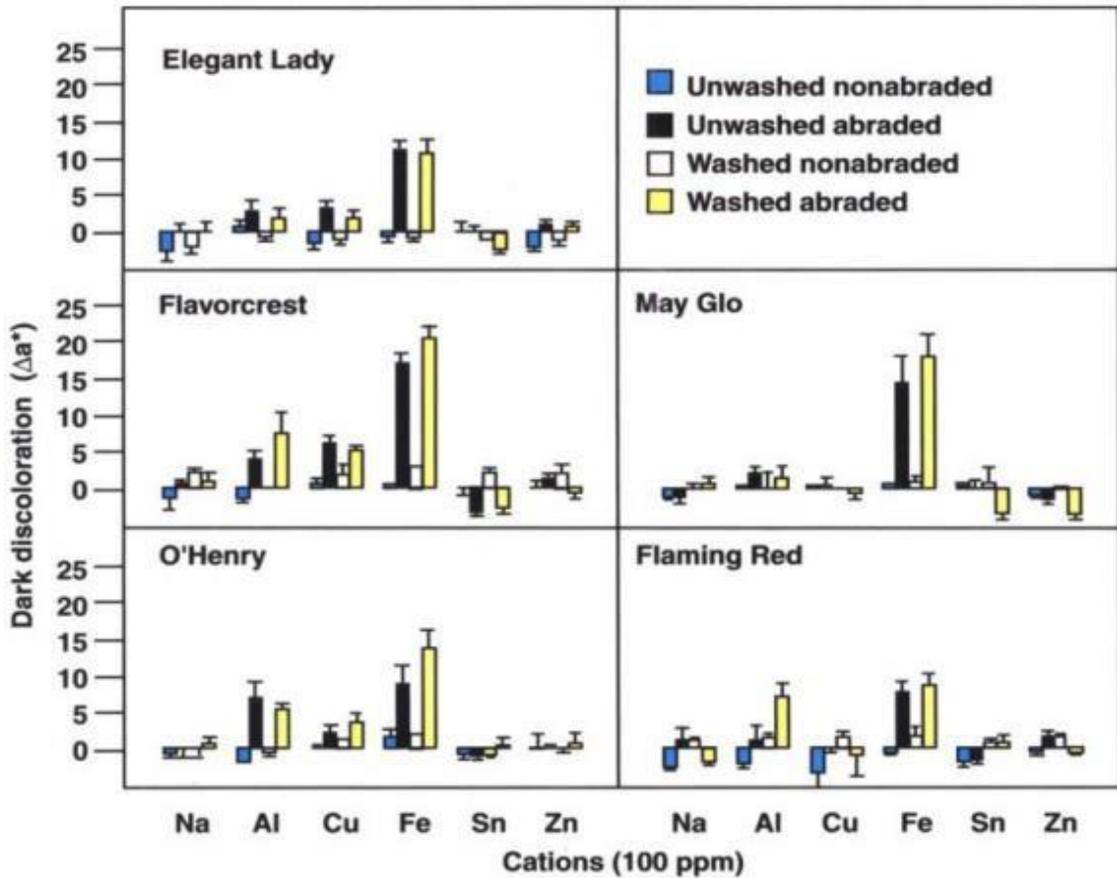


Figura 17: Oscurecimiento de frutos de duraznos rojos después de 15 minutos de incubación en soluciones de diferentes iones metálicos (pH 3.5). Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: Crisosto *et al.*, en 1999.

Los frutos sometidos a daño mecánico, lavados y sin lavar y en presencia de Fe, Al y Cu, desarrollaron una pigmentación negra oscura siendo el Fe el que desarrollo un oscurecimiento más severo. Mientras que para los iones Sn, Na y Zn tuvieron poco efecto sobre el oscurecimiento del fruto.

Se indicó que concentraciones de aproximadamente 10 ppm de Fe, fue suficiente para formar el complejo metalo-antocianina y provocar el entintado (Crisosto *et al.*, 1999). En cuanto al Al, se observó que concentraciones de 1 ppm pueden inducir un incremento en la formación del entintado. La intensidad del daño dependerá de la variedad, habiendo variedades más susceptibles que otras (Crisosto *et al.*, 2009). En otro experimento con aplicación de soluciones de Fe de 10 a 200 ppm en frutos

sometidos o no a lavado y daño por abrasión, mostró que esas concentraciones no provocaban oscurecimiento en frutos no dañados pero el defecto se presentó en los frutos dañados mecánicamente (Crisosto *et al.*, 1999) (Figura 17).

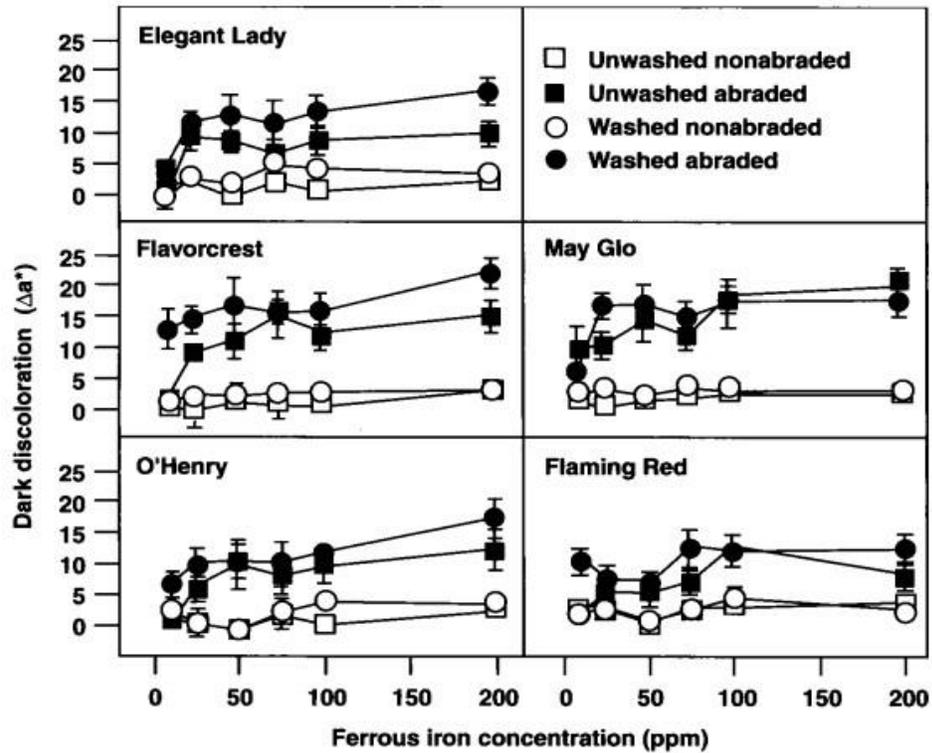


Figura 18: Efecto de las aplicaciones de Fe en el oscurecimiento de los frutos de durazno rojos sometidos o no al lavado y daño por abrasión. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: Crisosto *et al.*, en 1999.

Michalak (2006), señaló que las plantas bajo un estrés por minerales, induce la acumulación de compuestos fenólicos. Este incremento en la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos es resultado a la alta tendencia de estos para quelar metales, esto debido a que los compuestos fenólicos poseen grupos hidroxilo y carboxilo, que son capaces de unirse a metales, en particular a Fe y Cu. Este incremento de compuestos fenólicos también es influido por la abrasión que induce la síntesis de compuestos fenólicos como las antocianinas, y ácido clorogénico, facilitando el oscurecimiento (Crisosto *et al.*, 2009).

Eghbaliferiz & Iranshahi en 2016, reportaron que cuando ocurre este incremento de compuesto fenólicos, estos pueden presentar actividad pro oxidante basado en la generación de radicales fenoxil, y la formación de complejos con iones metálicos. Esta actividad pro oxidante puede inducir una oxidación lipídica de la membrana y provocar daños en el material genético.

Cabe resaltar, que los iones metálicos no son el único factor que puede inducir a que se genere esta actividad prooxidante en los compuestos fenólicos. Cuando hay una alta concentración de compuestos fenólicos, presencia de iones metálicos y un pH alcalino, pueden ser catalizadores de la actividad pro oxidante y de la generación de especies reactivas de oxígeno. De igual manera, cabe resaltar que los polifenoles de menor tamaño son más susceptibles a presentar actividades pro oxidantes, que los compuestos fenólicos de mayor tamaño (Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016).



Figura 19: Manifestación visual de inking o entintado en frutos de durazno de la región de Aguascalientes México.

El color de los pigmentos del durazno, en este caso las antocianinas, depende del pH en que se encuentre, al cambiar el pH, estos pigmentos cambian su estructura molecular. Se ha reportado que cuando las antocianinas están expuestas a un pH mayor a 7.0, puede ocurrir y provocar un cambio en la estructura del pigmento ocasionando que la coloración cambie de un color amarillo rojizo a un color oscuro. Esta exposición a este cambio de pH es común cuando se realizan las operaciones de lavado, sin embargo, la intensidad del defecto no se presenta de la misma

manera que cuando se produce por contaminación por metales (Crisosto *et al.*, 2009).

En el estudio realizado por Crisosto *et al.*, (1999) evaluaron la influencia del pH en la decoloración del durazno (Figura 11). Se sometieron los frutos a soluciones a diferentes concentraciones de pH (3.0 a 9.0). Se llegó a la conclusión de que, en los frutos sin abrasión, el pH no mostró influencia en el entintamiento del fruto. Para el caso de los frutos con abrasión, a pH de 3.0 el color de los duraznos era rojizo, a pH 4.0 – 5.0 no se mostró cambios significativos en la piel; cuando el pH cambió a mayor de 6.0, los frutos empezaron a mostrar coloración oscura.

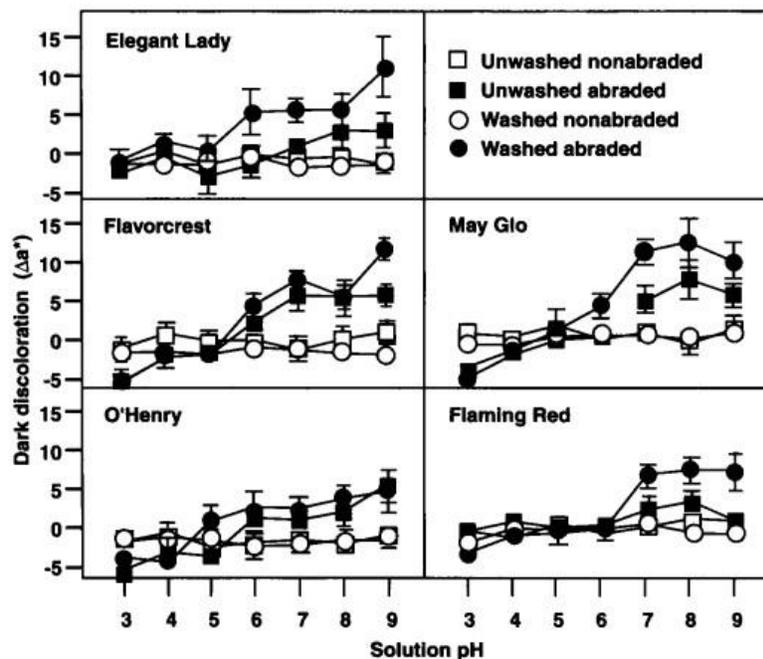


Figura 20: Desarrollo de la decoloración oscura en frutos de durazno en varias soluciones de pH tampón fosfato. Las barras verticales representan el error estándar. Fuente: Crisosto *et al.*, en 1999.

Cuando se tiene una combinación de abrasión intensa de la piel del fruto, junto con pH alcalino o soluciones metálicas, se tiene un daño mucho más intenso. Los duraznos no sometidos a un proceso de abrasión o cepillado, muestran un daño menor a los que si se sometieron a esta operación, esto es explicado debido a que, al someter el fruto a esta operación, se daña la piel del fruto, provocando un colapso

de las células de la piel y liberando los compuestos fenólicos, que cuando se exponen al contacto ya sea con soluciones de pH elevado o soluciones con compuestos metálicos, resulta en la aparición del entintado (Crisosto *et al.*, 2009).

Existen diferentes medidas para poder evitar o reducir el entintamiento en los frutos, entre ellos: reducir el daño por abrasión procurando tratar el fruto con cuidado; evitar la utilización de agua contaminada para el riego y procurar que no esté contaminada con metales pesados; realizar pruebas a los fungicidas para la detección de metales pesados como el Fe, Cu y Al; para la operación de lavado, utilizar un agua que se mantenga con un pH de entre 6.5 y 7.0; evitar el cepillado de los frutos para evitar el aumento del entintamiento; evitar el enfriamiento rápido y almacenar el fruto sin aire forzado; retrasar el empaquetado aproximadamente 48 horas para detectar y remover el producto que esté dañado (Crisosto *et al.*, 2000; Crisosto *et al.*, 2009).

De acuerdo a los antecedentes citados anteriormente, no existe en la literatura publicaciones respecto al análisis de compuestos fenólicos específicos asociados con el problema del entintado en distintas variedades producidas en México. Por lo cual, este trabajo plantea realizar estudios sobre la relación entre los compuestos fenólicos y metales pesados, junto con otros factores como el daño mecánico y el pH del agua de lavado, con la finalidad de evaluar si estos factores son los que desencadenan este defecto en la piel del fruto.

3. Justificación

En México, la producción y consumo de durazno ha disminuido. Esta disminución , puede estar explicada por varios factores como la competencia con otros frutos en el mismo periodo de cosecha con los que también se enfrenta con menores precios en el mercado, y también por la presencia de defectos como el “inking” que reduce su calidad visual.

Desde el punto de vista de manejo poscosecha, el fenómeno de entintado se ha estudiado en durazno rojos donde se ha asociado a la presencia de iones metálicos suministrados durante la fertilización del cultivo donde se ha indicado que un exceso de nutrición en el suministro de iones metálicos puede estar influyendo e interactuando con fenoles. No obstante, este mecanismo en duraznos de color amarillo, no se ha investigado de forma sistemática. Siendo necesario establecer su incidencia en diferentes variedades, los efectos que tiene la presencia de iones metálicos y las operaciones de manejo poscosecha que inciden en la manifestación de este defecto.

Este estudio pretende conocer los mecanismos que originan el problema y evaluar a profundidad la cadena de procesamiento que realizan los productores de durazno, con el objeto de aportar estrategias tecnológicas para reducirlos y así aumentar el consumo del fruto y disminuir el impacto económico que estos defectos representan para los productores de durazno en México.

4. Hipótesis

El entintado de duraznos amarillos lo presentan aquellas variedades susceptibles a este defecto en asociación a una presencia de iones metálicos y a un manejo mecánico severo de los frutos que en forma conjunta facilitan la formación de complejos fenol-metal y la acción de enzimas oxidativas generan el desorden.

5. Objetivos

General

Elucidar el mecanismo mediante el cual interaccionan los iones fierro, los compuestos fenólicos y la actividad enzimática en el desarrollo del entintado de la piel de frutos de durazno de piel amarilla.

Específicos

- Comparar la susceptibilidad al entintado de tres variedades de durazno de pulpa adherida al hueso y piel amarilla producidos en la zona de Aguascalientes, México.
- Identificar la influencia de la presencia de iones metálicos en el desarrollo del entintado en las variedades estudiadas.
- Evaluar la participación de los compuestos fenólicos y la formación de complejos fenol-metal en el desarrollo del entintado.
- Evaluar la participación de las enzimas asociadas a la síntesis de fenoles y su oxidación (PAL, PPO, POD) en el desarrollo del entintado.
- Confirmar el mecanismo del entintado a través de su inducción en condiciones de laboratorio.
- Establecer recomendaciones que eviten el “inking” o entintado en el cultivo de durazno de la zona de Aguascalientes, México.

6. Metodología

6.1 Material biológico

Los frutos de durazno (*Prunus persica* L.) fueron recolectados en los campos de cultivos de la empresa Agropecuaria Marlee ubicada en el Rancho San Carlos, del municipio de San Francisco de los Romo, Aguascalientes, México. Se trabajó con tres variedades: ‘MG8’ (cosechada en junio o temprana), ‘Colegio’ (cosechada en julio o intermedia) y ‘229’ (cosechada en agosto o tardía). Los frutos se cosechan a

$\frac{2}{3}$ de madurez de consumo, e hidro enfriados a 3 °C; se seleccionaron aquellos libres de defectos y pudriciones, fueron cepillados, lavados y secados bajo una corriente de aire, encerados y colocados en cajas de cartón. Por la naturaleza del estudio se seleccionaron dos conjuntos de frutos; con entintando (inking) y sin entintado.

Paralelamente se cosecharon frutos directamente del campo en el mismo estado de madurez libres de entintado con la finalidad de evaluar en condiciones de laboratorio los factores que pudieran estar involucrados en el desarrollo de este defecto.

Los frutos fueron llevados al laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro, donde fueron almacenadas a 1 °C por 24 h.

6.2 Estrategia experimental

El trabajo se desarrolló en tres etapas (Figura 21); en la primera, los frutos seleccionados en la empacadora se usaron para los análisis químicos (contenido y perfil de fenoles), actividad enzimática y cuantificación de metales; en la segunda, los frutos cosechados directamente del campo se usaron para inducir el defecto mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de soluciones de metales (Fe y Cu), en estos frutos se evaluó el color externo y se determinaron los análisis químicos, y enzimáticos. Finalmente, para la última etapa, se realizaron reacciones de fenoles específicos (ácido clorogénico), con sulfato de hierro a diferentes concentraciones mediante un método espectrofotométrico, para evaluar el cambio en la intensidad del color del complejo formado.

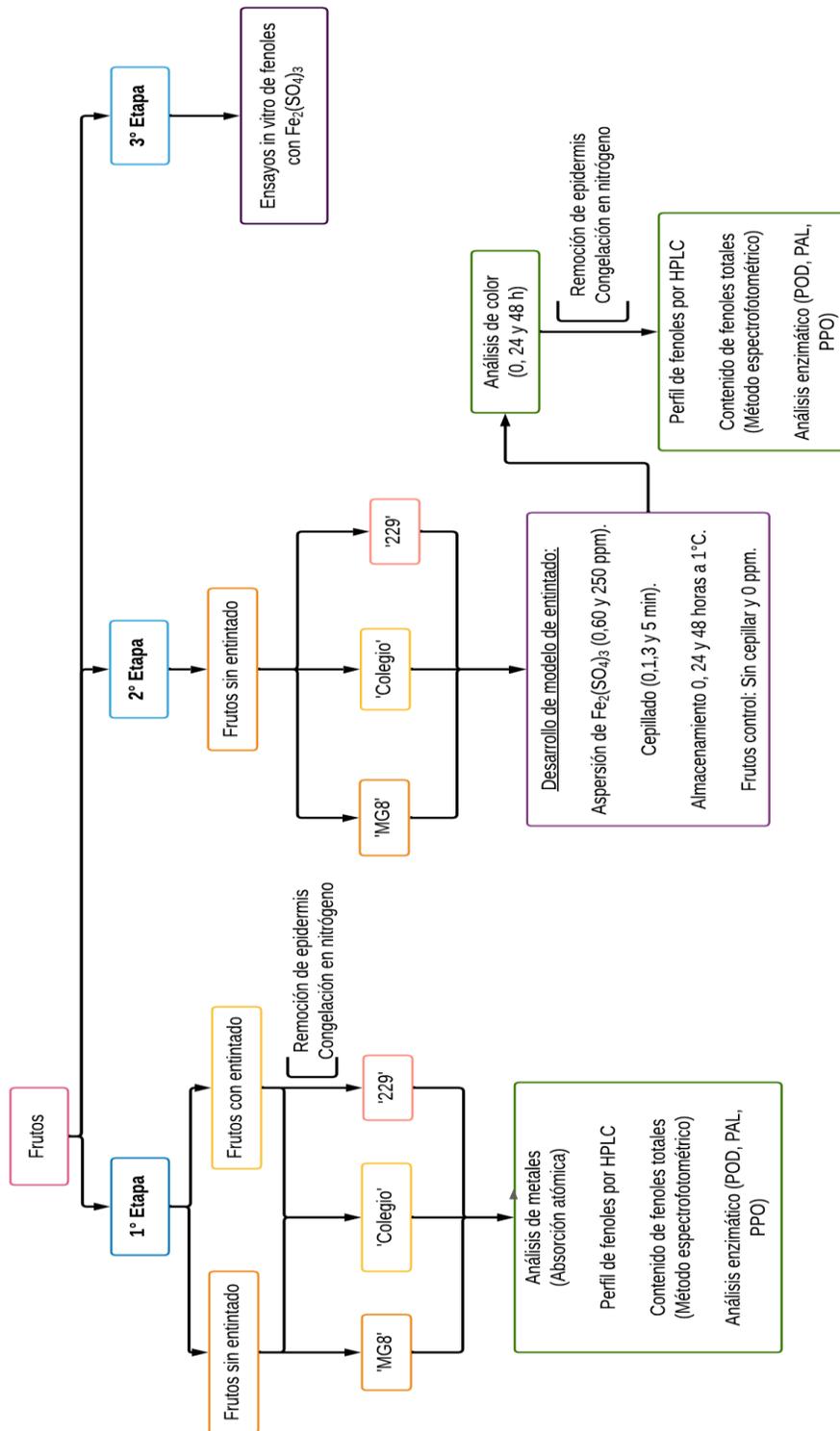


Figura 21: Estrategia experimental a seguir.

6.3 Métodos utilizados

Etapas 1

Obtención de epidermis con entintado y sin entintado. A 10 kg de frutos, se les retiró cuidadosamente la epidermis manualmente usando un bisturí quirúrgico las cuales se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta los análisis enzimáticos de peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PPO), fenilalanina amonio liasa (PAL) y contenido de fenoles totales mediante un método espectrofotométrico y perfil de compuestos fenólicos por HPLC. Submuestras congeladas se liofilizaron para enviarlas a los Laboratorios Fertilab para ser analizadas en el contenido de metales pesados (Fe y Cu) por digestión ácida multielemental en microondas de acuerdo con el método AOAC 2006.03.

6.3.1 Análisis enzimáticos

6.3.1.1 Actividad de polifenol oxidasa (PPO)

Para la determinación de la actividad de la PPO se siguió la metodología descrita por Meraz-Caro (2001), basada en la metodología de Hsu *et al.*, (1968). La determinación espectrofotométrica se basa en la reacción de PPO sobre el sustrato fenólico (catecol) generando un compuesto colorido que absorbe luz a 420 nm.

Extracción de la enzima: Se pesaron 5.0 g de piel congelada, 0.6 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) insoluble y 20 mL de buffer de fosfato de potasio 50 mM pH 6.0, la mezcla se homogeneizó en un homogeneizador de tejidos Ultraturax (IKA T25); el homogeneizado se filtró con cuatro capas manta de cielo, se centrifugó a 10 000 g por 15 min a 4°C. El sobrenadante se consideró como el extracto crudo de la enzima y se mantuvo en baño de hielo (4°C) hasta la determinación de actividad.

Medición de la actividad enzimática: La mezcla de reacción consistió en 100 μL de extracto enzimático a los cuales se le agregaron 50 μL de catecol 60 mM como sustrato y se midió la absorbancia durante un periodo de 3 min a una longitud de onda de 420 nm usando un espectrofotómetro Perkin Elmer, Inc., USA modelo Lambda 36. La actividad enzimática se reportó como unidades de PPO g^{-1} de tejido fresco, siendo una unidad, el cambio de 0.001 unidades de absorbancia en un minuto.

6.3.1.2 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL)

La actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) fue determinada siguiendo la metodología de Aquino-Bolaños (1998), basada en la metodología propuesta por Ke & Saltveit (1986).

Preparación de reactivos: Buffer de Borato 50 mM (pH 8.5). Se pesaron 3.1 gramos de ácido bórico y 0.4 gramos de hidróxido de sodio (NaOH), se disolvieron y se aforaron a un litro de agua destilada. Se ajustó el pH a 8.5 con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Este reactivo puede almacenarse a 4°C. Sustrato de L-fenilalanina 100 mM. Se pesaron 1.65 gramos de L-fenilalanina, se disolvió y se aforó a 100 mL con agua destilada.

Extracción de la enzima: Se pesaron 4 g de epidermis, y se mezclaron con 0.4 g de PVPP, 16 mL de buffer borato de sodio 50 mM a pH 8.5 y 14 μL β -mercaptoetanol al 0.01 M. La solución fue homogenizada en un Ultraturax (IKA T25) por 5 min. Se filtró a través de cuatro capas de manta de cielo. Posteriormente el filtrado se centrifugó a 12 000 rpm por 20 min a 4°C. El sobrenadante se consideró como el extracto crudo de la enzima y se mantuvo en baño de hielo (4°C) hasta la determinación de actividad.

Ensayo de la actividad enzimática: Se incubaron 2700 μL del extracto enzimático a 40°C durante 5 minutos, se adicionaron 300 μL de fenilalanina 100 mM y se midió la absorbancia a 290 nm. Posteriormente se realizó una incubación durante una hora a 40°C y se volvió a medir la absorbancia.

Se utilizó una curva estándar de ácido cinámico, el valor obtenido de la actividad enzimática se expresó como cantidad de enzima que produce 1 μmol de ácido cinámico en una hora.

6.3.1.3 Actividad de peroxidasa (POD)

La actividad de la enzima peroxidasa (POD) fue determinada siguiendo la metodología de Duarte-Vázquez (2002), basada en la metodología propuesta por Tijssen (1985).

Extracción de la enzima: Se pesaron 6 g de epidermis, se mezclaron con 0.2 g de PVPP, 5 mL de buffer borato de sodio 50 mM pH 8.5 y 18 mL de agua destilada. La solución fue homogenizada en un Ultraturax (IKA T25) por 5 min. Se filtró a través de cuatro capas de manta de cielo. Posteriormente el filtrado se centrifugó a 4 000 RPM por 10 min a 4°C . El sobrenadante se consideró como el extracto crudo de la enzima y se mantuvo en baño de hielo (4°C) hasta la determinación de la actividad.

Preparación de reactivos: ABTS 10 mM. Se pesaron 0.5487 gramos de ABTS, se disolvieron y se aforaron a 100 mL de agua destilada. H_2O_2 50 mM. Se pipetearon 141.70 μL y se aforaron a 100 mL de agua destilada. Buffer de fosfato de potasio 20 mM pH 6.0. Se pesaron 0.68045 gramos de fosfato de potasio, se disolvieron y se aforaron a 250 mL de agua destilada. Se ajustó el pH a 6.0 con solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Ensayo de la actividad enzimática: La actividad se determinó espectrofotométricamente usando 2,2-azinodi(3-etilbencenziazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS) como donador de hidrógenos. La mezcla de reacción (3 mL) contenía ABTS 10 mM (300 μ l) , 300 μ l del extracto enzimático, H₂O₂ 50 mM (120 μ L) y buffer de fosfatos 20 mM, pH 6.0 (1500 μ l), el volumen se completó con agua destilada (780 μ l). El cambio en la absorbancia debido a la oxidación del ABTS fue evaluado a 414 nm durante 3 minutos.

El ensayo de la actividad enzimática se desarrolló a 25°C utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer, Inc., USA. Los resultados se expresaron como unidades de POD g⁻¹ de tejido fresco. Una unidad de actividad enzimática se definió como el cambio de 0.001 unidades de absorbancia en un minuto.

6.3.2 Análisis de metales en epidermis

El análisis mineral se llevó a cabo mediante un servicio externo “Fertilab: Laboratorio de análisis de suelos y nutrición”, donde se realizó digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03. Se colocaron muestras de epidermis de durazno con y sin entintado en frascos de 71 g, se taparon con manta de cielo y se reforzaron con ligas. Quince frascos de epidermis de durazno con entintado y quince frascos de epidermis sin entintado fueron liofilizados durante siete días, utilizando un liofilizador LABCONCO, USA. Posteriormente, las muestras liofilizadas se molieron hasta obtener un polvo fino, se pesaron 10 gramos de epidermis molida con y sin entintado y se almacenaron en bolsas de plástico selladas y con su correspondiente etiqueta para su posterior envío. Los resultados se expresaron como ppm de Fe por 100 g de muestra.

6.3.3 Análisis de fenoles

6.3.3.1 Contenido de fenoles totales

El contenido de compuestos fenólicos totales se realizó de acuerdo a el método Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999).

Se pesaron 2 g de epidermis de durazno de cada variedad con y sin entintado; después de los tratamientos de 0, 1, 3 y 5 min de cepillado sin aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, y con aspersion de 0, 60 y 250 ppm de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, con 0 y 5 min de cepillado. Cada una de las muestras se colocaron en diferentes tubos de centrifuga de 50 mL con 25 mL de metanol al 80%.

Las muestras se homogenizaron durante 1 min en Ultraturax (IKA T25), a temperatura ambiente y protegidos de la luz. Después, las muestras se centrifugaron a 13500 rpm durante 15 min. Se recolectó el sobrenadante de cada muestra, se filtró utilizando un embudo y manta de cielo, y se colocó en tubos protegidos de la luz, y el precipitado fue desechado. Para el cálculo de la concentración de compuestos fenólicos totales, los valores de las absorbancias que fueron obtenidas para cada muestra, se interpolaron en una curva estándar de ácido gálico (0.02-0.16 mg ácido gálico/mL) para obtener los mg de ácido gálico por mL de solución y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra. Los cálculos fueron realizados de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{mg eq de ác. gálico}}{100 \text{ g muestra}} = \left(\frac{\text{mg de ácido gálico}}{\text{ml}} \right) \left(\frac{1}{\text{peso muestra (g)}} \right) \times 25 \text{ mL} \times 100$$

Para la reacción se tomaron 400 μL de la muestra y se adicionó 1 mL de agua destilada, 200 μl de reactivo Folin-Ciocalteu y se dejaron en reposo durante 5 min. Posteriormente se adicionó 2 mL de carbonato de sodio al 7%, 1.4 mL de agua

destilada y se mezclaron con ayuda de un vortex. Las mezclas fueron mantenidas a temperatura ambiente y protegidas de la luz durante una hora para permitir la reacción, finalizado el tiempo, se leyó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro marca Lambda 365, Perkin Elmer, Inc., USA.

6.3.3.2 Determinación del perfil fenólico

El perfil fenólico se realizó mediante cromatografía de líquidos HPLC, utilizando un equipo HPLC Waters, USA, con una bomba cuaternaria Alliance e2695, detector de arreglo de diodos 2998, utilizando una columna Symmetry C-18 (5 μm , 150 mm de largo x 4.6 mm de diámetro) y software Empower3 (Waters, USA).

Como fase móvil se utilizó un gradiente de concentración utilizando, agua HPLC:ácido fórmico (A) y acetonitrilo al 100% (B) (Tabla A2).

Para la inyección de la muestra, de los extractos metanólicos realizados previamente para el análisis fenólico total, se tomaron 3 mL con una jeringa, se filtraron a los viales Waters utilizando un filtro Nylon de 13 mm de diámetro y 0.45 μm de tamaño de poro. Las condiciones de análisis en el equipo fueron las siguientes: T° de la muestra 8°C, T° de columna 35°C, flujo 0.500 (mL/min), volumen de inyección 30 μL , tiempo de corrida 60 min.

Para la cuantificación, se utilizó una curva estándar de ácido clorogénico a diferentes diluciones partiendo de una solución madre de 0.5 mg mL⁻¹. Para el cálculo de la concentración de ácido clorogénico, los valores de las absorbancias que fueron obtenidas para cada muestra, se interpolaron en una curva estándar de ácido clorogénico para obtener los mg de ácido clorogénico por mL de solución y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido clorogénico por 100 gramos de muestra.

Etapas 2

Efecto del cepillado en el desarrollo del entintado. Treinta y seis frutos de cada variedad ('MG8', 'Colegio' y '229') se dividieron en cuatro grupos de 9 duraznos c/u; cada grupo fue sometido a 0,1,3 y 5 min de cepillado utilizando un prototipo de cepillos similar a los utilizados en el empaque y contruidos a partir de rodillos de pintura anclado a un mecanismo de ruedas dentadas de discos de -diámetro- y cadenas que comunican la fuerza motriz proporcionado de manera manual al girar la perilla, teniendo un total de tres frutos por tratamiento con sus triplicados. Se midió el color antes y después de cada tratamiento de cepillado; posteriormente se procedió a lavar los frutos en un baño de agua destilada se secaron a temperatura ambiente. A continuación, se aplicó 0, 60 y 250 ppm de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, finalmente se tomaron fotografías de cada fruto y se midió el color CIE Lab después de 0, 24 y 48 horas de almacenamiento a 1°C.

Los análisis de actividades enzimáticas de PPO, POD y PAL se realizaron conforme se describieron en la Etapa 1.

Etapas 3

En la tercera etapa, se realizaron ensayos in vitro para observar la reacción producida con el perfil de compuestos fenólicos obtenidos por HPLC, en presencia de disoluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a diferentes concentraciones.

Preparación de soluciones: Solución de ácido clorogénico con concentraciones de 0.10 a 0.50 mg ml⁻¹, se pesaron 2 - 10 mg de ácido clorogénico, se agregaron 20 ml de agua destilada y se mantuvieron en tubos a oscuridad. Para la solución de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ con concentraciones de 60 a 250 ppm, se pesaron 15 - 62.5 mg de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ en diferentes matraces aforados, se llevó el volumen a 100 mL.

Posteriormente se tomó 1 mL de cada solución de ácido clorogénico, se colocó en diferentes tubos de ensaye y se añadió 1 mL de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de cada concentración, teniendo un total de seis tubos por cada concentración de ácido clorogénico.

Se observó y se realizó seguimiento fotográfico al cambio de coloración del complejo formado a medida que aumentaba la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ y de ácido clorogénico, posteriormente se leyó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro marca Lambda 365, Perkin Elmer, Inc., USA.

6.4 Análisis estadístico

El diseño experimental se realizó mediante un diseño unifactorial completamente al azar, realizando un análisis de varianza y una comparación de medias por el método de Tukey para evaluar los efectos de los diferentes tratamientos entre variedades, y una prueba t de Student para evaluar cambios en las variables de respuesta posterior al entintado, el nivel de significancia se fijó en $p < 0.05$. Los resultados experimentales se expresaron como valores medios \pm desviación estándar para tres experimentos independientes por triplicado. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico JMP (versión 6.0.0).

7. Resultados

7.1 Primera etapa. Estudio comparativo de frutos de diferentes variedades con entintado y sin entintado desde la cosecha.

7.1.1 Análisis y cuantificación de metales pesados

En el análisis de macronutrientes de la piel liofilizada de frutos, no se detectaron diferencias significativas en el contenido de N, P, K, Ca, Mg, S y Na entre las variedades ni entre frutos con y sin entintado (Figura A1); de igual forma, no se observaron diferencias significativas en el contenido de seis micronutrientes (Cu, Zn, B, Mo, Mn y Ni). No obstante, el contenido de Fe mostró diferencias significativas entre variedades y entre frutos con entintado y sin entintado (Tabla 7).

Tabla 7: Comparación de medias del contenido de hierro (ppm 100 g⁻¹) en pieles de frutos de diferentes variedades de durazno con y sin entintado.

	Fe (ppm) / 100 g		
	MG8	Colegio	229
Sin entintado	73.2 ^{Bb}	83.1 ^{Bb}	107.7 ^A
Con entintado	111.5 ^{Aa}	122 ^{Aa}	-

Letras minúsculas distintas en una misma columna indican diferencias entre frutos entintados y no entintados ($p < 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0.05$, Tukey).

Las variedades 'MG8' y 'Colegio', no entintadas, mostraron menor contenido de este metal que la variedad '229'. Para estas mismas variedades, el contenido de este metal fue mayor en los frutos entintados respecto de los frutos no entintados. La variedad '229', no mostró incidencia de entintado, aunque el contenido de Fe en sus pieles fue mayor que los contenidos de este metal en los frutos no entintados de las otras dos variedades. Las pieles de los frutos 'MG8' y 'Colegio' con entintado, mostraron contenidos significativamente mayores de este metal respecto de las

pieles de sus frutos no entintados. No obstante, la comparación estadística de los contenidos de Fe de los frutos con entintado con los datos de la variedad '229' no mostró diferencias significativas entre variedades (datos no mostrados). Esta comparación señala que la mayor presencia de Fe no es condición para el desarrollo del entintado. Estos mayores contenidos representaron un incremento del 51.8% en la variedad 'MG8' y un 61.5% más en la variedad 'Colegio'. Estos datos parecen sugerir que la mayor presencia de Fe en los frutos entintados pudiera explicar parcialmente el problema de entintado. Los contenidos de Fe en las pieles de los frutos son notablemente mayores que los contenidos reportados de este metal en el fruto completo (0.34 mg/100 g peso húmedo equivalentes a 2.91 mg/100 g peso seco) (Tabla 6) lo anterior señala que este metal se concentra en la piel de los frutos.

En la variedad '229', no se reporta en contenido de Fe en frutos entintados, puesto que no se encontraron frutos con este defecto; no obstante, presentó un 106.2% mayor contenido en comparación con la variedad 'MG8' y 29.6% más que la variedad 'Colegio'. La mayor presencia de Fe en los frutos con entintado, parece explicar la presencia del entintado. No obstante, estos datos difieren de lo reportado por Cheng & Crisosto (1994) quienes no encontraron diferencias significativas en el contenido de Fe en pieles de cinco variedades estudiadas susceptibles al entintado; aunque sus contenidos de este metal fueron menores (50 y 60 ppm), que los encontrados en el presente trabajo.

De acuerdo a la literatura, los requerimiento nutrimentales de Fe en plantas de durazno es de 60 ppm 100 g^{-1} (Bennett, 1993; Johnson & Uriu, 2005), los resultados de los análisis sugieren que las aplicaciones de Fe en las tres variedades estuvieron por arriba de los niveles óptimos señalados. Para el caso de frutos no entintados hubo un 22% más de Fe en la variedad 'MG8', 38.5% en la variedad 'Colegio' y 79.5% en la variedad '229'. En cuanto a las variedades con frutos entintados, los contenidos de Fe fueron 85.8% y 103.3% superiores al nivel óptimo sugerido en las variedades 'MG8' y 'Colegio' respectivamente. Esto señala que hubo una exposición

mayor al Fe, que podría indicar una relación directa entre la presencia de Fe y el desarrollo del entintado en frutos de durazno.

Dado que el contenido de Fe de los frutos sin entintado mostrado por la variedad '229' fue parecido al contenido mostrado por las pieles de los frutos entintados de las otras variedades; se realizó una comparación estadística entre esos valores; el análisis de varianza no mostró diferencias significativas. Este resultado parece indicar que el mayor contenido de Fe en las variedades 'MG8' y 'Colegio' no explica la presencia de entintado en los frutos y para ello deben considerarse otros factores.

Cheng & Crisosto (1994) identificaron que los procesos de cepillado o abrasión de los frutos y la presencia de iones de Fe, Cu o Al desencadenaron el oscurecimiento de los frutos en todas las variedades estudiadas; indicando que la combinación contenido de iones – daño mecánico generó el oscurecimiento. En esta etapa, las muestras de pieles analizadas para el contenido de Fe procedían de frutos recolectados en la operación de cosecha que mostraban o no el fenómeno de entintado.

Previos reportes indican que metales pesados como el hierro (Fe), aluminio (Al) y el cobre (Cu), pueden convertirse en contaminantes en el fruto. Esta contaminación podría ser resultado de aplicaciones foliares de fertilizantes aplicados que los contienen, esta contaminación puede desencadenar reacciones con compuestos contenidos en la piel como compuestos fenólicos (Cheng & Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 2009). Estos autores indican que reacciones no enzimáticas como la formación de complejos con iones metálicos, podrían ser las responsables del entintado en durazno, como es el caso de los duraznos de piel roja con alto contenido de antocianinas. Dentro de los metales mencionados, se ha reportado que el Fe presenta la mayor inducción de esta coloración oscura en los frutos (Cheng & Crisosto, 1997).

7.1.2 Cambios en el contenido de fenoles totales de frutos con y sin entintado

La comparación estadística del contenido de fenoles totales en los frutos de las tres variedades sin entintado, mostró valores significativamente mayores en la variedad 'MG8' respecto de las variedades 'Colegio' y '229', las cuales mostraron valores estadísticamente similares (Tabla 8). Los frutos de la variedad 'MG8' con entintado, tuvieron un contenido significativamente mayor de fenoles totales respecto de los frutos sin entintado; mientras que en la variedad 'Colegio' no se observaron diferencias significativas entre frutos con y sin entintado. Para la variedad '229', no se reportan datos de frutos entintados debido a que no se encontraron frutos con este desorden (Tabla 8).

Tabla 8: Comparación de medias de los contenidos de fenoles totales ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) de las variedades MG8, Colegio y 229 sin y con entintado.

Variedad	mg eq. de ácido gálico / 100 g FW		
	MG8	Colegio	229
Sin entintado	$104.5 \pm 4.07^{\text{Ab}}$	$86.8 \pm 4.07^{\text{Bb}}$	$87.0 \pm 4.07^{\text{B}}$
Con entintado	$150.5 \pm 7.50^{\text{a}}$	$108.8 \pm 3.94^{\text{a}}$	-

Letras minúsculas distintas en una misma columna indican diferencias entre frutos entintados y no entintados ($p < 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0.05$, Tukey).

Valores similares se han reportado en la literatura, observándose entre 79.14 a 277 mg eq. de ácido gálico 100 g^{-1} FW (Lui *et al.* 2018, Saidani *et al.* 2017). Se observa un efecto de la variedad en el contenido fenólico, mostrándose un mayor contenido en la variedad 'MG8' en comparación con las variedades 'Colegio' (16.95%) y '229' (16.7%).

En la Tabla 8 se muestra la cuantificación de fenoles totales para frutos de las variedades 'MG8' y 'Colegio', con presencia y ausencia del fenómeno, obtenidos en

campo y empacadora. Se observa un efecto de la presencia del defecto en el contenido fenólico, mostrándose un incremento para cada variedad individualmente cuando se presenta el entintado en comparación a cuando está ausente. La variedad 'MG8' presenta un incremento superior en el contenido fenólico al presentarse el defecto (44%), comparado con la variedad 'Colegio' (25.2%). En cuanto a la variedad '229', no fue reportado el contenido fenólico en frutos con presencia de entintado, dado que no se presentaron frutos con el defecto en el muestreo realizado en el campo.

De acuerdo a lo anterior, el aumento en el contenido fenólico en los frutos con entintado podría indicar una respuesta adaptativa de las plantas a las condiciones ambientales adversas, de acuerdo a diferentes autores, el contenido fenólico aumenta en frutos como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, sea un estrés biótico como la presencia de hongos (Liu *et al.*, 2020), o un estrés abiótico como irradiación, daño mecánico y exposición a iones metálicos (Liu *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2018).

7.1.2.1 Identificación y cuantificación de fenoles por HPLC de frutos con y sin entintado

El análisis de los extractos fenólicos de cada una de las variedades por HPLC permitió identificar (por tiempo de retención y espectro de absorción de muestras y estándares) dos ácidos fenólicos; el ácido neo-clorogénico y el ácido clorogénico. Los perfiles cromatográficos de los extractos fenólicos de los frutos de las variedades sin entintar fueron muy similares (Figura 22). El ácido fenólico más importante en las tres variedades fue el ácido clorogénico (pico 1) y en menor proporción el ácido neo-clorogénico (pico 2).

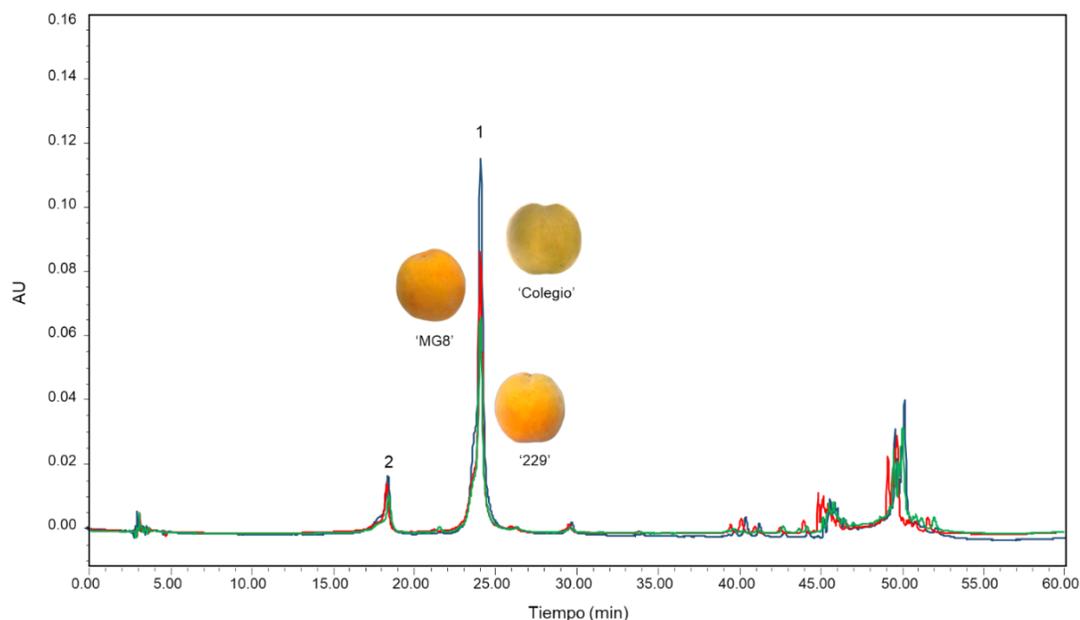


Figura 22: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos de frutos de durazno de tres variedades comerciales (MG8, Colegio y 229) sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.

La comparación estadística del contenido de ácido clorogénico en las muestras de frutos sin entintar de las tres variedades, no mostró diferencias estadísticas significativas entre ellas (Tabla 9). La presencia del entintado, en las variedades 'MG8' y 'Colegio' indujo un contenido significativamente mayor de este ácido. Estos incrementos representaron un 91.47% en la variedad 'MG8' y 116.1% en la variedad 'Colegio' respecto de las muestras sin entintar.

Tabla 9: Valor promedio del contenido de ácido clorogénico eq ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) de las variedades MG8, Colegio y 229, y en las variedades MG8 y Colegio con presencia y ausencia de entintado.

Variedad	mg ácido clorogénico / 100 g FW		
	MG8	Colegio	229
Sin entintado	17.6±0.19 ^{Ab}	16.8±5.20 ^{Ab}	20.2±0.89 ^A
Con entintado	33.7±0.19 ^a	36.3±0.22 ^a	-

Valores con diferente letra indican diferencias ($p < 0.05$, Tukey).

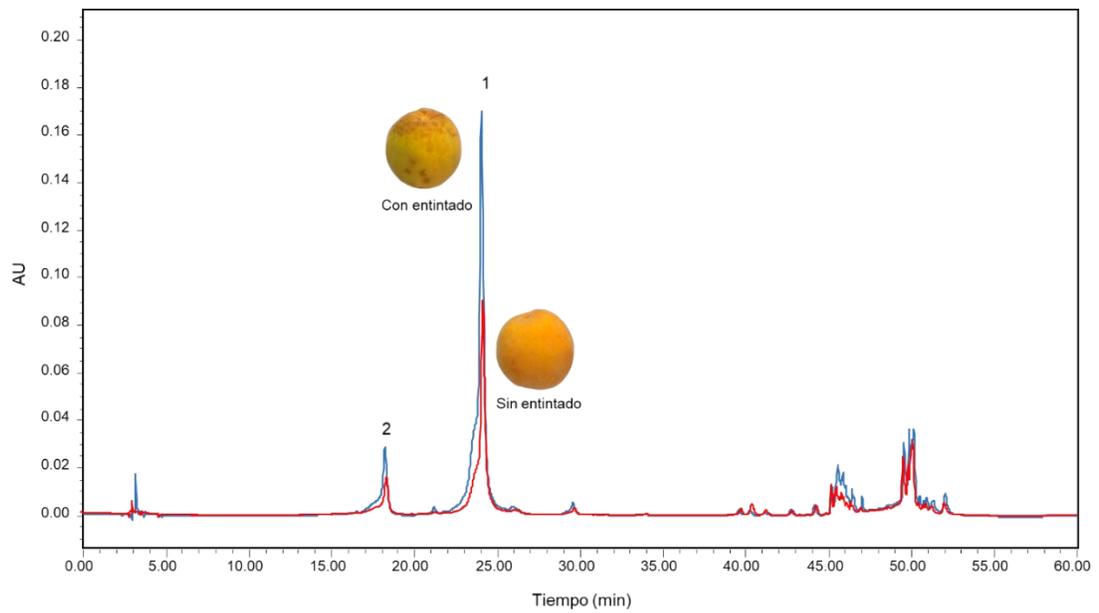


Figura 23: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos obtenido mediante HPLC de frutos de durazno de la variedad 'MG8' con y sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.

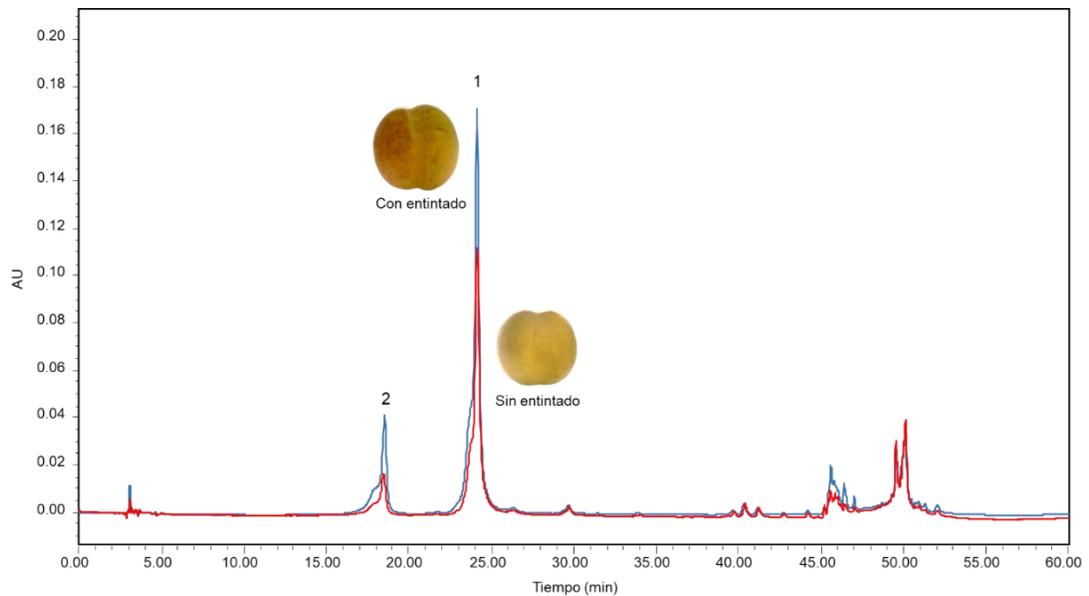


Figura 24: Perfil cromatográfico de los extractos fenólicos obtenido mediante HPLC de frutos de durazno de la variedad 'Colegio' con y sin entintar: (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico.

De igual forma, los perfiles cromatográficos de los extractos fenólicos de las variedades 'MG8' y 'Colegio' con entintado, mostraron señales más altas de los ácidos neo-clorogénico y clorogénico (Figura 23 y 24).

La presencia de ácido clorogénico en durazno ha sido reportada por diferentes autores, Ding *et al.*, (2020) reportaron que los ácidos fenólicos son los principales fenoles de frutos de durazno y que estos ácidos tienen una alta capacidad antioxidante debido a que actúan para deslocalizar o estabilizar radicales fenoxilo dentro de su estructura. También Geçer (2020) reportó un contenido de 7.6 a 19.9 mg 100 g⁻¹ de ácido clorogénico muestra en base húmeda en siete variedades cultivadas en Turquía. Estos datos pueden sugerir que, el incremento en el contenido de ácido clorogénico en frutos entintados podría estar involucrado en el mecanismo del entintado.

7.1.3 Actividad enzimática de síntesis y degradación de fenoles

7.1.3.1 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL)

Se ha demostrado que la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos es uno de los mecanismos de defensa de las plantas a situaciones de estrés externo. Una de las enzimas que controla la síntesis de compuestos fenólicos es la fenilalanina amonio liasa (PAL). Esta es la primera enzima en la ruta de síntesis de estos compuestos, la cual involucra la desaminación del aminoácido fenilalanina para formar el ácido trans- cinámico y amonio. El nivel de la expresión de PAL y su actividad dependerá tanto de la edad, etapa de desarrollo y al tipo de tejido; también los factores ambientales como la radiación, sequía, heridas o infección por patógenos etc. pueden inducir la expresión del gen de esta enzima o su actividad (Camm & Towers, 1973; Barros & Dixon, 2019); por ello la evaluación de la actividad de la PAL, da una idea de la capacidad que tiene una planta o variedad para responder a los factores de estrés internos o externos.

Dentro de los frutos no entintados de las tres variedades estudiadas, la actividad de fenilalanina amonio liasa fue estadísticamente mayor en la variedad 'MG8' a la que le siguieron las variedades '229' y 'Colegio' las cuales no mostraron diferencias significativas entre sí (Figura 25). La incidencia del entintado en los frutos de las variedades 'MG8' y 'Colegio', estuvo asociado a una mayor actividad de esta enzima. Estos datos confirman la mayor síntesis o producción de compuestos fenólicos que mostraron los frutos entintados descritos en la sección anterior. Esto señala que el proceso de entintado indujo una mayor expresión y actividad de PAL que incrementó la síntesis de compuestos fenólicos en general y de ácido clorogénico en particular.

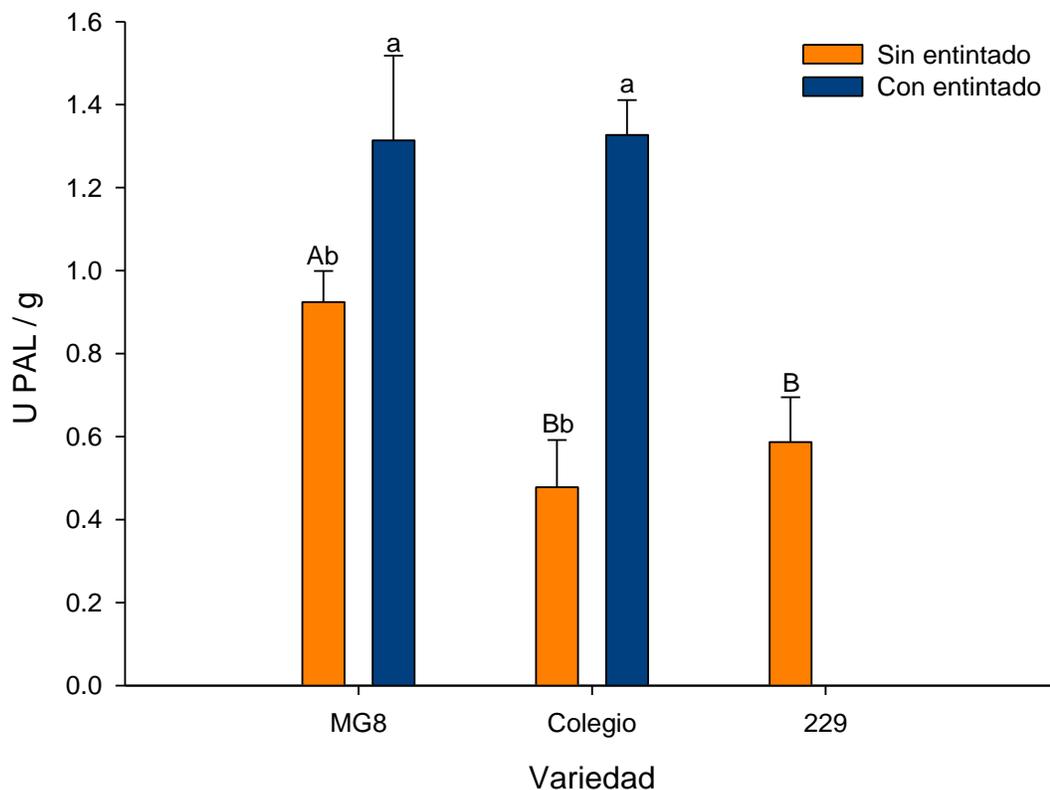


Figura 25: Actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de tres variedades de durazno ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado. Las barras verticales representan la desviación estándar. Letras minúsculas distintas en una misma variedad indican diferencias significativas entre frutos entintados y no entintados ($p < 0.05$). Letras

mayúsculas diferentes entre variedades indican diferencias ($p < 0.05$, Tukey). Una unidad de actividad de PAL es 1 μmol de ácido cinámico producido en una hora.

Las diferencias porcentuales de actividad de esta enzima, la variedad 'MG8' presentó 93.3% mayor actividad en comparación con las variedades 'Colegio' 57.4% respecto de la variedad '229'; en frutos entintados, la variedad 'MG8' presentó 42.2% más actividad que sus frutos no entintados y la variedad 'Colegio' presentó un incremento de 63.9% respecto de sus frutos no entintados. Estudios previos han demostrado que cuando las plantas se encuentran bajo estrés biótico (virus, bacterias, hongos) o abiótico (luz UV, temperatura, heridas, estrés salino, metales pesados) se induce la actividad de PAL y provocando la acumulación de compuestos fenólicos como ligninas, ácidos fenólicos (ácido clorogénico), y flavonoides, considerándose así la PAL como un marcador de estrés ambiental (Sirin & Aslim, 2019; Astaneh *et al.*, 2018; Ortega-Hernández *et al.*, 2018).

Estos datos sugieren que la presencia de iones metálicos como el Fe (III), inducen la síntesis de compuestos fenólicos a través de la expresión de la PAL que a su vez impulsó la síntesis de ácidos fenólicos.

7.1.3.2 Actividad de la polifenol oxidasa (PPO).

El oscurecimiento en frutos es un proceso donde el tejido del fruto cambia de su coloración normal a pigmentos color marrón, lo cual afecta la calidad de los alimentos. Aunque en la mayoría de los casos se considera un defecto de calidad y es indeseable, existen algunos productos donde se desea que presenten este cambio de coloración. Este oscurecimiento puede surgir por un pardeamiento enzimático y no enzimático según el mecanismo, la reacción enzimática implica la acción de la enzima polifenol oxidasa (PPO), y está asociado a daños mecánicos durante el almacenamiento, transporte y procesamiento de los frutos (Moon *et al.*, 2020).

Cuando los productos se someten a daños mecánicos por heridas, se inducen enzimas de la síntesis de compuestos fenólicos como la fenilalanina amonio liasa (PAL), su oxidación por la polifenol oxidasa (PPO). La enzima utiliza oxígeno como cosustrato y cataliza dos importantes reacciones, en primer lugar ocurre una hidroxilación donde se agrega un grupo hidroxilo a un monofenol en la posición orto para producir un o- difenol, posteriormente este o- difenol se oxida produciéndose una o- quinona que finalmente se polimeriza en pigmentos marrones (Santos *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2019; Zawawi *et al.*, 2022).

Los valores de actividad de esta enzima en las diferentes variedades analizadas señalaron diferencias significativas entre los frutos sin entintado; la variedad '229' mostró la mayor actividad, seguida por la actividad 'Colegio' y finalmente por la variedad 'MG8' que mostró la menor actividad. La incidencia de entintado provocó una mayor actividad de esta enzima en las variedades 'MG8' y 'Colegio' (Figura 26). Este incremento fue del 70.9% y 107% respectivamente.

De manera interesante se observó que la variedad '229' presentó una actividad mayor de PPO, no obstante, no presentó entintado.

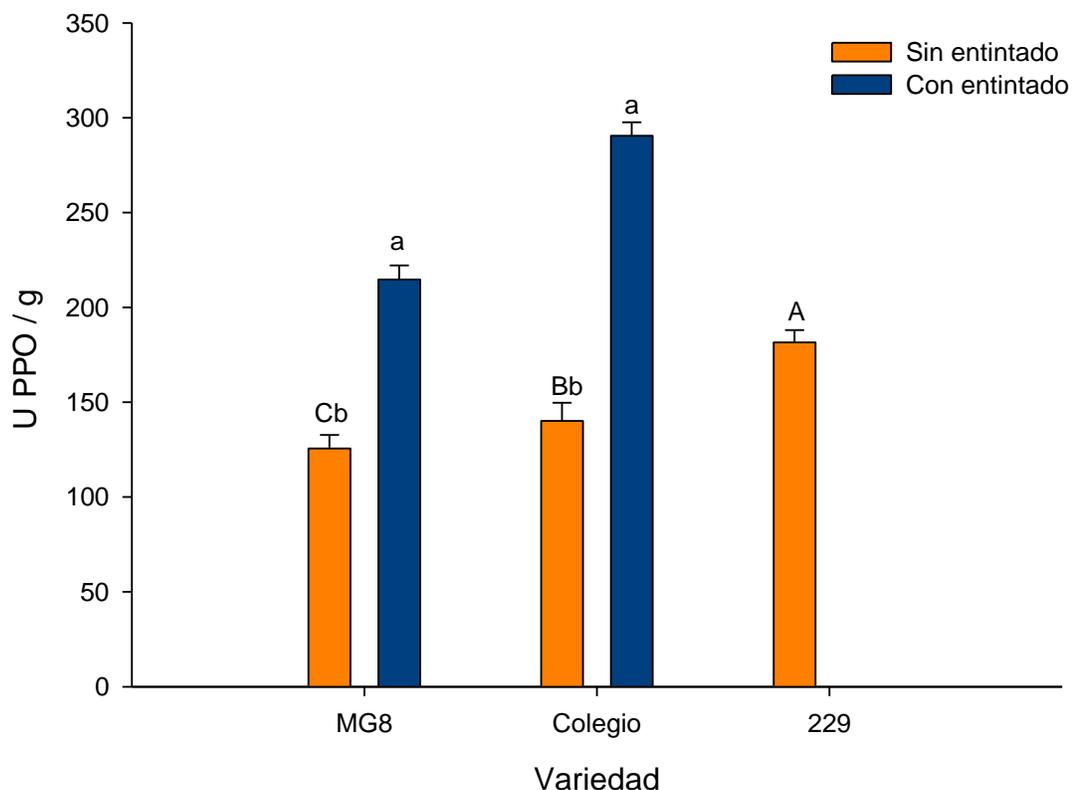


Figura 26: Cambios en la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (PPO) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado. Cada valor es la media de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas en una misma variedad indican diferencias significativas entre frutos entintados y no entintados ($p < 0.05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre variedades ($p < 0.05$, Tukey).

La actividad de PPO podría explicar el entintado. No obstante, habría que considerar por qué en la variedad '229' no se presenta este desorden aunque mostró la mayor actividad en sus frutos no entintados. Este podría explicarse, por el hecho que una condición de no daño, los compuestos fenólicos y las enzimas oxidativas están en diferentes compartimentos dentro de la célula y no interactúan entre sí, y cuando ocurre un daño celular puede ocurrir esta alteración estructural poniendo en contacto la enzima con el sustrato.

Bajo la anterior premisa, se podría hipotetizar que el entintado ocasionado por la presencia de iones de Fe(III) podría inducir la liberación de compuestos fenólicos

(por un mecanismo no conocido) induciendo la expresión y actividad de la PPO contribuyendo al desarrollo del entintado. Esto podría contribuir a explicar la diferencia entre variedades. No obstante, también quedaría por explicar por qué son diferentes esas manifestaciones.

7.1.3.3 Actividad de la peroxidasa (POD)

Cuando hablamos de oscurecimiento enzimático, normalmente se menciona a la polifenol oxidasa (PPO) como la enzima que provoca este oscurecimiento, sin embargo, la oxidación de compuestos fenólicos en las plantas o frutos está catalizada por dos enzimas principalmente, la PPO y la peroxidasa (POD) (Mei *et al.*, 2020). Esta última logra la oxidación de diferentes compuestos en presencia de peróxido de hidrógeno, y está asociada a la síntesis de ligninas en la pared celular (Singh *et al.*, 2018). A pesar de que esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en la planta, su participación en el pardeamiento enzimático en los tejidos es restringida por la concentración reducida de peróxido de hidrógeno en las plantas (Ahmad *et al.*, 2018).

La actividad de la peroxidasa en frutos sin entintado fue estadísticamente diferente en las tres variedades estudiadas; la variedad 'Colegio' mostró la actividad más alta seguida por la variedad '229' y finalmente por la 'MG8' que mostró la actividad menor. Al igual que la PPO, la incidencia de entintado indujo una mayor actividad en las variedades 'MG8' y 'Colegio' (Figura 27). Los incrementos de actividad fueron de 141.3% en la variedad 'MG8' y 66.4% en la variedad 'Colegio'.

Análogamente a la actividad de PPO, en el caso de la POD, al estar el fruto en una situación de estrés por herida se induce una respuesta que lleva a la síntesis de ligninas que facilitarían el proceso de cicatrización del tejido. Si se considera que el entintado de los frutos en campo no necesariamente está asociado a daño mecánicos y por tanto este no sería el factor que induce la actividad de POD asociada a la síntesis de ligninas; por ello es posible que la presencia de iones

Fe(III) induzcan respuestas dentro de las célula que alteren el balance oxidativo generando especies reactivas de oxígeno que inducen la actividad de otras POD para reestablecer ese equilibrio (Singh *et al.*, 2018).

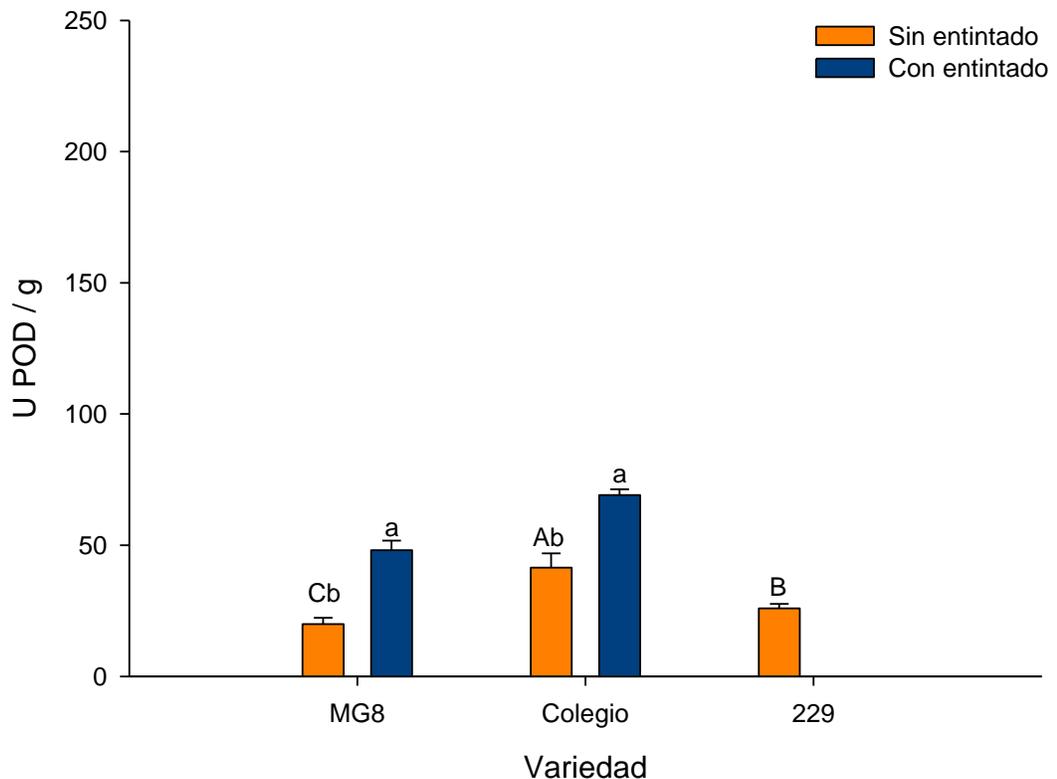


Figura 27: Cambios en la actividad enzimática de la peroxidasa (POD) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin y con entintado. Distintas letras minúsculas en una misma variedad indican diferencias entre frutos entintados y no entintados ($p < 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en diferentes variedades indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$, Tukey).

7.2 Segunda etapa. Estudios complementarios de inducción del fenómeno de entintado. Factores que lo inducen.

En la sección anterior se aportó información del entintado de durazno, tomando como condición la presencia de este desorden en frutos colectados con ese defecto en el momento de la cosecha y suponiendo que el desorden pudiera estar generado

por la presencia de iones de Fe(III) en la piel y su asociación con el contenido de fenoles totales, de ácido clorogénico y de las actividades enzimáticas asociadas a la síntesis y oxidación de los compuestos fenólicos.

En esta sección se describe el efecto del daño por cepillado de los frutos además de la adición de iones de Fe(III) en forma de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

7.2.1 Efecto del cepillado en el desarrollo del entintado y calidad visual

Después de la cosecha, el durazno pasa por diferentes operaciones de manejo para empacarlo y distribuirlo a los diferentes puntos de venta. Estas operaciones de manejo incluyen la cosecha manual, llenado de contenedores de campo (aproximadamente con 300 a 500 kg de fruta), el transporte de contenedores en las instalaciones de empaque, descarga y recepción de contenedores en las instalaciones de empaque, hidrogenfriado de fruta con agua helada (3°C), almacenamiento temporal en cámara fría ($1-3^\circ\text{C}$), descarga automática de contenedores para alimentación a la línea de empaque, selección de la fruta para separación de fruta con defectos críticos, cepillado y lavado, para remover tricomas por medio de cepillos, secado con aire para eliminar humedad superficial, encerado por goteo de ceras específicas y cepillos que realizan la distribución de la cera sobre los frutos, segundo secado con aire, clasificación por tamaño a través de rodillos basculantes que incrementan su distancia de separación a medida que avanzan en línea de clasificación, empaque manual en cajas de cartón de acuerdo a los calibres de cada fruta, conformación de pallets y almacenamiento en cámara fría ($1-3^\circ\text{C}$) hasta su embarque a los mercados de destino.

Durante estas operaciones, la fruta está sujeta o expuesta a daño mecánico, especialmente durante el cepillado donde se presenta un daño más intenso. De acuerdo con esta operación, se propuso un modelo para reproducir el entintado en condiciones de laboratorio simulando el proceso que llevan a cabo los productores de la zona de Aguascalientes, y considerando este daño mecánico y la presencia

de iones de Fe(III) como factores clave en el desarrollo del entintado en frutos (Cheng & Crisosto, 1997; Cheng & Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 2009). En esta sección se estudia la inducción del entintado debido al tiempo de residencia en la operación de cepillado analizando los efectos que esta operación indujo en el contenido de fenoles totales, perfil fenólico y la actividad de las enzimas PAL, PPO y POD.

Se cosecharon frutos no entintados de las variedades 'MG8', 'Colegio' y '229', se trasladaron al laboratorio, se enfriaron en cámara a 1°C para eliminar calor de campo y finalmente se sometieron a un cepillado con rodillos durante 0,1,3 y 5 minutos; los frutos cepillados fueron almacenados nuevamente por 0, 24 y 48 horas a 1°C. Después de los tiempos de almacenamiento se realizaron las inspecciones visuales, la toma de muestras para los análisis indicados anteriormente (ver procedimiento metodológico en la sección 6)

Los frutos de las tres variedades sin cepillado no mostraron signos visuales de oscurecimiento en su superficie (Figuras 28, 29 y 30). De manera interesante, la variedad '229' (Figura 30) no mostró signos visuales de oscurecimiento en su superficie independientemente del tiempo de cepillado; esto señala claramente que esta variedad es resistente al desarrollo de entintado u oscurecimiento.

Por otro lado, las variedades 'MG8' (Figura 28) y 'Colegio' (Figura 29) mostraron signos evidentes de oscurecimiento o entintado en la superficie del fruto a partir de 1 min de cepillado. Estos signos se incrementaron a medida que se prolongó el tiempo de cepillado y el tiempo de almacenamiento de los frutos. Los frutos cepillados por 5 minutos exhibieron un oscurecimiento más intenso, lo cual indicó que la intensidad del oscurecimiento se incrementó durante el almacenamiento aunque el fruto ya no era cepillado y se encontraba en reposa. Estas observaciones coinciden con las observaciones que se hacen durante la comercialización de los frutos en el sentido que el proceso de oscurecimiento se incrementa durante el tiempo de comercialización.

Esta diferencia entre variedades en el desarrollo del oscurecimiento/entintado, indica que existe cierta susceptibilidad a presentar o desarrollar el fenómeno, siendo las variedades 'MG8' y 'Colegio' más susceptibles a desarrollar el fenómeno y que la variedad '229' es resistente a este desorden.

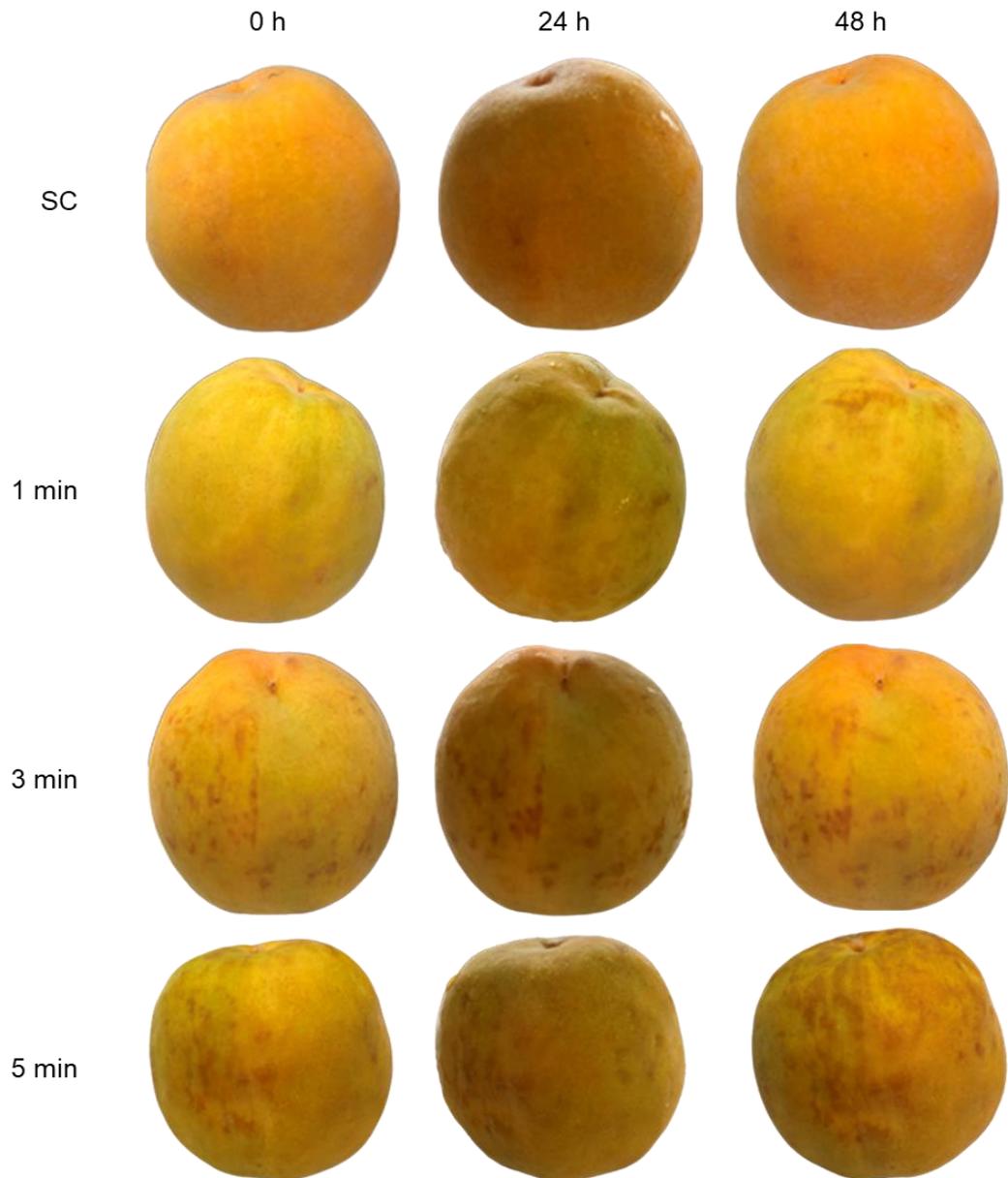


Figura 28: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. 'MG8'.

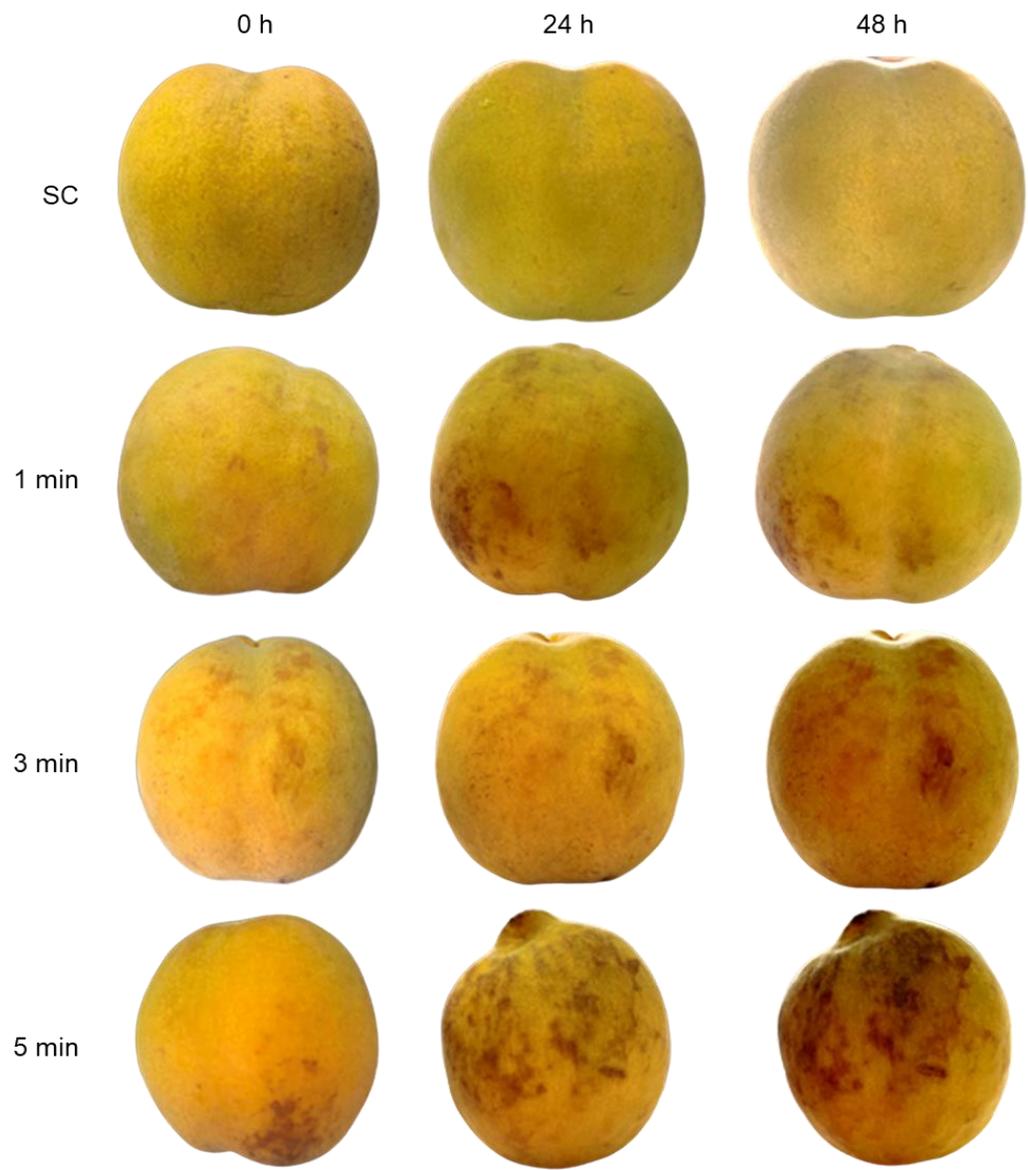


Figura 29: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. 'Colegio'.

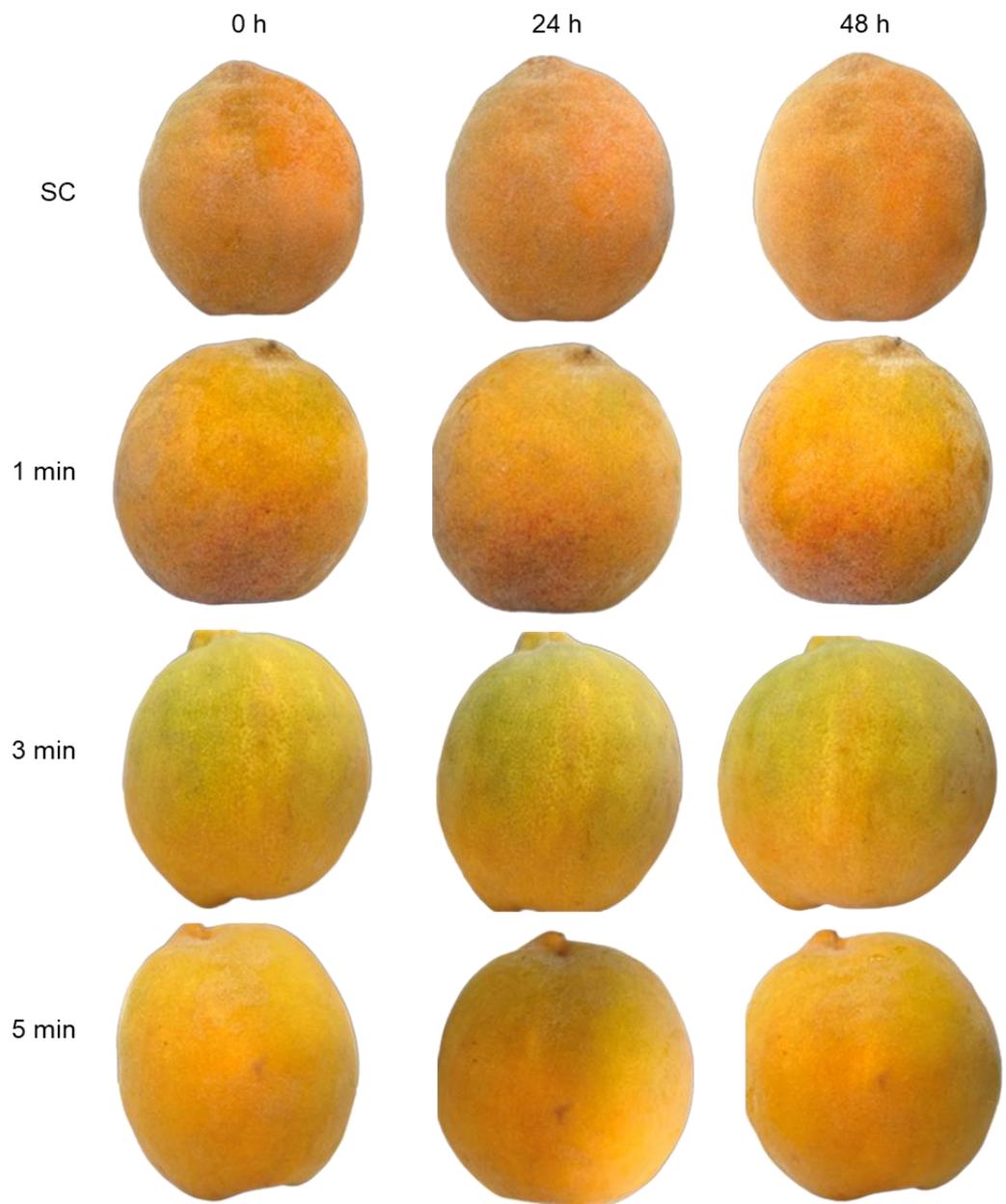


Figura 30: Efecto del cepillado por diferentes tiempos en el desarrollo de entintado de durazno cv. '229'.

7.2.1.2 Cambios en el contenido de fenoles totales

Si el cepillado por diferentes tiempos indujo cambios en la calidad visual de los frutos de aquellas variedades susceptibles; parece lógico señalar que deben haber

cambios en el contenido de fenoles totales durante el estrés mecánico que induce el cepillado.

Una respuesta al estrés mecánico en las plantas es el incremento en el contenido fenólico (Guan *et al.*, 2020; Reyes & Cisneros-Zevallos, 2003).

El contenido de fenoles totales incrementó conforme se incrementó el tiempo de cepillado en la variedad 'Colegio'; mientras que en la variedad 'MG8', se observa un decremento en la aplicación de 1 min de cepillado, posteriormente se observó un incremento gradual en el contenido fenólico con la aplicación del cepillado (Figura 31). Para la variedad más susceptible a medida que se intensificó el daño mecánico aplicado, el contenido fenólico total también incrementó. En el caso de la variedad '229', se mostró un incremento con el cepillado de 1 minuto de cepillado, después de 3 y 5 min de cepillado no tuvo impacto significativo en el contenido fenólico

Los datos anteriores señalan que el cepillado induce la síntesis de compuestos fenólicos y que estos podrían explicar los cambios en el color superficial de los frutos.

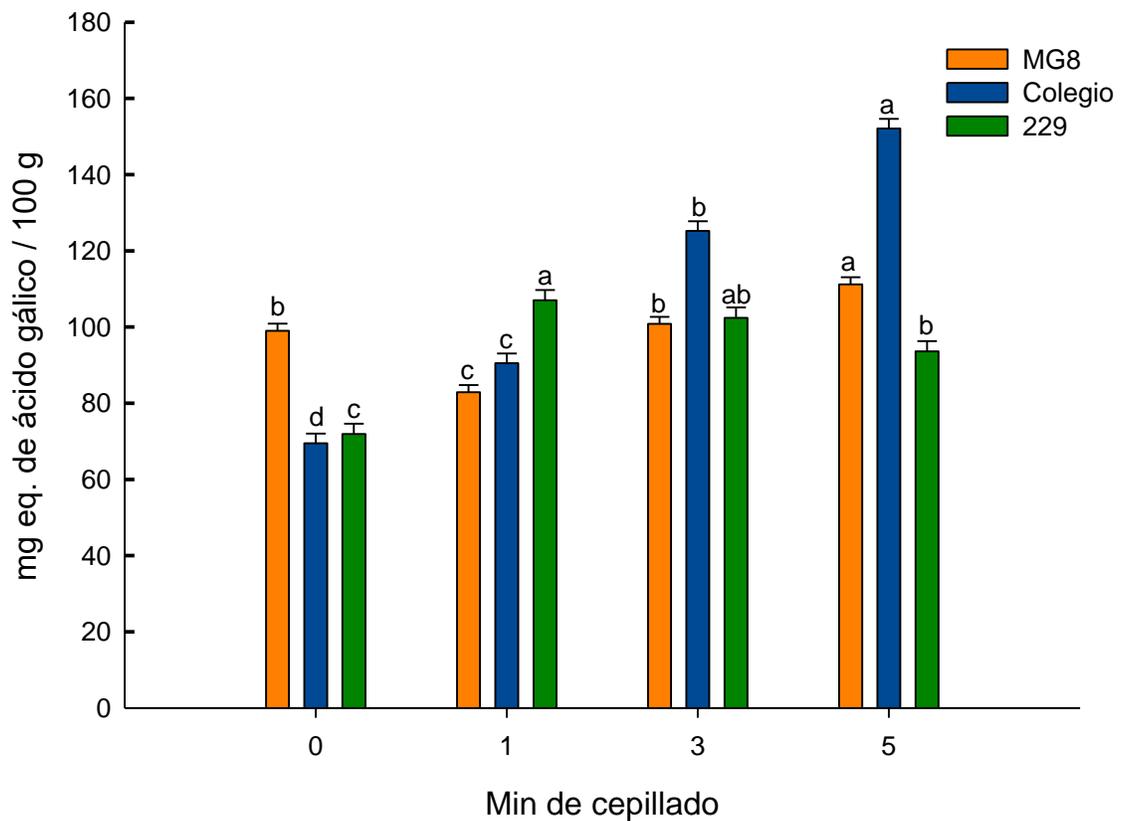


Figura 31 Cambios del contenido de fenoles totales ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229, después de haber sido sometido a cepillado por diferentes tiempos. Valores con diferente letra denotan diferencia significativa entre tratamientos dentro de la misma variedad ($p < 0.05$, Tukey).

En otros estudios se ha reportado que el estrés por herida incrementa el contenido fenólico total, esto al activar cascadas de señalización que activan la expresión de genes relacionados con el metabolismo secundario, que posteriormente activa enzimas clave para la síntesis de estos compuestos como PAL, este incremento y acumulación de compuestos se ha reportado en zanahoria, papa, brocoli y tuna (Guan *et al.*, 2020; Ortega-Hernández *et al.*, 2019; Surjadinata *et al.*, 2021; Torres-Contreras & Jacobo-Velázquez, 2021).

Se ha reportado que el daño mecánico, produce un daño a nivel celular, induciendo la ruptura en diferentes estructuras celulares, como pared celular y organelos como

las vacuolas; este rompimiento trae la liberación de enzimas y compuestos contenidos en los organelos, facilitando así la reacción entre estas enzimas u otras moléculas con el contenido vacuolar dando como resultado algún defecto visual (Li *et al.*, 2017; Fernando *et al.*, 2018; Fernando *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2007). No obstante, también el daño mecánico induce reacciones de respuesta que incluyen la biosíntesis de moléculas implicadas en la reparación del daño.

Los datos de este estudio señalan que el daño por cepillado de la piel, daño de células, provocó las reacciones de oscurecimiento de la epidermis (mayor actividad de PPO); no obstante el incremento de la síntesis de compuestos fenólicos señala una respuesta que indujo la síntesis de fenoles (mayor actividad de PAL) y respuesta al estrés oxidativo (mayor síntesis de ácido clorogénico y mayor actividad de POD).

Resumiendo estos resultados parecen indicar que el daño mecánico aplicado, provocó un rompimiento de las diferentes estructuras celulares, liberando estos compuestos de la vacuola y facilitando su interacción ya sea con enzimas oxidativas como PPO y POD potenciando el oscurecimiento, también es posible que las reacciones de iones metálicos como el hierro (contenidos en la piel) formen un mayor contenido de complejo fenol-hierro contribuyendo sinérgicamente al oscurecimiento o entintado de los frutos.

7.4.2.2 Identificación y cuantificación de perfil fenólico por HPLC

El análisis por HPLC de los extractos fenólicos no señaló cambios en el perfil de compuestos identificándose los mismos ácidos fenólicos indicados en la primera sección de resultados, el ácido neo-clorogénico y el ácido clorogénico. Esto señaló, que el daño mecánico no modificó el perfil fenólico de los frutos de las tres variedades.

La Figura 32 muestra el perfil fenólico de la variedad 'Colegio', el cual es un cromatograma representativo de las tres variedades, también muestra que la altura

de los picos se incrementó de manera proporcional al incremental la intensidad del daño mecánico o tiempo de cepillado.

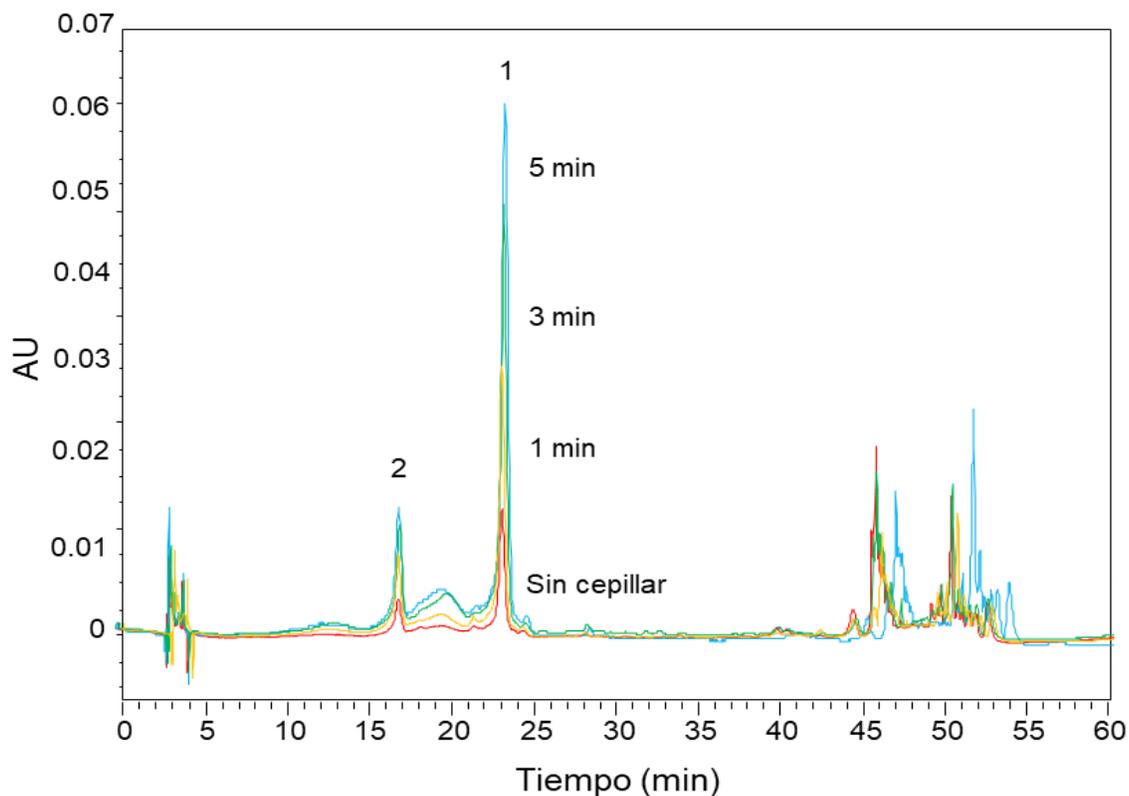


Figura 32: Perfil de los compuestos fenólicos de frutos de durazno de la variedad 'Colegio' sometidos a diferentes tiempos de cepillado (1) ácido clorogénico, (2) ácido neoclorogénico.

La comparación de medias del contenido de ácido clorogénico de cada variedad y tratamiento de cepillado, mostró que la aplicación del daño mecánico incrementó de manera significativa el contenido de ácido clorogénico en los frutos en comparación con los frutos no cepillados (Tabla 10).

Tabla 10: Comparación de medias del contenido de ácido clorogénico eq ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 cepillados por diferentes tiempos.

Min de cepillado	mg ácido clorogénico / 100 g FW		
	MG8	Colegio	229
0	9.36 ± 1.39^b	7.14 ± 0.88^b	8.09 ± 0.82^b

1	10.27 ± 0.72 ^b	9.79 ± 0.69 ^b	8.84 ± 0.67 ^{ab}
3	12.35 ± 2.77 ^{ab}	16.16 ± 2.24 ^a	10.07 ± 0.76 ^{ab}
5	16.96 ± 1.63 ^a	19.30 ± 3.39 ^a	11.39 ± 1.54 ^a

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (n=3). Distintas letras minúsculas en una misma columna indican diferencias entre frutos dentro de una misma variedad ($p < 0.05$).

De manera similar al contenido de fenoles totales, el incremento en el contenido de ácido clorogénico podría ser una respuesta adaptativa de la planta al estrés mecánico, el aumento en ácido clorogénico ha sido previamente reportado en plantas bajo situación de estrés salino heridas y temperatura (Yan *et al.*, 2016; Torres-Contreras & Jacobo-Velázquez, 2021).

7.4.2.3 Cambios en la actividad enzimática

7.4.2.3.1 Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL)

La medición de actividad de esta enzima mostró que antes de la aplicación del cepillado, los frutos de las diferentes variedades tuvieron una actividad propia de cada variedad (muestras sin cepillado) y que esta actividad se incrementó en las tres variedades por efecto del cepillado, en la variedad 'MG8' incrementó 53.6%, la variedad 'Colegio' 27.5%, y de manera interesante, la variedad '229' que tenía la actividad más baja antes del cepillado, mostró un incremento de 223.8% después del cepillado siendo la variedad que tuvo el mayor incremento de actividad (Figura 33).

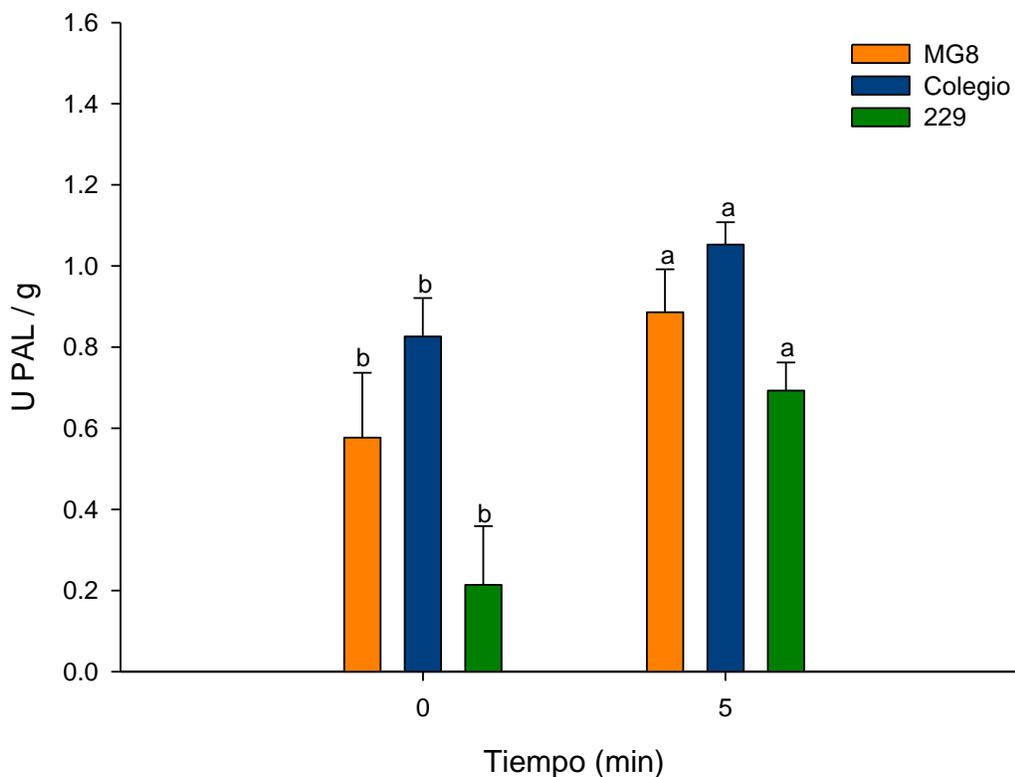


Figura 33: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepillados por 5 minutos. Cada valor es la media de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas en columnas de la misma variedad indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Una unidad de actividad de PAL es $1 \mu\text{mol}$ de ácido cinámico producido en una hora.

Aunque la variedad '229' presentó el mayor incremento en la actividad de PAL, no se presentó oscurecimiento en la piel del fruto. Mientras que las otras variedades tuvieron incrementos porcentuales más bajos, los valores de actividad fueron más altos. El incremento en la actividad de PAL bajo estrés mecánico ya ha sido reportado como una respuesta adaptativa de las plantas a situaciones de estrés, resultando en la acumulación de estos compuestos que proporcionarían resistencia contra daños, en este caso heridas (Sirin & Aslim, 2018; Astaneh *et al.*, 2018; Ortega-Hernández *et al.*, 2018). Estos resultados sugieren que, el aumento en la actividad de PAL se debió al cepillado de los frutos y llevó a la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos.

7.4.2.3.2 Actividad de polifenol oxidasa (PPO)

Al estar sometido el fruto a un daño mecánico, donde se produjo una ruptura de las estructuras celulares liberando los compuestos fenólicos y pudiendo interaccionar con enzimas oxidativas, se evaluó la actividad de enzimas oxidativas como PPO y POD, para observar si podrían explicar el oscurecimiento o entintado.

La actividad de PPO fue notablemente menor en las muestras no cepilladas en las tres variedades. En contraste los frutos cepillados por 5 minutos mostraron un notable incremento en la actividad de esta enzima (Figura 34). Estos datos también señalan que el daño mecánico induce la oxidación de los fenoles y por tanto esta actividad podría explicar el oscurecimiento o entintado de los frutos en las variedades 'MG8' y 'Colegio'. No obstante, es importante señalar que en la variedad '229' aunque también se observó un incremento significativo en la actividad de esta enzima, este dato no se correspondió con un fenómeno de oscurecimiento o entintado pues los frutos de esta variedad no lo presentaron. Estos datos sugieren que el fenómeno de entintado podría estar asociado a otros factores no necesariamente ligados a la actividad de esta enzima.

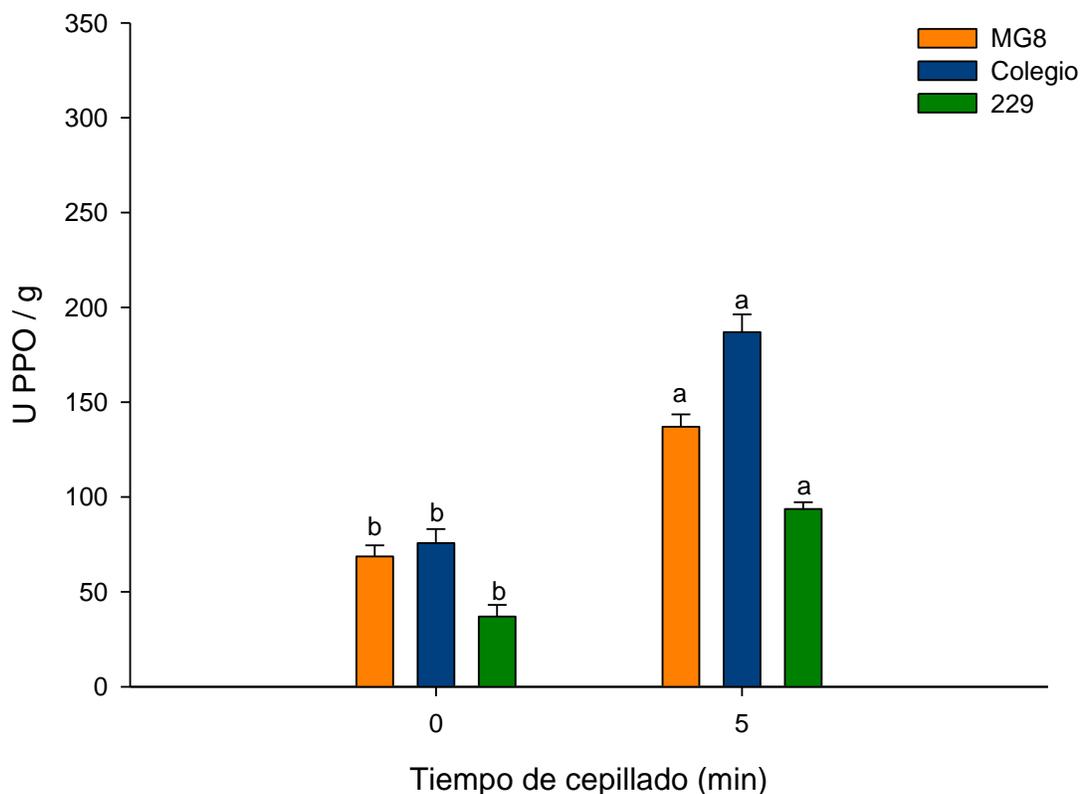


Figura 34: Cambios en la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (PPO) de frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepilladas por 5 minutos. Cada valor es la media de tres repeticiones. Letras minúsculas diferentes en la misma variedad diferencias significativas ($p < 0.05$).

A este respecto, si se comparan los datos de la actividad de esta enzima en las muestras de frutos sin cepillar y cepillados por 5 minutos con los datos de esta misma enzima para los frutos colectados en la cosecha sin entintar y con entintado (Figura 25) se observa que las actividades de los frutos sin y con entintado fueron mayores que las actividades de los frutos sin cepillar o cepillados por 5 minutos (Figura 34). Se debe considerar que las muestras analizadas en ambos casos fueron tomadas en forma independiente y que la diferencia de datos pudiera atribuirse a este factor.

De manera inicial, comparando la actividad de los frutos con daño mecánico inducido con los frutos que ya traían entintado directamente del muestreo (Figura

25), podemos observar que la actividad en los frutos sin entintado, a pesar de que no presentaban el defecto, presentan una actividad mucho mayor que al inducirles el fenómeno mediante daño mecánico; esta actividad tan elevada se debe a que los frutos que no fueron cepillados no tenían ningún daño previo puesto que fueron recolectados directamente del campo, mientras que los frutos sin entintado ya presentaban un daño mecánico debido a que los frutos ya habían sido sometidos a la cadena de procesamiento donde se les aplica un cepillado y posteriormente fueron seleccionados para el muestreo.

Los incrementos porcentuales de actividad debido al cepillado para cada una de las variedades fueron 99.5% en 'MG8', 147% en la variedad 'Colegio', y 153.3% en la '229'. Este incremento podría estar explicado por el daño celular ocasionado por el cepillado que indujo, la liberación de los compuestos fenólicos acumulados y permitiendo su reacción con las enzimas oxidativas (Santos *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2019).

7.4.2.3.3 Actividad de peroxidasa (POD)

La actividad de peroxidasas en los frutos sin cepillar fue significativamente menor que la mostrada por los frutos cepillados por 5 minutos en las tres variedades analizadas (Figura 35). No obstante, la variedad '229' mostró los menores valores, mientras que las variedades 'MG8' y 'Colegio' presentaron actividades significativamente más altas que la '229' pero similares entre ellas. Estos datos sugieren que la variedad '229' probablemente tiene menor producción de peróxido de hidrógeno y por tanto menor estrés oxidativo; al comparar estos datos con los obtenidos en el muestreo de frutos entintados y no entintados (Figura 23) los valores para esta variedad fueron similares.

El incremento porcentual de la actividad de POD, fue de 219.2% para la variedad 'MG8', 192.1% para la variedad 'Colegio' y 137.4% en la variedad '229'.

Resultados similares se han reportado en zanahoria, melón y papa, donde al encontrarse el tejido herido ya sea por corte, rebanado, pelado o cepillado, la actividad de estas enzimas (PPO y POD) se incrementó (Alegria *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2019).

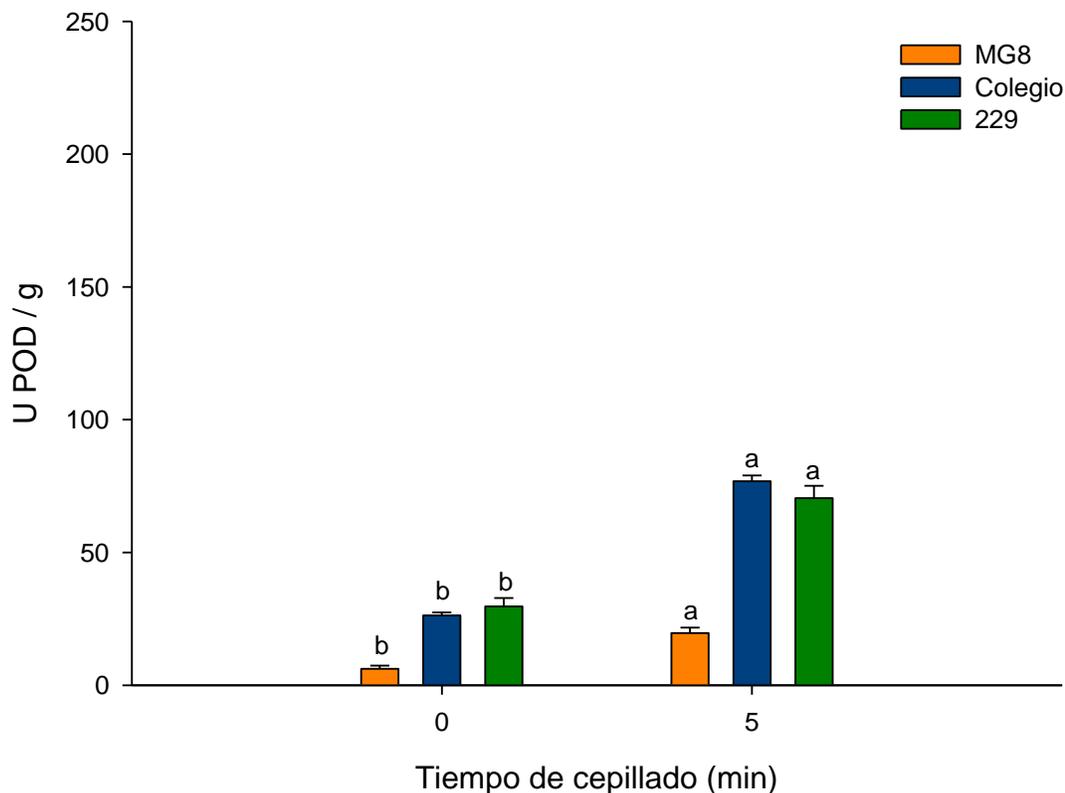


Figura 35: Cambios en la actividad enzimática de peroxidasa (POD) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') sin cepillar y cepilladas por 5 minutos. Cada valor es la media de tres repeticiones. Letras minúsculas diferentes en la misma variedad indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tomando en conjunto los datos generados en estos experimentos de cepillado de los frutos se puede concluir que el cepillado por diferentes tiempos indujo los siguientes cambios i) desarrollo de oscurecimiento de los frutos durante el almacenamiento en las variedades 'MG8' y 'Colegio'; ii) el cepillado indujo la síntesis de fenoles totales en general y el ácido clorogénico en particular en las tres

variedades y iii) incrementos en la actividad de PAL, PPO y POD en las tres variedades.

No obstante, la comparación de las actividades de PPO de frutos cepillados con frutos con entintado desde campo sugiere que el entintado de frutos desde campo es más complejo y que el daño mecánico solo podría contribuir parcialmente a este desorden.

7.3 Tercera etapa. Efecto de la presencia del ion Fe(III) y cepillado en el desarrollo de entintado/oscorecimiento.

7.3.1 Efecto de la exposición de iones metálicos

Reportes previos indican que el daño mecánico y la presencia de iones metálicos son factores clave en el desarrollo del entintado en frutos (Cheng & Crisosto, 1997; Cheng & Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 2009). En este apartado se muestran los efectos de la aspersion de los frutos poscosecha con soluciones de hierro $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones en el contenido de fenoles totales, perfil fenólico y análisis enzimático.

La aplicación de las diferentes soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$ no indujeron oscorecimiento en la piel de los frutos en las variedades 'MG8' y '229' (Figura 36 y 38), mientras que en la variedad 'Colegio' hubo un ligero oscorecimiento durante el almacenamiento con las aplicaciones de ambas concentraciones de la sal (Figura 37). Estos datos indicaron que la reproducción del entintado en poscosecha mediante la sola aspersion de soluciones de Fe(III) no fue alcanzada y para ello se requiere probablemente del daño mecánico que libere los compuestos fenólicos los cuales formarían los complejos fenol-metal además de las reacciones de oscorecimiento enzimáticas conocidas.



Figura 36: Entintado de durazno cv. 'MG8' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.



Figura 37: Entintado de durazno cv. 'Colegio' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.

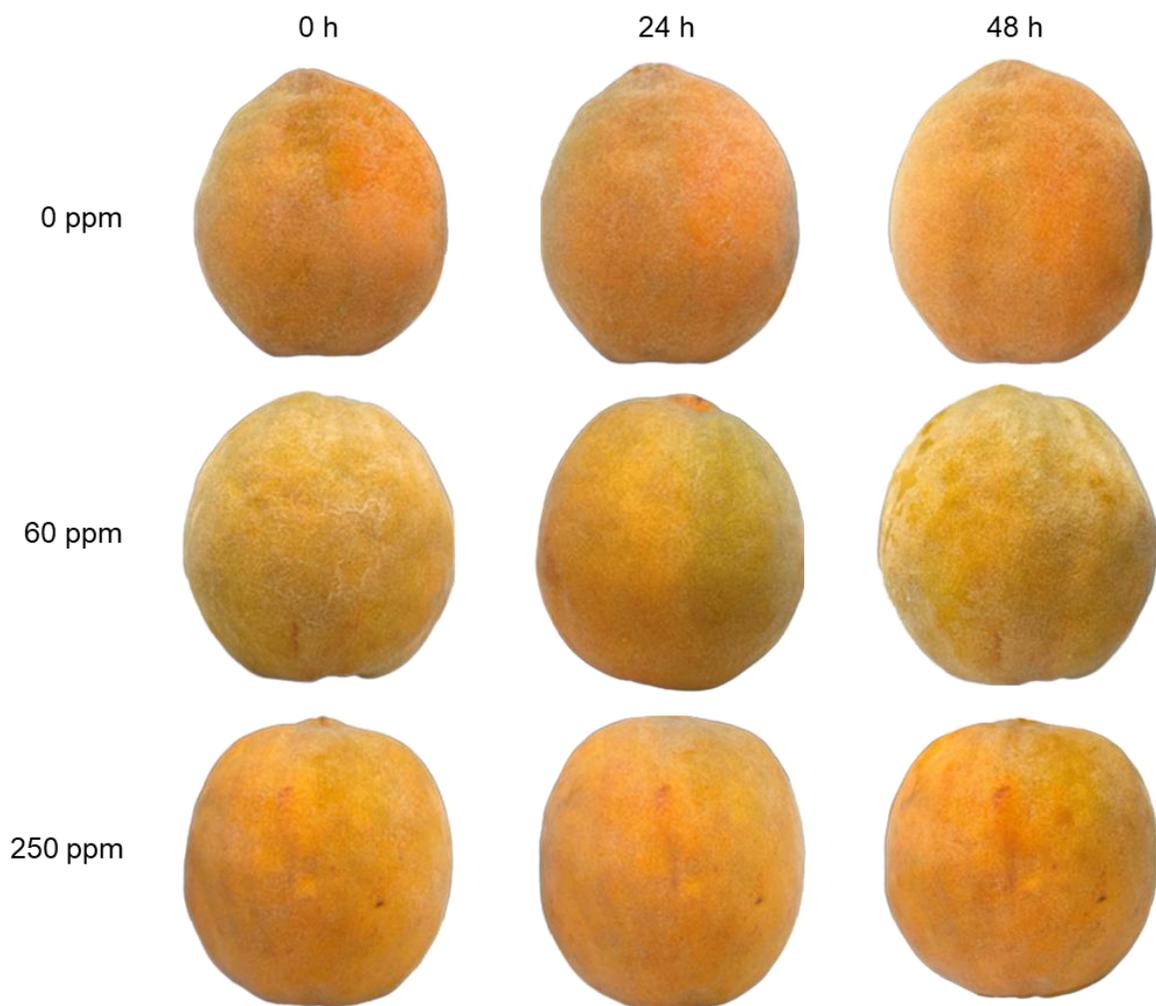


Figura 38: Entintado de durazno cv. '229' inducido por daño mecánico (cepillado) a diferentes tiempos.

La ausencia de oscurecimiento en el tejido podría estar explicado dado que no se presentó un daño mecánico en la superficie, no se ocasionó un rompimiento de las estructuras celulares, evitando así la liberación de compuestos fenólicos e impidiendo que estos compuestos puedan reaccionar en reacciones no enzimáticas formando complejos con los iones Fe(III) presentes en la superficie del fruto (Cheng & Crisosto, 1994)

7.3.1.1 Cambios en el contenido de fenoles totales

Aunque no se observó un desarrollo claro de oscurecimiento de los frutos por las aplicaciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, estas aplicaciones si tuvieron un efecto significativo en la acumulación de fenoles totales (Tabla 11). Las variedades 'Colegio' y '229' mostraron incrementos significativos relacionados directamente al incremento de la concentración de la solución; mientras que la variedad 'MG8', aunque también mostró incrementos significativos de fenoles, no se observó una diferencia entre las dos concentraciones aplicadas.

Los incrementos porcentuales del contenido de fenoles totales de los frutos tratados con la solución de 250 ppm respecto de los frutos no tratados fueron de 57.7 % para la variedad 'MG8', de 110 % en la variedad 'Colegio' y de 87.7 % para la variedad '229'. Nuevamente se hace notar que independientemente de a presencia de iones metálicos el incremento en el contenido fenólico, ninguna de las variedades manifestó oscurecimiento de la piel como el presentado por los frutos entintados desde campo. Estos datos (Tabla 11) sugieren que, la sola presencia de iones metálicos en la piel no es la responsable del entintado del durazno. Pero estos resultados indican que la presencia de estas sales induce la síntesis de estos compuestos como un mecanismo de respuesta a estos iones o sales.

Tabla 11: Comparación de medias del contenido de fenoles totales ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 asperjados con diferentes soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

[] $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (ppm)	mg ácido gálico / 100 g FW		
	MG8	Colegio	229
0	99.0 ± 4.0 ^c	69.5 ± 8.3 ^b	71.8 ± 6.7 ^b
60	137.8 ± 2.3 ^b	130.5 ± 19.6 ^a	131.8 ± 5.7 ^a
250	156.1 ± 2.3 ^a	145.9 ± 25.5 ^a	134.8 ± 8.5 ^a

Valores con letras diferentes dentro de la misma variedad y columna denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, Tukey).

Las plantas presentan mecanismos complejos para responder a entornos o situaciones de estrés los cuales incluyen la percepción de estímulos, activación de señales celulares y respuestas enzimáticas o no enzimáticas. Cuando una planta se encuentra bajo condiciones de estrés por metales pesados, activa un mecanismo que le permite defenderse de un estrés oxidativo generado por las altas concentraciones de metales pesados, que desencadena un estrés oxidativo por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el radical superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH $^-$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singlete (1O_2) los cuales pueden causar daños a diferentes organelos de la célula (Berni *et al.*, 2019; Ghori *et al.*, 2019). Se ha reportado que la síntesis de metabolitos secundarios como ácidos fenólicos, flavonoides y ligninas en los tejidos se considera como una respuesta adaptativa de las plantas a condiciones ambientales adversas, incluyendo la exposición a metales pesados (Crisosto *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2019; Naikoo *et al.*, 2019; Dursun *et al.*, 2019; Oviedo-Farfan *et al.*, 2020). El presente estudio, demuestra que la exposición a iones de Fe, indujo la síntesis de compuestos fenólicos que pueden estar involucrados en los mecanismos de defensa a un posible estrés oxidativo.

7.3.1.2 Identificación y cuantificación del perfil fenólico

Nuevamente el análisis por HPLC de los extractos fenólicos de las muestras de frutos no tratados y tratados con las soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$ permitió identificar los mismos ácidos fenólicos descritos en las secciones anteriores en las tres variedades ('MG8', 'Colegio' y '229'); es ácido neo-clorogénico y el ácido clorogénico, concluyendo que la aspersión de $Fe_2(SO_4)_3$ no modificó el perfil fenólico del fruto pero si indujo la síntesis de estos ácidos fenólicos. Tomando como ejemplo el perfil de la variedad 'Colegio' (Figura 39) se observó que la altura de los picos se incrementó al incrementar la concentración de la solución de $Fe_2(SO_4)_3$.

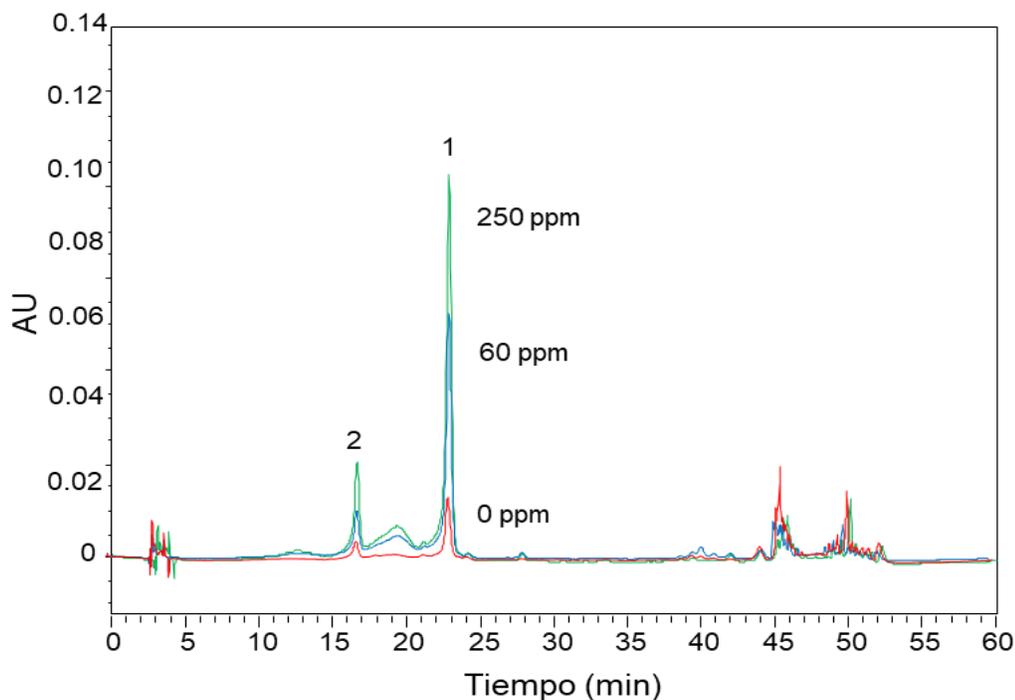


Figura 39: Cambios en el perfil de fenoles de frutos de durazno de la variedad Colegio asperjados con soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$ de diferente (1) ácido clorogénico, (2) ácido neochlorogénico.

La comparación de medias del contenido de ácido clorogénico en las tres variedades muestra que las aplicaciones de las soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$ de 60 o 250 ppm generó incrementos estadísticamente significativos del ácido clorogénico respecto de los frutos control o no asperjados con la solución, aunque los valores entre estas dos concentraciones fueron estadísticamente similares en cada una de las variedades (Tabla 12).

Los incrementos porcentuales de este ácido fueron de 125.4 % en la variedad 'MG8', de 172.6 % en la variedad 'Colegio' y de 137.6 % en la variedad '229' lo cual señala que la variedad Colegio es fue la más sensible a la presencia de este ion metálico.

Tabla 12: Comparación de medias del contenido de ácido clorogénico eq. ($mg\ 100g^{-1}$) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 asperjadas con soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones.

[] Fe ₂ (SO ₄) ₃ (ppm)	mg ácido clorogénico / 100 g FW		
	MG8	Colegio	229
0	9.36 ± 1.39 ^b	7.14 ± 0.88 ^b	8.09 ± 0.82 ^b
60	16.2 ± 3.40 ^a	16.41 ± 2.66 ^a	15.05 ± 2.46 ^a
250	21.1 ± 0.41 ^a	19.47 ± 3.08 ^a	19.22 ± 3.46 ^a

Valores con letras diferentes dentro de la misma variedad y columna denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, Tukey).

El incremento en el contenido de ácido clorogénico podría formar parte de la respuesta adaptativa del fruto a situaciones de estrés, en este caso la presencia de iones metálicos. Se ha reportado que la síntesis de compuestos precursores de las ligninas, se intensifica cuando el fruto se encuentra en condiciones de estrés como la exposición a metales; el ácido clorogénico es un ácido fenólico generado por la esterificación del ácido caféico y el ácido ferúlico, es considerado un precursor en la síntesis de ligninas, y está relacionado con respuestas frente a ambientes estresantes (Dursun *et al.*, 2019; Naikoo *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020)

7.3.1.3 Actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL)

Por el incremento observado de fenoles totales y de ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, se decidió evaluar los cambios en la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) y correlacionarla con su síntesis. Para la síntesis de estos compuestos, la fenilalanina amonios liasa (PAL) es la primera enzima limitante en la vía de los fenilpropanoides (Camm & Towers, 1973; Barros & Dixon, 2019; Berni *et al.*, 2019; Ghori *et al.*, 2019).

En las tres variedades se incrementó la actividad de PAL de manera directa al incrementar la concentración de Fe₂(SO₄)₃, (0, 60 y 250 ppm). No obstante, la variedad 'Colegio' fue la que mostró los cambios mas notorios (Figura 40), mientras que la variedad '229' presentó la menor actividad en comparación con las otras dos variedades. En las variedades 'MG8' y 'Colegio' se observa un efecto de la

concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, la actividad de PAL incrementó cuando la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ fue mayor,

Los incrementos porcentuales de actividad de PAL fueron de 59.6 % en la variedad 'MG8', de 46.4 % en la variedad 'Colegio' y de 128.5 % en la variedad '229'. Estos datos muestran que todas las variedades tienen capacidad para responder a los efectos de las aplicaciones con la sal de Fe pero que la variedad '229' mostró una mayor capacidad que las otras variedades.

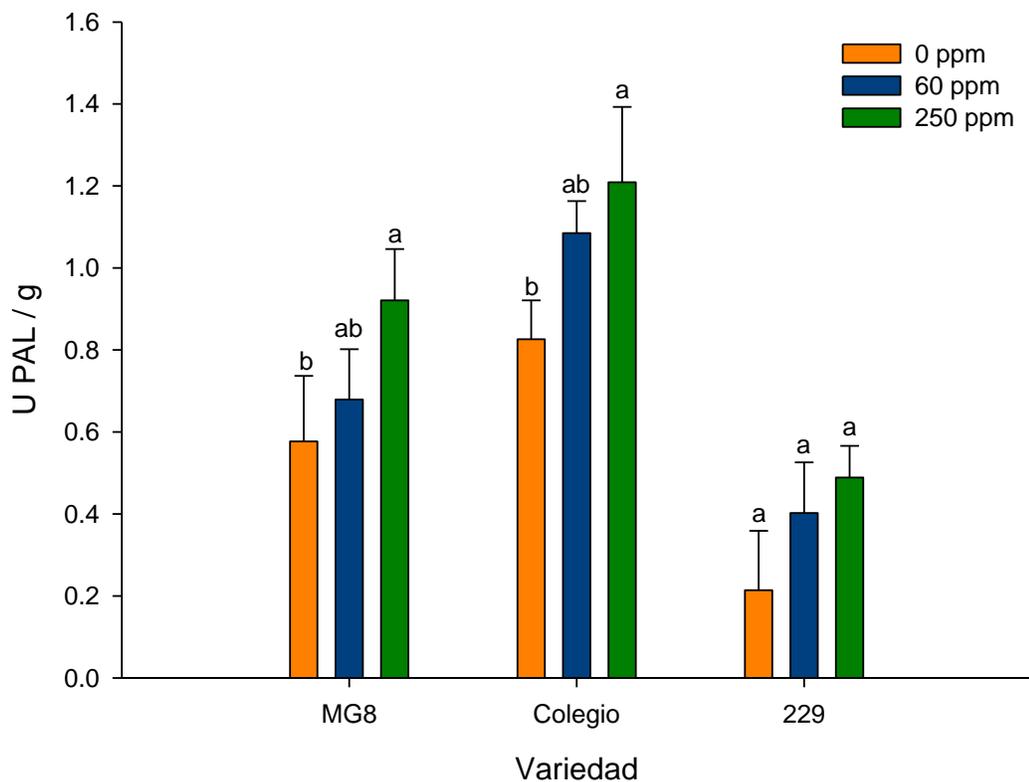


Figura 40: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades ('MG8', 'Colegio', '229') asperjados con soluciones $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ en diferentes concentraciones. Cada valor es la media de tres repeticiones. Distintas letras minúsculas diferentes en la misma variedad indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Este incremento en la actividad de PAL es parte del sistema de respuesta de defensa; se ha señalado en diferentes plantas como fresa y trigo que la actividad de PAL se incrementó al estar por la exposición a metales pesados como el Fe, Zn y

Cu, dando como resultado la síntesis de compuestos fenólicos, (González-Mendoza *et al.*, 2018; Koc *et al.*, 2018; Rezaei *et al.*, 2020). En este estudio, se demuestra que la exposición de los frutos a soluciones de Fe(III) incrementó la actividad de PAL lo cual condujo a la síntesis de compuestos fenólicos.

7.3.2 Efecto de daño mecánico y exposición a iones metálicos

De acuerdo con los resultados de los efectos individuales del cepillado y la presencia de iones Fe(III), fue importante analizar en que medida los dos factores aplicados en forma simultánea inducían el oscurecimiento/entintado.

Muestras de frutos sin entintado, de las tres variedades fueron colectados durante la cosecha, llevados al laboratorio, enfriados a 1 °C durante 24 h y divididos en 12 conjuntos para aplicarse cuatro tratamientos de cepillado (0, 1, 2, 3 y 5 min) y aspección con diferentes soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ a 0, 60 y 250 ppm. Después de aplicados los tratamientos, los frutos se almacenaron por 0, 24 y 48 h; al término de cada almacenamiento se midió el color, su aspecto visual, el contenido de fenoles totales, perfil de fenoles por HPLC y cuantificación de actividad enzimática de PAL, PPO y POD

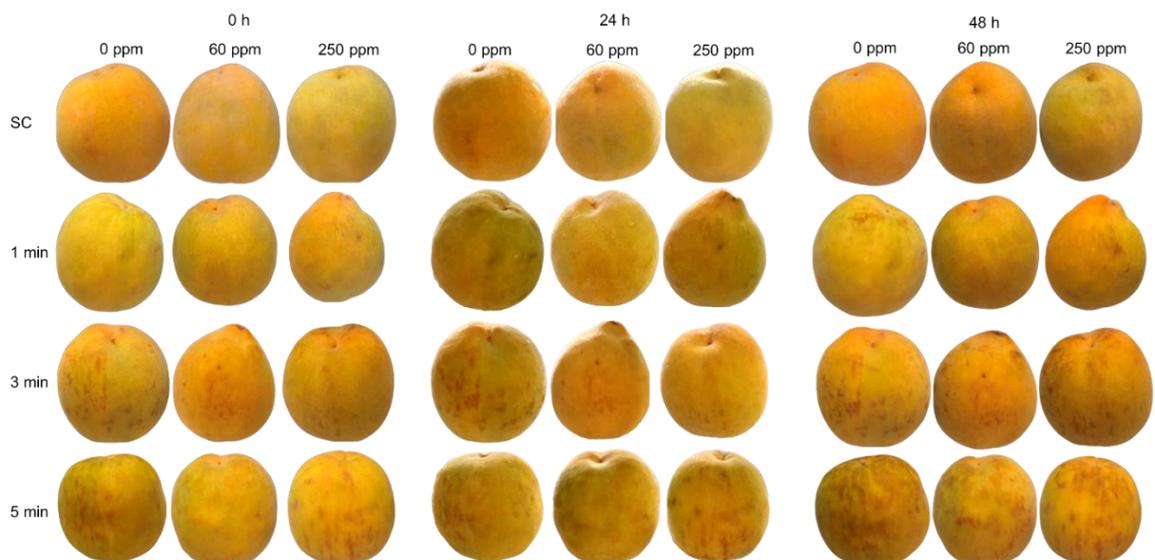


Figura 41: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. 'MG8' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y min) y asperjados con solución de $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).

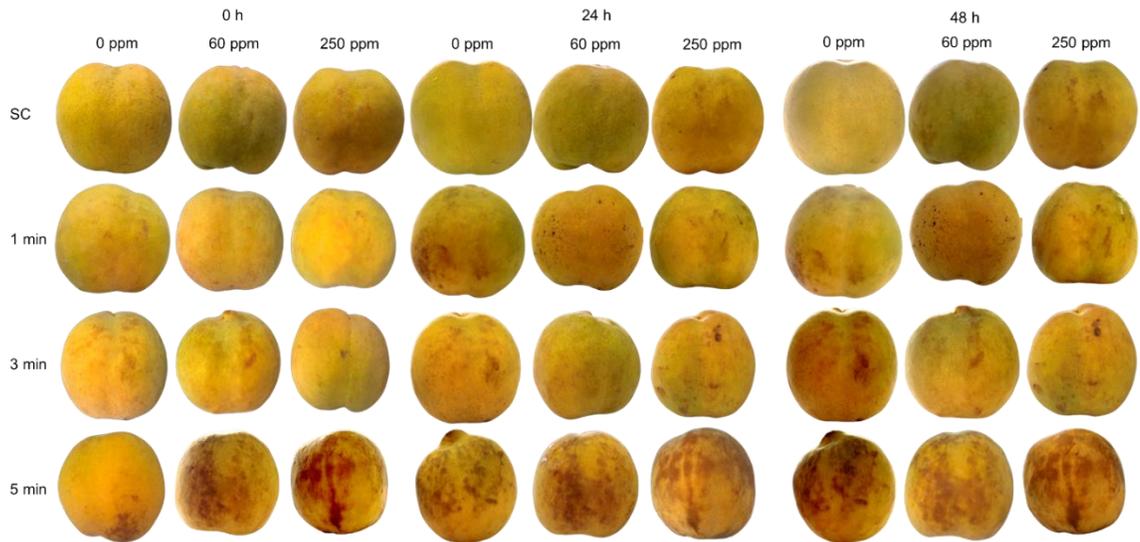


Figura 42: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. 'Colegio' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y min) y asperjados con solución de $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).

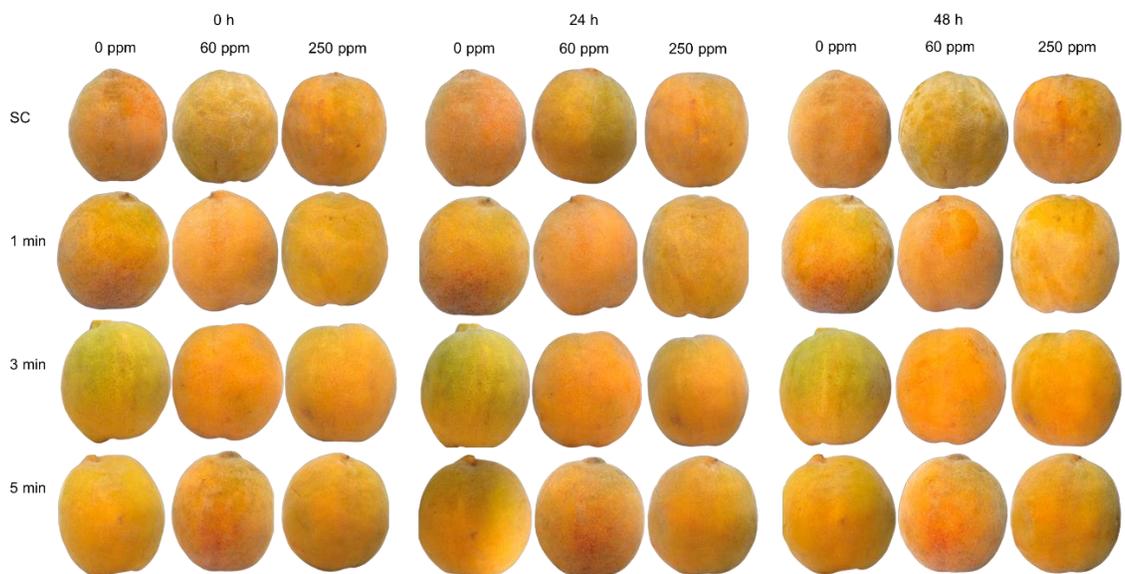


Figura 43: Efectos en el aspecto visual de frutos de durazno cv. '229' sometidos a diferentes tiempos de cepillado y (0, 1, 3 y 5 min) y asperjados con solución de $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm).

Independientemente del tiempo de cepillado aplicado (0, 1, 3 y 5 min), las variedades 'MG8' y 'Colegio' mostraron signos de entintado en la piel (Figuras 41 y 42); mientras que la variedad '229' no mostró ningún desarrollo de entintado independientemente del tiempo aplicado y no manifestó ningún cambio de color en su piel (Figura 43). En las variedades 'MG8' y 'Colegio', la fruta cepillada durante 5 min exhibió un cambio de color visual más intenso, siendo la variedad 'Colegio' la que exhibió el cambio de color más intenso en comparación con las otras dos variedades.

Los frutos sometidos únicamente a la aspersión de $Fe_2(SO_4)_3$ a diferentes concentraciones (0, 60 y 250 ppm), no mostraron signos de entintado, confirmando que las aplicaciones poscosecha de iones Fe(III) no inducen por si solas los cambios de color.

No obstante, cuando los dos factores se combinan (daño mecánico y presencia de iones metálicos) las variedades 'MG8' y 'Colegio' manifestaron un cambio de color visual, el cambio presentado fue más severo que el que presentaron al estar los factores individualmente. Estos resultados indican que, individualmente, el daño mecánico provoca el oscurecimiento de la piel, sin embargo, cuando se conjunta con la aspersión de $Fe_2(SO_4)_3$, el oscurecimiento se incrementa de forma sinérgica. Estas observaciones muestran que el cepillado y la presencia de iones Fe(III) son dos factores que potencializan el oscurecimiento de los frutos de las variedades susceptibles ('MG8' y 'Colegio').

Nuevamente, la variedad '229' no presentó desarrollo oscurecimiento en su piel, independientemente de si los factores de cepillado y aspersión con iones Fe(III) se aplicaron individualmente o en conjunto. Con esta evidencia, se concluye que la variedad '229' es resistente al entintado mientras que la variedad 'Colegio' es la más susceptible a desarrollar el entintado bajo el efecto de los factores analizados. De

acuerdo lo obtenido en el análisis, el daño mecánico es necesario para poder inducir el fenómeno, y cuando el daño mecánico se combina con la presencia de iones metálicos, el entintado se incrementa.

Los resultados descritos coinciden con lo reportado por Cheng & Crisosto (1994) quienes al realizar un experimento similar con variedades de durazno de tonalidades rojizas; observaron que el daño mecánico y aspersion con soluciones de diferentes iones metálicos (Na, Fe, Cu, Zn y Al), las aspersiones con soluciones de hierro causaron el oscurecimiento más severo en los frutos. Igualmente, indicaron que la aplicación de daño mecánico sin la presencia de iones metálicos inducía un oscurecimiento en la piel del fruto, lo cual también coincide con los resultados descritos previamente

También estos autores observaron que concentraciones de soluciones de hierro de hasta 25 ppm ocasionan un oscurecimiento en la piel; nuestros resultados mostraron que a la concentración más baja utilizada (60 ppm) se induce un oscurecimiento en la piel, la severidad del oscurecimiento aumentó de manera proporcional a la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. No obstante, este oscurecimiento, se produjo únicamente cuando al fruto se le aplicó un daño mecánico, por ello los autores indicaron de igual manera que es necesario un daño mecánico para inducir un oscurecimiento en la piel del fruto, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

7.3.2.1 Contenido fenólico total

El análisis del contenido de fenoles totales en los frutos de las tres variedades sin cepillar pero asperjados con las diferentes soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ indicó un incremento o síntesis de estos compuestos lo cual indicó que la sola aplicación de estas soluciones indujo una respuesta en el metabolismo de fenoles (Tabla 13) aunque esta aplicación no indujo los cambios de color en la piel. El cepillado por cinco minutos y el asperjado de las soluciones no incrementó significativamente el

contenido de los fenoles totales. Conjuntando estos resultados con las observaciones visuales descritas en esta sección sugieren que el cepillado solo propició el cambio de color debido a la oxidación de los fenoles generados por el estrés de la aplicación de los iones de Fe(III).

Tabla 13: Comparación de medias del contenido de fenoles totales (mg 100g⁻¹) en frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 cepillados por 0 y 5 min y asperjados con diferentes soluciones de Fe₂(SO₄)₃.

Min de cepillado	[] Fe ₂ (SO ₄) ₃	mg ácido gálico / 100 g FW		
		MG8	Colegio	229
0	0	99.0 ± 4.0 ^d	69.5 ± 8.3 ^c	71.8 ± 6.7 ^c
	60	137.8 ± 2.3 ^b	130.5 ± 19. ^b	131.8 ± 5.7 ^a
	250	156.1 ± 2.3 ^a	145.9 ± 25.5 ^{ab}	134.8 ± 8.5 ^a
5	0	111.1 ± 7.2 ^c	151.1 ± 10.4 ^{ab}	111.1 ± 7.2 ^b
	60	138.1 ± 12.1 ^b	155.5 ± 9.0 ^{ab}	126.4 ± 8.7 ^{ab}
	250	159.3 ± 11.1 ^a	161.2 ± 28.6 ^a	130.5 ± 24.1 ^a

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (n=3). Distintas letras minúsculas en una misma columna indican diferencias entre frutos dentro de una misma variedad (p<0.05).

Los incrementos porcentuales del contenido de fenoles por la aplicación de Fe₂(SO₄)₃ sin cepillado fue de 57.6 % para la variedad 'MG8', de 102% para la variedad 'Colegio' y de 87.7 % para la variedad '229'. El cepillado y la aplicación de las soluciones incrementaron estos contenidos en un 43.4 %, en 6.7 % en la variedad 'Colegio' y 17.5 % en la variedad '229'. En la variedad 'MG8' el análisis de varianza de los efectos del tiempo del cepillado y la concentración de Fe₂(SO₄)₃ de manera individual, presentaron diferencias significativas en el contenido fenólico total (p<0.05) (Tabla A3), la interacción entre los factores no mostró diferencias significativas; para la variedad 'Colegio', los efectos del tiempo de cepillado, la concentración de Fe₂(SO₄)₃, así como la interacción de estos dos factores, presentó diferencias significativas en el contenido fenólico (p<0.05) (Tabla A4); por último, para la variedad '229', de manera similar a la variedad 'Colegio', el análisis de

varianza de los efectos del tiempo de cepillado, la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, así como la interacción de factores presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla A5).

Los datos anteriores sugieren que la presencia de iones $\text{Fe}(\text{III})$ parece ser el factor que detona la síntesis de fenoles pero que no induce un cambio de color y que el cepillado aplicado produce un daño a nivel de la piel, induciendo la ruptura de estructuras celulares y provocando la liberación de enzimas y compuestos fenólicos contenidos en la vacuola, facilitando las reacciones de oscurecimiento (Li *et al.*, 2017; Fernando *et al.*, 2018; Fernando *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2007). también es muy muy probable que la presencia de iones de $\text{Fe}(\text{III})$ induce la síntesis de compuestos fenólicos que se acumulan en la vacuola (Berni *et al.*, 2019; Ghori *et al.*, 2019); bajo la acción del cepillado, se produce la liberación de estos compuestos fenólicos, que son capaces de formar complejos con iones de hierro y oscurecer el tejido facilitando una acción sinérgica con las enzimas de oxidación de los fenoles induciendo un cambio de color más acentuado. Estas observaciones, también sugieren que la ubicación de los iones $\text{Fe}(\text{III})$ a nivel celular debería ser a nivel citoplásmico lo cual evitaría la formación de complejos con los fenoles hasta que estos no son liberados por el estrés mecánico o cepillado.

7.3.2.2 Identificación y cuantificación del perfil fenólico

De manera similar a los estudios ya descritos se investigaron los cambios en el perfil fenólico del fruto sometidos a ambos tipos de tratamientos, registrándose nuevamente el ácido neo-clorogénico y ácido clorogénico indicando que la aplicación de daño mecánico y la aspersión de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ no modificó el perfil fenólico del fruto.

Se presenta como ejemplo los cromatogramas obtenidos para la variedad Colegio (Figura 44), aunque el perfil de la variedad MG8 fue parecido y el de la variedad

mostro cambios menos notorios. La altura de los picos se incrementó al incrementar la intensidad del cepillado y la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

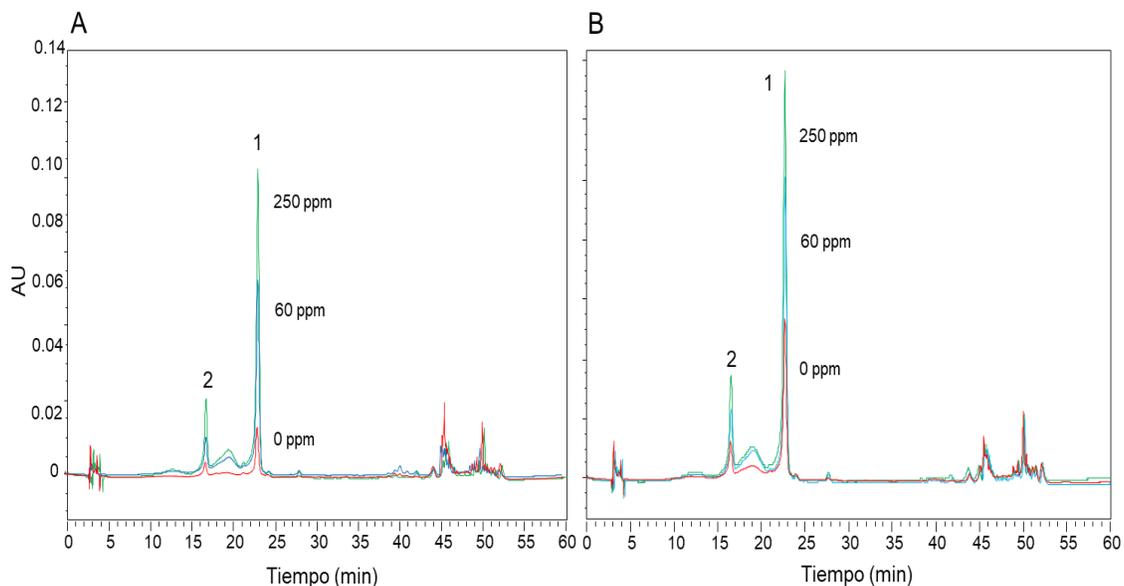


Figura 44: Perfil de compuestos fenólicos en frutos de durazno de la variedad 'Colegio' con A) sin cepillado y asperjados con soluciones $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, B) cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. (1) ácido clorogénico, (2) ácido neo-clorogénico

La comparación de medias del contenido de ácido clorogénico (Tabla 14), muestra que la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ presentó diferencias significativas; la presencia de iones metálicos propició un incremento porcentual del contenido en ácido clorogénico en los frutos de la variedad 'MG8' del 125.4 %, 172.6% en la variedad 'Colegio' y 137.6 % en la '229'. El análisis de varianza de los efectos en la variedad 'MG8', presentó diferencias significativas en el contenido de ácido clorogénico en la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de manera individual y en la interacción entre el tiempo de cepillado y la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ($p < 0.05$) (Tabla A6). Para la variedad 'Colegio' el análisis de varianza de los efectos del tiempo de cepillado, la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, así como la interacción de estos dos factores, presentó diferencias significativas en el contenido de ácido clorogénico ($p < 0.05$) (Tabla A7); finalmente, para la variedad '229', el análisis de varianza de los efectos de la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ individualmente, así como la interacción

entre el cepillado y la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla A8).

Tabla 14: Comparación de medias del contenido de ácido clorogénico eq. ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) de frutos de durazno de las variedades MG8, Colegio y 229 sin cepillar y cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Min de cepillado	[] $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	mg ácido clorogénico / 100 g FW		
		MG8	Colegio	229
	0	9.36 ± 1.39^c	7.14 ± 0.88^c	8.09 ± 0.82^c
0	60	16.2 ± 3.40^{abc}	16.41 ± 2.66^{ab}	15.05 ± 2.46^{ab}
	250	21.1 ± 0.41^a	19.47 ± 3.08^{ab}	19.22 ± 3.46^a
5	0	16.9 ± 1.63^{ab}	19.31 ± 3.39^{ab}	11.38 ± 1.54^{bc}
	60	11.8 ± 4.53^{bc}	12.66 ± 3.77^{bc}	11.99 ± 1.14^{bc}
	250	23.4 ± 2.80^a	22.52 ± 3.20^a	12.02 ± 3.19^{bc}

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar ($n=3$). Distintas letras minúsculas en una misma columna indican diferencias entre frutos dentro de una misma variedad ($p < 0.05$).

De manera similar al contenido fenólico total, el incremento en el contenido de ácido clorogénico podría estar dado como respuesta de la planta a situaciones de estrés, en este caso al efecto del daño mecánico y la presencia de iones Fe(III) . Este aumento en ácido clorogénico ha sido reportado previamente bajo situaciones de estrés por heridas, así como en condiciones de estrés por exposición a metales, como se ha descrito previamente, al ser el ácido clorogénico un precursor de ligninas y al poseer la capacidad de quelar iones metálicos, (Yan *et al.*, 2016; Torres-Contreras & Jacobo-Velázquez, 2021; Dursun *et al.*, 2019; Naikoo *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020). El efecto conjunto entre ambos factores parece estar dado a dos niveles; la aplicación de iones Fe(III) se acumulan en el citoplasma e inducen la síntesis de ácido clorogénico, que no se oxida hasta con el efecto del daño mecánico que libera los fenoles acumulados en la vacuola propiciando su oxidación enzimática y la formación de complejos con los iones de Fe localizados inicialmente en el citoplasma.

7.4.3.3 Cambios en la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL)

De acuerdo a los datos de incremento en el contenido fenólico total y en el contenido de ácido clorogénico, se evaluar la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) bajo la conjunción de ambos factores.

Para cada una de las variedades estudiadas, la actividad de esta enzima se incrementó significativamente por la aplicación de las soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ sin realizar el cepillado y también se incrementó (aunque en menor proporción) por efecto del cepillado (Figura 29 y 36).

En la Figura 45 se presenta la actividad de PAL de las tres variedades comparando el tratamiento control (0 min – 0 ppm) y el tratamiento más severo (5 min – 250 ppm), de manera inicial se observa que la aplicación de daño mecánico y aspersión de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ presentó diferencias significativas; en la variedad 'MG8' se incrementó la actividad 95.8% comparando el tratamiento control y el tratamiento de 5 min de cepillados y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$; en la variedad 'Colegio' la actividad se incrementó 59.7% y en la variedad '229' se incrementó un 284%.

En la variedad 'MG8' el análisis de varianza de los efectos del tiempo del cepillado individualmente, presentó diferencias significativas en la actividad de PAL ($p < 0.05$) (Tabla A9), la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de manera individual y la interacción entre los factores no presentaron diferencias significativas. Para la variedad 'Colegio' el análisis de varianza de los efectos del tiempo de cepillado y la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ individualmente presentaron diferencias significativas, la interacción de estos dos factores no presentó diferencias significativas en la actividad de PAL ($p < 0.05$) (Tabla A10); por último, para la variedad '229', de manera similar a la variedad 'Colegio' el análisis de varianza de los efectos del tiempo de cepillado y la concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de manera individual presentaron diferencias significativas, la interacción de factores no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla A11).

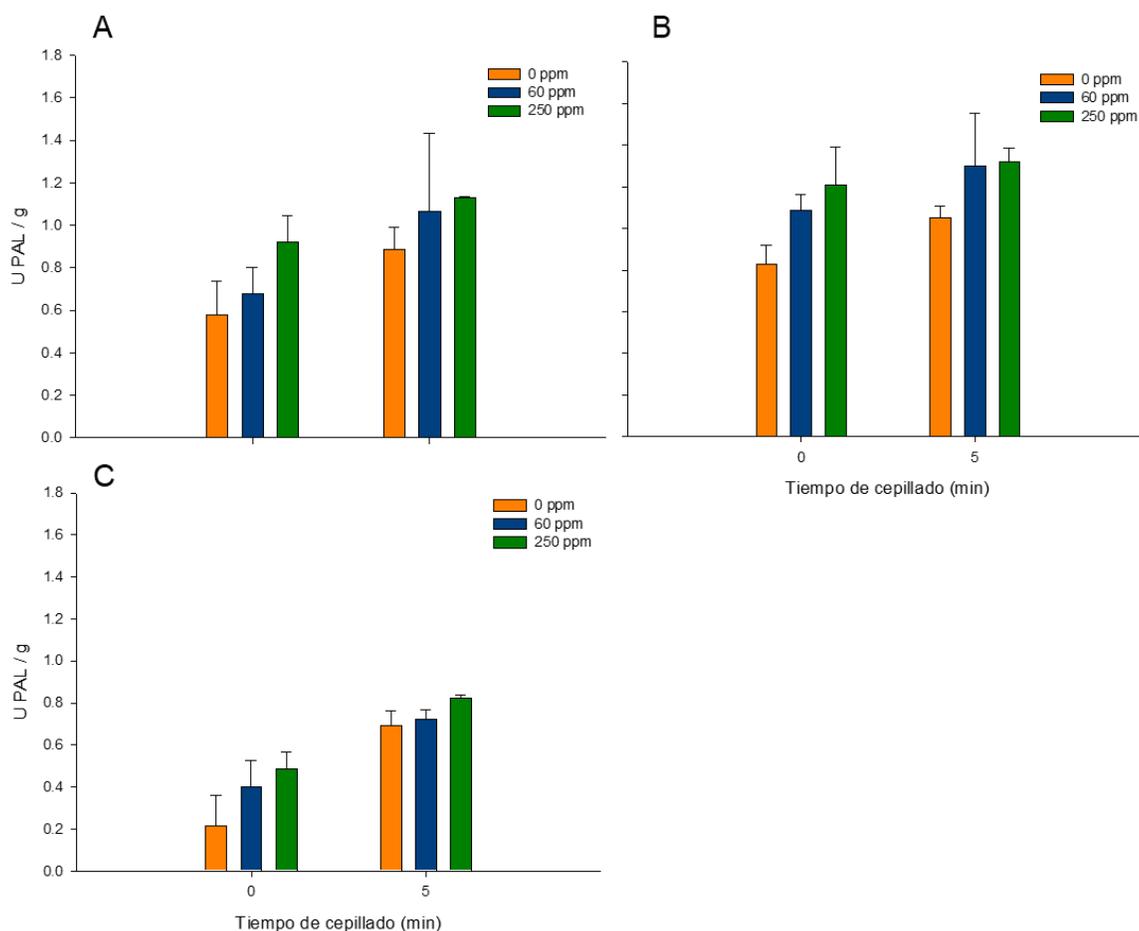


Figura 45: Cambios en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa (PAL) en frutos de durazno de tres variedades A) 'MG8', B) 'Colegio' y C) '229' sin cepillar y cepillados por 5 min y asperjados con soluciones de $Fe_2(SO_4)_3$. Cada valor es la media de tres repeticiones. Letras minúsculas diferentes en la misma variedad y condición de cepillado indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Como se ha descrito previamente en los factores de manera individual, cuando las plantas se encuentran bajo situaciones de estrés abiótico, la planta activa la síntesis de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos; al estar el fruto bajo dos situaciones de estrés, daño mecánico y exposición a iones metálicos, la fenilalanina amonios liasa (PAL) se activa iniciando la síntesis de compuestos fenólicos (Camm & Towers, 1973; Barros & Dixon, 2019; Berni *et al.*, 2019; Ghori *et al.*, 2019).

7.5 Evidencias de formación de complejos Fe(III)-ácido clorogénico

La capacidad de formación de complejos *in vitro* Fe(III) – ácido clorogénico y su posible oscurecimiento, aportaría información de si estas reacciones podrían ocurrir directamente en los frutos contribuyendo así al proceso de entintado; o también podrían aportar ideas sobre el o los posibles mecanismos que pudieran desencadenar este desorden. Se realizó un experimento en tubos de ensayo para llevar a cabo la reacción; se colocaron diferentes concentraciones de ácido clorogénico ($0.1 - 0.5 \text{ mg ml}^{-1}$) a las que se les agregó diferentes concentraciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (60 y 250 ppm); la proporción de la mezcla de ambas soluciones fue 1:1. Los tubos control consistieron en la solución de ácido clorogénico en agua. Los tubos se agitaron y se observó visualmente el cambio de color .



Figura 46: Reacción *in vitro* de ácido clorogénico ($0.1-0.5 \text{ mg ml}^{-1}$) y $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (60 y 250 ppm).

El perfil cromatográfico obtenido por HPLC de dos mezclas de reacción con ácido clorogénico a 0.5 mg mL^{-1} y 60 y 250 ppm de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ muestran un tiempo de retención similar al ácido clorogénico ($\sim 25 \text{ min}$ a 320 nm) descrito en secciones anteriores con un nivel de absorbancia directamente proporcional a la concentración de la sal (Figura 47). Estos datos confirman las observaciones visuales descritas anteriormente.

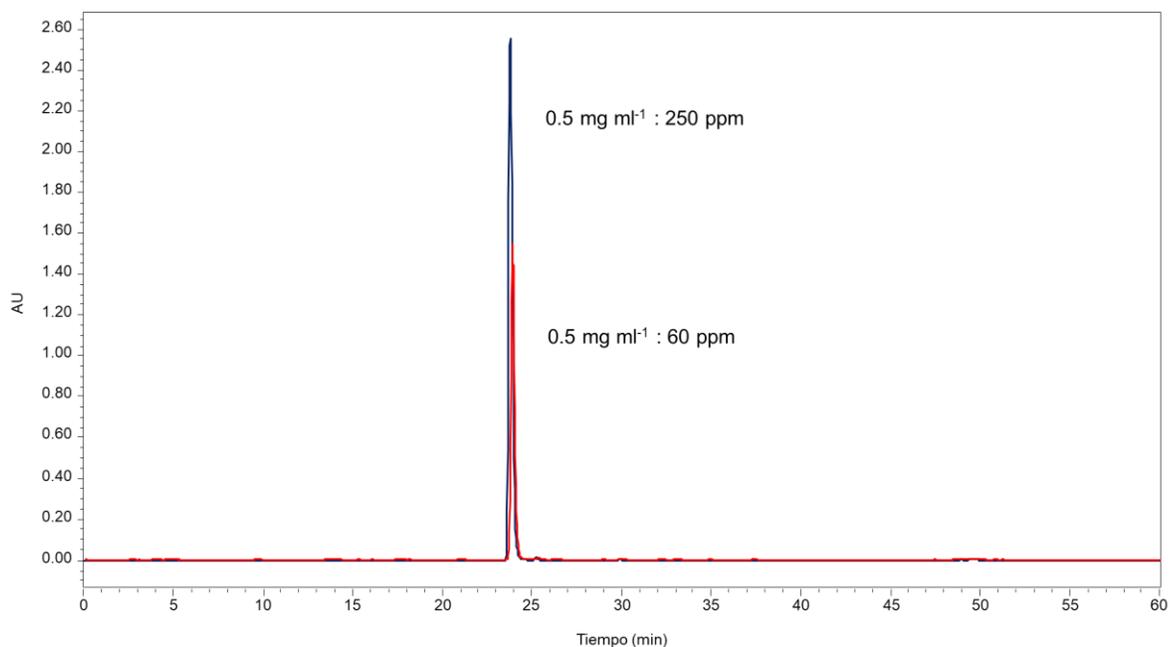


Figura 47: Perfil cromatográfico de diferentes mezclas de reacción de ácido clorogénico con soluciones de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Aunque estas observaciones sugieren que estas reacciones podrían ser parte del proceso de entintado; es importante hacer las siguientes consideraciones: Los frutos tratados solamente con las soluciones de Fe(III) no desarrollaron oscurecimiento aunque sí promovieron la síntesis de fenoles (de ácido clorogénico en particular) como se indicó en la sección 7.3.1, esto sugiere que la presencia del ion Fe(III) induce la síntesis del compuesto el cual generaría los complejos coloridos posteriormente.

Si se consideran los resultados de los efectos del daño por cepillado y la aplicación de soluciones de Fe(III) se podría sugerir que es el cepillado y el daño celular incorporado el factor que propició la formación del complejo Fe(III) – clorogénico y el consecuente oscurecimiento del tejido. Este mecanismo sería parte del proceso no enzimático y seguramente también estaría operando el proceso de oxidación enzimático por acción de la PPO. Esta observación se basa en que los compuestos fenólicos se acumulan en la vacuola, evitando así el contacto con los iones metálicos y con las enzimas de oxidación; este contacto se vería facilitado por el daño mecánico.

La biosíntesis de ácido clorogénico deberá ser inducida por una señal que involucre al Fe(III). Se ha reportado que la presencia de iones Fe(II) o Fe(III) producen especies reactivas de oxígeno como radicales hidroxilo (OH^\cdot) o peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Liu *et al.*, 2020) a través de reacciones Fenton biológicas o también que bajo una exposición a concentraciones altas de metales pesados, se desencadena un estrés oxidativo donde se producen especies reactivas de oxígeno (ROS), como superóxido (O_2^\cdot), hidroxilo (OH^\cdot), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singlete [O_2] los cuales pueden dañar a los diferentes organelos de la célula (Berni *et al.*, 2019; Ghorri *et al.*, 2019). Cuando hay presencia de iones de Fe, se producen reacción de Fenton; generando radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) a partir de la reacción de iones Fe^{2+} y/o Fe^{3+} y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), a partir de de esta reacción se generan otras donde se producen otros agentes oxidantes o radicales libres, estos radicales son capaces de degradar sustancias orgánicas e inorgánicas y provocar daños a las diferentes estructuras celulares o también propiciar una cascada de señalización (Hynes & O’Coinceanainn, 2004; Rubio-Clemente *et al.*, 2014; Rodríguez, 2015; Parámaro-Vargas, 2015; Zhang *et al.*, 2020). Los radicales libres se van a producir primeramente en los peroxisomas, cloroplastos, mitocondria y la pared celular, seguido del retículo endoplásmico y la membrana plasmática (Berni *et al.*, 2019).

También se ha reportado que los ácidos fenólicos, como el ácido cafeíco y el ácido clorogénico tienen la capacidad de quelar iones de Fe^{3+} debido a que tienen grupos fenólicos cis en su estructura (Hynes & O'Coinceanainn, 2004). El complejo entre ácido clorogénico ha sido previamente reportado mediante técnicas de espectroscopia ultravioleta-visible, observándose un pico de absorción a 264 y 360 nm (Kono *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 2021) el ácido clorogénico actuará como un reductor del hierro, al estar acomplejado con el compuesto fenólico, reduciendo de esta forma la capacidad del hierro para generar estos radicales libres (Kono *et al.*, 1998; Navabi *et al.*, 2016; Yoshino & Murakami, 1998).

Por otro lado, también se sabe que en suelos calcáreos o de pH alcalino (como los de la zona de Aguascalientes), se presentan deficiencias de Fe en los cultivos por lo que las plantas utilizan la acción de compuestos sideróforos (Mori, 2005) para facilitar la absorción de este microelemento que bajo esas condiciones no está disponible en el suelo. De acuerdo con este autor, el ácido clorogénico al formar complejos con el Fe(III) en exterior de la membrana los cuales podría internalizarse utilizando transportadores de Fe(III)-complejo de membrana.

A este respecto, está demostrado que el ácido clorogénico forma complejos con el Fe(III) (Kalinowska *et al.*, 2022) y está reportado como un sideróforo por lo que es posible que la síntesis de este ácido fenólico obedezca a un mecanismo para facilitar la absorción de este ión. De acuerdo con esto, la presencia de Fe(III) desencadena un proceso de asimilación del mismo y no necesariamente una respuesta al estrés de metales.

También es muy importante señalar que tanto al ácido clorogénico y sus complejos con Fe(III) también se le señalan importantes propiedades antioxidantes (principalmente) y en menor medida actividades pro oxidantes (Kalinowska *et al.*, 2022).

Estas observaciones sugieren que aún existen vacíos de información que permitan tener un mecanismo general de la generación del entintado en estos frutos.

8. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten establecer las siguientes conclusiones respecto del entintado de frutos de durazno de piel amarilla producidos en la zona de Aguascalientes, México.

Las variedades 'MG8' y 'Colegio' mostraron una mayor susceptibilidad al entintado desde campo, mientras que la variedad '229' mostró una mayor tolerancia a este desorden.

Aunque el mayor contenido del ion Fe(III) en los frutos entintados pareciera explicar el fenómeno de entintado; los altos contenido de este ion en la variedad '229' (tolerante al entintado) señaló que la sola presencia de este mineral no explicó el fenómeno.

De manera interesante, se muestra que el durazno entintado en campo indjo la síntesis de fenoles (mayor actividad de PAL) y mayor oxidación de fenoles (mayor actividad de PPO). No obstante, el fenómeno de entintado en campo no está asociado a un daño mecánico.

Los estudios de los efectos del daño mecánico (cepillado) indujeron el oscurecimiento/entintado en las variedades 'MG8' y 'Colegio' pero no en la variedad '229'.

Los datos de este estudio señalan que la presencia de iones Fe(III) indujeron la síntesis de ácido clorogénico el cual genera el entintado después de un daño mecánico como el cepillado de los frutos.

De manera general se puede decir que la variedad del durazno, la presencia de iones metálicos y el daño mecánico (cepillado de los frutos), son factores que están involucrados en este desorden.

La inducción de fenómeno en condiciones de laboratorio permitió determinar que es necesario la aplicación de un daño mecánico para generar un oscurecimiento en la piel de fruto.

Se logró identificar un compuesto en las variedades de durazno, ácido clorogénico, además, se logró identificar un acomplejamiento entre este ácido fenólico y iones de hierro en HPLC con un tiempo de retención igual, sugiriendo que en el análisis de las muestras se podría estar identificando tanto el compuesto como el complejo fenol-metal.

El estudio de actividad de la enzima de síntesis de compuestos fenólicos, permitió identificar que la planta está activando su mecanismo de defensa ante el daño mecánico aplicado y la exposición a iones metálicos.

El estudio de actividad de las enzimas oxidativas de compuestos fenólicos, permitió identificar que al someter el fruto al daño mecánico se está dando una oxidación de estos compuestos y generar oscurecimiento, no obstante, al no aplicarse un daño, no se generó oscurecimiento.

Los resultados de este estudio, permiten sugerir las siguientes recomendaciones para controlar este desorden: a) mejorar la selección de las variedades, b) disminuir el daño por el cepillado de los frutos mediante modificaciones en el sistema de empaque y c) mantener un control preciso de la aplicación de agroquímicos con bajo contenido de Fe^{3+} .

9. Bibliografía

Ahmad, Z., Anjum, S., Waraich, E. A., Ayub, M. A., Ahmad, T., Tariq, R. M. S., ... & Iqbal, M. A. (2018). Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress—a review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(13), 1734-1743. doi.org/10.1080/01904167.2018.1459688

Alegria, C., Gonçalves, E. M., Moldão-Martins, M., & Abreu, M. (2022). Influence of a heat-shock pre-treatment on wound-induced phenolic biosynthesis as an alternative strategy towards fresh-cut carrot processing. *Food Science and Technology International*, 28(5), 421-429. doi.org/10.1177/1082013221102083

Alfaro-Gutiérrez, I. C. (2011). Cambios morfológicos y fisiológicos inducidos en *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: fr.) Vuill. por efecto del quitosano, oligoquitosano y aceites esenciales. Instituto Politecnico Nacional. Tesis de Doctorado.

Altube, H., C. Budde, M. Ontivero y R. Rivata. (2001). Determinación de los índices de cosecha de duraznos cvs. Flordaking y San Pedro 16-33. doi.org/10.4067/S0365-28072001000200004

Álvarez-Fernández, A., Paniagua, P., Abadía, J. and Abadía, A. (2003). Effects of Fe deficiency-chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 5738–5744 doi.org/10.1021/jf034402c

Anthony, B. M., Chaparro, J. M., Prenni, J. E., & Minas, I. S. (2020). Early metabolic priming under differing carbon sufficiency conditions influences peach fruit quality development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 157, 416-431. doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.004

Aquino-Bolaños, E.L. (1998). Efecto de la temperatura, composición atmosférica, geométrica y variedad en la conservación de la jícama mínimamente procesada. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.

Araya, H. y C. Clavijo y C. Herrera. (2006). Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. *Arch. Latinoam. Nutr.* 56(4), 361-365.

Arévalo, B. (1979). Fruticultura deciduos de Guatemala (No. 634 Ar34f Ej. 1 006138). LANDIVAR.

Astaneh, R. K., Bolandnazar, S., Nahandi, F. Z., & Oustan, S. (2018). Effect of selenium application on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenol leakage and total phenolic content in garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. *Information processing in Agriculture*, 5(3), 339-344. doi.org/10.1016/j.inpa.2018.04.004

Baró-Montel, N., Eduardo, I., Usall, J., Casals, C., Arús, P., Teixidó, N., & Torres, R. (2019). Exploring sources of resistance to brown rot in an interspecific almond

peach population. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(8), 4105-4113. doi.org/10.1002/jsfa.9640

Barros, J., & Dixon, R. A. (2020). Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends in plant science*, 25(1), 66-79. doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.011

Bastidas-Parrado, L. A., Puentes-Montañez, G. A., & Lemus-Cerón, A. (2015). Quality parameters during the harvest of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv."Rubidoux"). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(1), 145-153.

Ben-Mechlia, N., Ghrab, M., Zitouna, R., Ben-Mimoun, M. and Masmoudi, M. (2002). Cumulative effect over five years of deficit irrigation on peach yield and quality. *Acta Horticulturae* 592, 301–308.

Bennett, W. F. (1993). Plant nutrient utilization and diagnostic plant symptoms. *Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants*, 1.

Berni, R., Luyckx, M., Xu, X., Legay, S., Sergeant, K., Hausman, J. F., ... & Guerriero, G. (2019). Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: Impact on the cell wall and secondary metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 98-106. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.017

Brovelli, E., J. Brecht, W. Sherman y C. Sims. (1999). Nonmelting-flesh trait in peaches is not related to low ethylene production rates. *HortScience* 34(2), 313-315. doi.org/10.21273/HORTSCI.34.2.313

Byrne, D. H. (2003). Breeding peaches and nectarines for mild-winter climate areas: state of the art and future directions. In *Proceedings of the First Mediterranean Peach Symposium*. Agrigento, Italy (Vol. 10, pp. 102-109).

Camm, E. L., & Towers, G. N. (1973). Phenylalanine ammonia lyase. *Phytochemistry*, 12(5), 961-973. [doi.org/10.1016/0031-9422\(73\)85001-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(73)85001-0)

Cárdenas, J. y G. Fischer. (2013). Situación actual de los frutales caducifolios en el mundo y en Colombia. pp. 21-29. En: Miranda, D., G. Fischer y C. Carranza (eds.). *Los frutales caducifolios en Colombia. Situación actual, sistemas de cultivo y plan de desarrollo*. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá.

Chen, F., Liu, X., & Schnabel, G. (2013). Field strains of *Monilinia fructicola* resistant to both MBC and DMI fungicides isolated from stone fruit orchards in the eastern United States. *Plant disease*, 97(8), 1063-1068. doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1177-RE

Chen, S., Lin, R., Lu, H., Wang, Q., Yang, J., Liu, J., & Yan, C. (2020). Effects of phenolic acids on free radical scavenging and heavy metal bioavailability in *Kandelia obovata* under cadmium and zinc stress. *Chemosphere*, 249, 126341. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126341

Cheng, G. W., & Crisosto, C. H. (1994). Development of dark skin discoloration on peach and nectarine fruit in response to exogenous contaminations. *Journal of the*

American Society for Horticultural Science, 119(3), 529-533.
doi.org/10.21273/JASHS.119.3.529

Cheng, G. W., & Crisosto, C. H. (1997). Iron—polyphenol complex formation and skin discoloration in peaches and nectarines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122(1), 95-99. doi.org/10.21273/JASHS.122.1.95

Costa, G., Noferini, M., Fiori, G. and Ziosi, V. (2006) Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. *Acta Horticulturae* 712, 339–345.

Crisosto, C. H. (1994). Stone fruit maturity indices: a descriptive. *Postharvest News and Information*, 5(6), 65N-68N.

Crisosto, C. H., & Costa, G. (2008). 20 Preharvest Factors Affecting Peach Quality.

Crisosto, C. H., Day, K. R., Malon, J. R., Mitchell, A., Soto, J., Tian, L., & Xiaoqin, Q. (2009). Updating Peach, Nectarine and Plum Inking and/or Skin Discoloration Development Information

Crisosto, C. H., Mitcham, E. J., & Kader, A. A. (2000). Peach and Nectarine. doi.org/10.1016/B978-0-12-804599-2.00017-X

Crisosto, C. H., Slaughter, D., Garner, D., & Boyd, J. (2001). Stone fruit critical bruising thresholds. *Journal of the American Pomological Society*, 55(2), 76.

Crisosto, C.H., Johnson, R.S., Day, K.R., Beede, B., Andris, H., (1999) Contaminants and Injury Induce Inking on Peaches and Nectarines 53(1), 19-23. doi.org/10.3733/ca.v053n01p19

Crisosto, C.H., Johnson, R.S., Luza, J.G., Crisosto, G.M., (1994). Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *Hortscience* 29, 1169–1171. doi.org/10.21273/HORTSCI.29.10.1169

Crisosto, C.H., Mitcham, E.J., Kader, A.A., (1996). Peach and Nectarine. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality.

Denny, E. G., Coston, D. C., & Ballard, R. E. (1986). Peach skin discoloration. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111(4), 549-553. doi.org/10.21273/JASHS.111.4.549

Ding, T., Cao, K., Fang, W., Zhu, G., Chen, C., Wang, X., & Wang, L. (2020). Evaluation of phenolic components (anthocyanins, flavanols, phenolic acids, and flavonols) and their antioxidant properties of peach fruits. *Scientia Horticulturae*, 268, 109365. doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109365

Duarte-Vázquez, M.A. (2002). Purificación, caracterización bioquímica y estudios de cristalización de peroxidasa en nabo. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro.

Dursun, K. I. S. A., KAYIR, Ö., Sağlam, N., Şahin, S., Öztürk, L., & Elmastaş, M. (2019). Changes of phenolic compounds in tomato associated with the heavy metal stress. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*, 2(1), 35-43.

Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. (2016). Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1379-1391. doi.org/10.1002/ptr.5643

Elmer, P. A., & Gaunt, R. E. (1994). The biological characteristics of dicarboximide-resistant isolates of *Monilinia fructicola* from New Zealand stone-fruit orchards. *Plant Pathology*, 43(1), 130-137. doi.org/10.1111/j.1365-3059.1994.tb00562.x

FAOSTAT (2010). "Dirección de Estadística" [En línea], disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (Consultado el : 22 enero, 2021)

FAOSTAT (2020). "Dirección de Estadística" [En línea], disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (Consultado el : 22 enero, 2021)

Fernández-Montes, M.R., Pérez-González, S., Mondragón-Jacobo, C. (2011) Guía para cultivar duraznero en Tlaxcala.

Fernández-Trujillo, J. P., Obando, J., Martínez, J. A., Alarcón, A. L., Eduardo, I., Arús, P., & Monforte, A. J. (2007). Mapping fruit susceptibility to postharvest physiological disorders and decay using a collection of near-isogenic lines of melon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(5), 739-748. doi.org/10.21273/JASHS.132.5.739

Fernando, I., Fei, J., & Stanley, R. (2019). Measurement and analysis of vibration and mechanical damage to bananas during long-distance interstate transport by multi-trailer road trains. *Postharvest Biology and Technology*, 158, 110977. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110977

Fernando, I., Fei, J., Stanley, R., & Enshaei, H. (2018). Measurement and evaluation of the effect of vibration on fruits in transit. *Packaging Technology and Science*, 31(11), 723-738. doi.org/10.1002/pts.2409

Flores-Lazo, J. V. (2012). Determinación de los índices de madurez para la comercialización de durazno (*prunus persicae*) variedad conservero amarillo en dos tipos de ambientes para mercados de las zona central del país. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Ambato.

Forlani, M., Basile, B., Cirillo, C. and Iannini, C. (2002) Effects of harvest date and fruit position along the tree canopy on peach fruit quality. *Acta Horticulturae* 592, 459–466.

Gao, H., Lu, Z., Yang, Y., Wang, D., Yang, T., Cao, M., & Cao, W. (2018). Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane

fatty acid contents and phenolic metabolism. *Food Chemistry*, 245, 659-666. doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.008

García-Taín, Y., García-Pereira, A. Hernández-Gómez, A., & Pérez-Padrón, J., (2011). Estudio de la variación del índice de color durante la conservación de la piña variedad Cayena Lisa a temperatura ambiente. *Rev. Cie. Téc. Agr.* 20(4), 12-16.

Geçer, M. K. (2020). Biochemical content in fruits of peach and nectarine cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(5), 500-505. [Doi.org/10.3906/tar-1911-8](https://doi.org/10.3906/tar-1911-8)

Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. *International journal of environmental science and technology*, 16(3), 1807-1828. doi.org/10.1007/s13762-019-02215-8

Goldhamer, D.A., Salinas, M., Crisosto, C., Day, K.R., Soler, M. and Moriana, A. (2002). Effects of regulated deficit irrigation and partial root zone drying on late harvest peach tree performance. *Acta Horticulturae* 592, 343–350.

González-Mendoza, D., Troncoso-Rojas, R., Gonzalez-Soto, T., Grimaldo-Juarez, O., Cecena-Duran, C., Duran-Hernandez, D., & Gutierrez-Miceli, F. (2018). Changes in the phenylalanine ammonia lyase activity, total phenolic compounds, and flavonoids in *Prosopis glandulosa* treated with cadmium and copper. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 1465-1472. doi.org/10.1590/0001-3765201820170622

Guan, Y., Hu, W., Jiang, A., Xu, Y., Zhao, M., Yu, J., ... & Feng, K. (2020). The effect of cutting style on the biosynthesis of phenolics and cellular antioxidant capacity in wounded broccoli. *Food Research International*, 137, 109565. doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109565

Holb, I. J., & Schnabel, G. (2007). Differential effect of triazoles on mycelial growth and disease measurements of *Monilinia fructicola* isolates with reduced sensitivity to DMI fungicides. *Crop Protection*, 26(5), 753-759. doi.org/10.1016/j.cropro.2006.07.001

Hopfinger, J. A. (1989). The role of postharvest handling and peach skin discoloration. In *II International Peach Symposium* 254 (pp. 167-172).

Hynes, M. J., & O'Coinceanainn, M. (2004). The kinetics and mechanisms of reactions of iron (III) with caffeic acid, chlorogenic acid, sinapic acid, ferulic acid and naringin. *Journal of inorganic biochemistry*, 98(8), 1457-1464. doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2004.05.009

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010). Población. Consultado en: https://www.inegi.org.mx/temas/estructura/#Informacion_general.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2020). Población. Consultado en: https://www.inegi.org.mx/temas/estructura/#Informacion_general.

Jin, P., Wang, K., Shang, H., Tong, J., & Zheng, Y. (2009). Low-temperature conditioning combined with methyl jasmonate treatment reduces chilling injury of peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(10), 1690-1696. doi.org/10.1002/jsfa.3642

Johnson, R. S., & Uriu, K. (1989). Mineral nutrition. Peaches, Plums and Nectarines. Coop. Extension University of California, 68-81.

Kalinowska, M., Gryko, K., Gołębiewska, E., Świdorski, G., Lewandowska, H., Pruszyński, M., ... & Lewandowski, W. (2022). Fe (III) and Cu (II) Complexes of Chlorogenic Acid: Spectroscopic, Thermal, Anti-/Pro-Oxidant, and Cytotoxic Studies. *Materials*, 15(19), 6832. doi.org/10.3390/ma15196832

Koç, E. S. R. A., İşlek, C. E. M. İ. L., & Büyükkartal, H. N. (2018). Comparasion of phenylalanine ammonia lyase response to lead and zinc stress in different wheat genotypes. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Ser. C*, 27, 37-44. (2018) doi.org/10.1501/commuc_0000000190

Kono, Y., Kashine, S., Yoneyama, T., Sakamoto, Y., Matsui, Y., & Shibata, H. (1998). Iron chelation by chlorogenic acid as a natural antioxidant. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(1), 22-27. doi.org/10.1271/bbb.62.22

Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Liñán, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., ... & Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2), 305-310. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.10.010

Layne, D. R., & Bassi, D. (2008). The peach: botany, production and uses. CABI. Crisosto, C. H., & Costa, G. (2008). 20 Preharvest Factors Affecting Peach Quality. In *The Peach*. (pp. 536-544).

Layne, D.R., Jiang, Z.W. and Rushing, J.W. (2001) Tree fruit reflective film improves red skin coloration and advances maturity in peach. *Hort Technology* 11, 234–242. doi.org/10.21273/HORTTECH.11.2.234

Li, X. Y., Du, X. L., Liu, Y., Tong, L. J., Wang, Q., & Li, J. L. (2019). Rhubarb extract incorporated into an alginate-based edible coating for peach preservation. *Scientia Horticulturae*, 257, 108685. doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108685

Li, X., Li, M., Wang, L., Wang, J., Jin, P., & Zheng, Y. (2018). Methyl jasmonate primes defense responses against wounding stress and enhances phenolic accumulation in fresh-cut pitaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 101-107. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.001

- Li, Z., Miao, F., & Andrews, J. (2017). Mechanical models of compression and impact on fresh fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1296-1312. doi.org/10.1111/1541-4337.12296
- Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W., & Zheng, L. (2018). Effects of postharvest UV-C irradiation on phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes in tomato fruit. *Scientia Horticulturae*, 241, 107-114. doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.075
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., Tian, S., Norelli, J., & Hershkovitz, V. (2012). Effect of heat treatment on inhibition of *Monilinia fructicola* and induction of disease resistance in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 65, 61-68. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.11.002
- Liu, X., Ji, D., Cui, X., Zhang, Z., Li, B., Xu, Y., ... & Tian, S. (2020). p-Coumaric acid induces antioxidant capacity and defense responses of sweet cherry fruit to fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111297. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111297
- Liverani, A., Giovannini, D. and Brandi, F. (2002). Increasing fruit quality of peaches and nectarines: the main goals of ISF-FO (Italy). *Acta Horticulturae* 592, 507–514. doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.592.68
- Lockwood, D. and Myers, S. (2005) Tree density, orchard design and training systems. In: Horton, D. and Johnson, D. (eds) *Southeastern Peach Growers Handbook*. GES Handbook No. 1. University of Georgia College of Agricultural & Environmental Sciences, Athens, Georgia, pp. 51–64
- Mansour, M. M. F. (1998). Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycine betaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36, 767-772. [doi.org/10.1016/S0981-9428\(98\)80028-4](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(98)80028-4)
- Mei, Y., Sun, H., Du, G., Wang, X., & Lyu, D. (2020). Exogenous chlorogenic acid alleviates oxidative stress in apple leaves by enhancing antioxidant capacity. *Scientia Horticulturae*, 274, 109676. doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109676
- Meraz-Caro, R. (2001). Efecto de la conservación en refrigeración y de las antocianinas en el desarrollo de oscurecimiento de jícama. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4).
- Minas, I. S., Tanou, G., & Molassiotis, A. (2018). Environmental and orchard bases of peach fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 235, 307-322. doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.028

Moon, K. M., Kwon, E. B., Lee, B., & Kim, C. Y. (2020). Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. *Molecules*, 25(12), 2754. doi.org/10.3390/molecules25122754

Mori, K., Lee, H. T., Rapoport, D., Drexler, I. R., Foster, K., Yang, J., ... & Barasch, J. (2005). Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *The Journal of clinical investigation*, 115(3), 610-621. doi.org/10.1172/JCI23056

Nabavi, S. F., Tejada, S., Setzer, W. N., Gortzi, O., Sureda, A., Braidy, N., ... & Nabavi, S. M. (2017). Chlorogenic acid and mental diseases: from chemistry to medicine. *Current neuropharmacology*, 15(4), 471. [doi: 10.2174/1570159X14666160325120625](https://doi.org/10.2174/1570159X14666160325120625)

Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghieb, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., ... & Naushin, F. (2019). Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. *Plant signaling molecules*, 157-168. doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5

NMX-FF-060-SCFI-2009: Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- fruta fresca – durazno y nectarina (*Prunus persica* L.) Batsch especificaciones y métodos de prueba.

Obi, V. I., Montenegro, J., Barriuso, J. J., Saidani, F., Aubert, C., & Gogorcena, Y. (2020). Is the tolerance of commercial peach cultivars to brown rot caused by *Monilinia laxa* modulated by its antioxidant content?. *Plants*, 9(5), 589. doi.org/10.3390/plants9050589

Omboki, R. B.; Wu, W.; Xie, X. and Mamadou, G. (2015). Ripening genetics of the tomato fruit. *Inter. J. Agric. Crop Sci.*8(4):567- 572.

Ortega-Hernández, E., Welti-Chanes, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2018). Effects of UVB light, wounding stress, and storage time on the accumulation of betalains, phenolic compounds, and ascorbic acid in red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* cv. Rojo Vigor). *Food and Bioprocess Technology*, 11(12), 2265-2274. doi.org/10.1007/s11947-018-2183-5

Oviedo-Farfan, K. T., & Escobar Bello, M. L. (2020). *Propuesta para la elaboración de un gel antibacterial con base en las hojas de Moringa oleifera Lam. (Moringaceae) cultivada en Colombia* (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).

Parámo-Vargas, J. (2015). Tratamiento del efluente de un rastro municipal mediante procesos de oxidación avanzada tipo Fenton. Tesis de Doctorado. CIATEC.

Phillips, D. J. (1988). Reduction of transit injury-associated black discoloration of fresh peaches with EDTA treatments. *Plant disease*, 72(2), 118-120.

Quiñonez Estacio, E. P. (2019). Estudio de conservación y morfología de siete cultivares de durazno (*Prunus persica*) para determinar su vida útil por medio de la

determinación de parámetros fisicoquímicos en la ciudad de Quito. Tesis de Maestría. Universidad Central de Ecuador.

Reyes, L. F., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5296-5300. doi.org/10.1021/jf034213u

Rezaei, S., Amiri, M. E., Bahari, A., Razavi, F., & Soleimani Aghdam, M. (2020). Impact of iron chelate on phenylalanine ammonia lyase enzyme activity and antioxidant properties of strawberry 'kamarossa' fruit during developmental stages. *Horticultural Plants Nutrition*, 2(2), 15-33. [10.22070/HPN.2019.4752.1044](https://doi.org/10.22070/HPN.2019.4752.1044)

Rodríguez-Rey, D. (2014). Application of heterogeneous fenton oxidation for the removal of pollutants from wastewater.

Rubio-Clemente, A., Chica, E. L., & Peñuela, G. A. (2014). Application of Fenton process for treating petrochemical wastewater. *Ingeniería y competitividad*, 16(2), 211-223.

Rupert, B., Cattivelli, L., Pagni, S. and Ramina, A. (2002) Ethylene responsive genes are differentially regulated during abscission, organ senescence and wounding in peach (*Prunus persica*). *Journal of Experimental Botany* 53, 429–437. doi.org/10.1093/jexbot/53.368.429

Salem, E. A., Youssef, K., & Sanzani, S. M. (2016). Evaluation of alternative means to control postharvest *Rhizopus* rot of peaches. *Scientia horticulturae*, 198, 86-90. doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.013

Santana, L., B. Benedetti y J. Sigrist. (2011). Effects of modified atmosphere packaging on ripening of 'Douradão' peach related to pectolytic enzymes activities and chilling injury symptoms. *Rev. Bras. Frutic.* 33(4), 1084-1094. doi.org/10.1590/S0100-29452011000400006

Santos, D. I., Faria, D. L., Lourenço, S. C., Alves, V. D., Saraiva, J. A., Vicente, A. A., & Moldão-Martins, M. (2021). Heat treatment and wounding as abiotic stresses to enhance the bioactive composition of pineapple by-products. *Applied Sciences*, 11(9), 4313. doi.org/10.3390/app11094313

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural. Pesca y Alimentación (SAGARPA), Sistema de información Agropecuaria y Pesquera (SIAP) (2010). [En línea] México, disponible en : <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> [Consultado el: 13 de Enero 2021]

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural. Pesca y Alimentación (SAGARPA), Sistema de información Agropecuaria y Pesquera (SIAP) (2020). [En línea] México, disponible en : <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> [Consultado el: 13 de Enero 2021]

- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452. doi.org/10.3390/molecules24132452
- Singh, B., Suri, K., Shevkani, K., Kaur, A., Kaur, A., & Singh, N. (2018). Enzymatic browning of fruit and vegetables: A review. *Enzymes in food technology*, 63-78. doi.org/10.1007/978-981-13-1933-4_4
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Şirin, S., & Aslım, B. (2019). Determination of antioxidant capacity, phenolic acid composition and antiproliferative effect associated with phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity in some plants naturally growing under salt stress. *Medicinal Chemistry Research*, 28(3), 229-238. doi.org/10.1007/s00044-018-2278-6
- Suktawee, S., Shishido, M., Wang, S., Kongsuwan, A., Saengtharatip, S., Saito, T., ... & Kondo, S. (2019). Postharvest suppression of gray mold (*Botrytis cinerea*) on peach through application of n-propyl dihydrojasmonate. *Journal of Food Science and Agricultural Technology (JFAT)*, 5, 120-127.
- Surjadinata, B. B., Jacobo-Velázquez, D. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2021). Physiological role of reactive oxygen species, ethylene, and jasmonic acid on UV light induced phenolic biosynthesis in wounded carrot tissue. *Postharvest Biology and Technology*, 172, 111388. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111388
- Tagliavini, M., Zavalloni, C., Rombolà, A.D., Quartieri, M., Malaguti, D., Mazzanti, F., Millard, P. and Marangoni, B. (2000). Mineral nutrient partitioning to fruits of deciduous trees. *Acta Horticulturae* 512, 131–140.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2014). Heavy metals toxicity and the environment: 1–30.
- Torres-Contreras, A. M., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2021). Effects of wounding stress and storage temperature on the accumulation of chlorogenic acid isomers in potatoes (*Solanum tuberosum*). *Applied Sciences*, 11(19), 8891. doi.org/10.3390/app11198891
- Trainotti, L., Tadiello, A., Casadoro, G., (2007). The involvement of auxin in the ripening of climacteric fruits comes of age: the hormone plays a role of its own and has an intense interplay with ethylene in ripening peaches. *J. Exp. Bot.* 58, 3299–3308. doi.org/10.1093/jxb/erm178
- Trainotti, L., Zanin, D., and Casadoro, G. (2003). A cell wall-oriented genomic approach reveals a new and unexpected complexity of the softening in peaches. *J. Exp. Bot.* 54, 1821–1832. doi: 10.1093/jxb/erg198. doi.org/10.1093/jxb/erg198

Usall, J., Casals, C., Sisquella, M., Palou, L., & De Cal, A. (2015). Alternative technologies to control postharvest diseases of stone fruits. *Stewart Postharvest Review*, 11(4), 1-6. [DOI: 10.2212/spr.2015.4.2](https://doi.org/10.2212/spr.2015.4.2)

USDA. (2004). United States Standards for Grades of Peaches

Wang, B., Li, Z., Han, Z., Xue, S., Bi, Y., & Prusky, D. (2021). Effects of nitric oxide treatment on lignin biosynthesis and texture properties at wound sites of muskmelons. *Food Chemistry*, 362, 130193. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130193

Wang, K., Yin, X. R., Zhang, B., Grierson, D., Xu, C. J., & Chen, K. S. (2017). Transcriptomic and metabolic analyses provide new insights into chilling injury in peach fruit. *Plant, Cell & Environment*, 40(8), 1531-1551. doi.org/10.1111/pce.12951

Wang, L., Shan, T., Xie, B., Ling, C., Shao, S., Jin, P., & Zheng, Y. (2019). Glycine betaine reduces chilling injury in peach fruit by enhancing phenolic and sugar metabolisms. *Food chemistry*, 272, 530-538. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.085

Yan, K., Cui, M., Zhao, S., Chen, X., & Tang, X. (2016). Salinity stress is beneficial to the accumulation of chlorogenic acids in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.). *Frontiers in plant science*, 7, 1563. doi.org/10.3389/fpls.2016.01563

Yáñez-Mendizábal, V., Zerriouh, H., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., de Vicente, A., ... & Teixidó, N. (2012). Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides. *European Journal of Plant Pathology*, 132(4), 609-619. doi.org/10.1007/s10658-011-9905-0

Yang, R., Tian, J., Liu, Y., Zhu, L., Sun, J., Meng, D., ... & Chen, L. (2021). Interaction mechanism of ferritin protein with chlorogenic acid and iron ion: The structure, iron redox, and polymerization evaluation. *Food Chemistry*, 349, 129144. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129144

Yoshino, M., & Murakami, K. (1998). Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Analytical biochemistry*, 257(1), 40-44.

Zawawi, N. A. F., Hazmi, N. A. M., How, M. S., Kantono, K., Silva, F. V., & Sulaiman, A. (2022). Thermal, High Pressure, and Ultrasound Inactivation of Various Fruit Cultivars' Polyphenol Oxidase: Kinetic Inactivation Models and Estimation of Treatment Energy Requirement. *Applied Sciences*, 12(4), 1864. doi.org/10.3390/app12041864

Zhang, S., Sun, M., Hedtke, T., Deshmukh, A., Zhou, X., Weon, S., ... & Kim, J. H. (2020). Mechanism of heterogeneous Fenton reaction kinetics enhancement under nanoscale spatial confinement. *Environmental Science & Technology*, 54(17), 10868-10875. doi.org/10.1021/acs.est.0c02192

Zhang, S., Zheng, Q., Xu, B., & Liu, J. (2019). Identification of the fungal pathogens of postharvest disease on peach fruits and the control mechanisms of *Bacillus subtilis* JK-14. *Toxins*, 11(6), 322. doi.org/10.3390/toxins11060322

Zhou, F., Jiang, A., Feng, K., Gu, S., Xu, D., & Hu, W. (2019). Effect of methyl jasmonate on wound healing and resistance in fresh-cut potato cubes. *Postharvest Biology and Technology*, 157, 110958. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110958

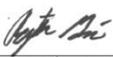
Zhou, R., Su, S., Yan, L., & Li, Y. (2007). Effect of transport vibration levels on mechanical damage and physiological responses of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Huanghua). *Postharvest biology and technology*, 46(1), 20-28. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.04.006

10. Anexos

Figura A1. Análisis de metales pesados de las tres variedades manejadas; 'MG8', 'Colegio' y '229', y las variedades 'MG8' y 'Colegio' con presencia y ausencia de entintado en la superficie del fruto.

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.		FOR-PO-01 Emisión: Oct-2019		
		Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010 www.fertilab.com.mx		
Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición		 No. de Certificación: ER-0223/2020, ISO 9001:2015		
INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO			FOLIO: PL-47168	
Cliente:	Uaq	Cultivo:	Durazno	
Localización:	, Queretaro, Queretaro	Edad (DDS):	0	
Coordenadas:	ND, ND	Organo de Muestreo:	Cascara de fruto	
Predio / ID:	Na / Sin Entintado	Etaa Fenológica:	ND	
Emisión:	2021/08/27	Referencia:	ND	
Macronutrientes				
Elemento	Resultado	Unidad	Metodología	
Nitrógeno (N)	1.21	%	Dumas	
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl	
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría	
Fósforo (P)	0.10	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03	
Potasio (K)	1.39	%		
Calcio (Ca)	0.04	%		
Magnesio (Mg)	0.05	%		
Azufre (S)	0.04	%		
Sodio (Na)	0.01	%		
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría	
Micronutrientes				
Elemento	Resultado	Unidad	Metodología	
Hierro (Fe)	73.5	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03	
Zinc (Zn)	24.8	ppm		
Manganeso (Mn)	27.9	ppm		
Cobre (Cu)	2.40	ppm		
Boro (B)	32.0	ppm		
Níquel (Ni)	0.20	ppm		
Molibdeno (Mo)	0.08	ppm		
Características Físicas				
Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	22	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos


 Gerente del Área Analítica
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-51706

Cliente:	Uaq	Cultivo:	Durazno
Localización:	Aguascalientes, Aguascalientes, Aguascalientes	Edad (DDS):	-
Coordenadas:	22.090778, 102.099617	Organo de Muestreo:	Fruto
Predio / ID:	Finca r?stica / Mg8 Se	Etaa Fenológica:	Postcosecha
Emisión:	2022/06/16	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	0.97	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.12	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.20	%	
Calcio (Ca)	0.03	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	72.8	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	18.4	ppm	
Manganeso (Mn)	37.3	ppm	
Cobre (Cu)	7.12	ppm	
Boro (B)	36.7	ppm	
Níquel (Ni)	0.08	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.08	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	18	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOR-PO-01
 Emisión: Oct-2019



No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-47169

Cliete:	Uaq	Cultivo:	Durazno
Localización:	, Queretaro, Queretaro	Edad (DDS):	NA
Coordenadas:	ND, ND	Organo de Muestreo:	Cascara de fruto
Predio / ID:	Na / Con Entintado	Etaa Fenológica:	ND
Emisión:	2021/08/27	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	2.21	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.13	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.51	%	
Calcio (Ca)	0.04	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.05	%	
Sodio (Na)	0.02	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	109	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	26.0	ppm	
Manganeso (Mn)	28.5	ppm	
Cobre (Cu)	1.27	ppm	
Boro (B)	40.6	ppm	
Níquel (Ni)	0.16	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.09	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	21	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Gerente del Área Analítica
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente.
 Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-51707

Cliete:	Uaq	Cultivo:	Durazno
Localización:	Aguascalientes, Aguascalientes, Aguascalientes	Edad (DDS):	-
Coordenadas:	22.090778, 102.099617	Organo de Muestreo:	Fruto
Predio / ID:	Finca rística / Mg8 Ce	Etaa Fenológica:	Postosecha
Emisión:	2022/06/16	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.15	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.13	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.27	%	
Calcio (Ca)	0.13	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.05	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	114	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	21.7	ppm	
Manganeso (Mn)	38.9	ppm	
Cobre (Cu)	3.36	ppm	
Boro (B)	45.9	ppm	
Níquel (Ni)	0.03	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.09	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	19	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivares

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-50082

Cliete:	Paula Nicole LÁpez Raesfeld	Cultivo:	Durazno
Localización:	Na, Queretaro, Queretaro	Edad (DDS):	NA
Coordenadas:	ND, ND	Organo de Muestreo:	Cascara de fruto
Predio / ID:	ND / Intermedia - Sin Entintado	Etaa Fenológica:	ND
Emisión:	2022/03/17	Referencia:	ND

Macronutrientos

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.03	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.14	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.49	%	
Calcio (Ca)	0.05	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría
Cloro (Cl)	NA	%	

Micronutrientos

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	78.0	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	3.57	ppm	
Manganeso (Mn)	4.37	ppm	
Cobre (Cu)	3.42	ppm	
Boro (B)	29.5	ppm	
Níquel (Ni)	0.01	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.00	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	11	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivares

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO **FOLIO: PL-51708**

Cliente:	Uaq	Cultivo:	Durazno
Localización:	Aguascalientes, Aguascalientes, Aguascalientes	Edad (DDS):	-
Coordenadas:	22.090778, 102.099617	Organo de Muestreo:	Fruto
Predio / ID:	Finca rística / Colegio Se	Etapas Fenológicas:	Postcosecha
Emisión:	2022/06/16	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.05	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.14	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.35	%	
Calcio (Ca)	0.12	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.03	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	88.1	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	19.7	ppm	
Manganeso (Mn)	36.8	ppm	
Cobre (Cu)	5.29	ppm	
Boro (B)	39.4	ppm	
Níquel (Ni)	0.10	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.08	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	19	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivares

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-50083

Cliente:	Paula Nicole LÁpez Raesfeld	Cultivo:	Durazno
Localización:	, Queretaro, Queretaro	Edad (DDS):	NA
Coordenadas:	ND, ND	Organo de Muestreo:	Cascara de fruto
Predio / ID:	ND / Intermedia - Con Entintado	Etaa Fenológica:	ND
Emisión:	2022/03/17	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.04	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.13	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.43	%	
Calcio (Ca)	0.09	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	135	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	5.08	ppm	
Manganeso (Mn)	5.53	ppm	
Cobre (Cu)	5.50	ppm	
Boro (B)	42.8	ppm	
Níquel (Ni)	0.01	ppm	
Molibdeno (Mo)	1.21	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	11	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO **FOLIO: PL-51704**

Cliente:	Uaq	Cultivo:	Durazno
Localización:	Aguascalientes, Aguascalientes, Aguascalientes	Edad (DDS):	-
Coordenadas:	22.090778, 102.099617	Organo de Muestreo:	Fruto
Predio / ID:	Finca rística / Colegio Ce	Etapas Fenológicas:	Postosecha
Emisión:	2022/06/16	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.05	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.14	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.33	%	
Calcio (Ca)	0.20	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	127	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	34.3	ppm	
Manganeso (Mn)	38.8	ppm	
Cobre (Cu)	3.16	ppm	
Boro (B)	45.9	ppm	
Níquel (Ni)	0.19	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.09	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	19	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivares

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-50084

Cliente:	Paula Nicole LÁpez Raesfeld	Cultivo:	Durazno
Localización:	, Queretaro, Queretaro	Edad (DDS):	NA
Coordenadas:	ND, ND	Organo de Muestreo:	Cascara de fruto
Predio / ID:	ND / Tardía	Etapas Fenológicas:	ND
Emisión:	2022/03/17	Referencia:	ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.25	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.13	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.48	%	
Calcio (Ca)	0.03	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	92.3	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	3.76	ppm	
Manganeso (Mn)	5.05	ppm	
Cobre (Cu)	4.53	ppm	
Boro (B)	38.8	ppm	
Níquel (Ni)	1.22	ppm	
Molibdeno (Mo)	6.74	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	11	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx

FOR-PO-01
 Emisión: Oct 2019



Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

No. de Certificación: ER-0223/2020,
 ISO 9001:2015

INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYO FOLIO: PL-51705

Cliente: Uaq	Cultivo: Durazno
Localización: Aguascalientes, Aguascalientes, Aguascalientes	Edad (DDS): -
Coordenadas: 22.090778, 102.099617	Organo de Muestreo: Fruto
Predio / ID: Finca rística / 229	Etaa Fenológica: Postosecha
Emisión: 2022/06/16	Referencia: ND

Macronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Nitrógeno (N)	1.25	%	Dumas
Nitrógeno (N)	NA	%	Kjeldahl
Nitratos (N-NO ₃)	NA	ppm	Nitración con ácido Salicílico/espectrofotometría
Fósforo (P)	0.13	%	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Potasio (K)	1.42	%	
Calcio (Ca)	0.11	%	
Magnesio (Mg)	0.06	%	
Azufre (S)	0.04	%	
Sodio (Na)	0.01	%	
Cloro (Cl)	NA	%	Titulación con Nitrato de Plata/Argentometría

Micronutrientes

Elemento	Resultado	Unidad	Metodología
Hierro (Fe)	123	ppm	Digestión ácida multielemental en microondas preparado de acuerdo al método AOAC 2006.03
Zinc (Zn)	21.8	ppm	
Manganeso (Mn)	39.0	ppm	
Cobre (Cu)	2.62	ppm	
Boro (B)	47.2	ppm	
Níquel (Ni)	0.07	ppm	
Molibdeno (Mo)	0.13	ppm	

Características Físicas

Determinación	Peso Fresco	Peso Seco	Humedad	Arsénico (As)
Resultado	18	NA	NA	NA
Unidad	g	g	%	ppm

PND = Pendiente por verificación NA = No analizado ND = Sin datos

Jefe del Laboratorio de Nutrición
 Ing. Agustín García Olivarez

Los rangos de suficiencia nutricional utilizados en el presente reporte provienen de valores publicados en la literatura y debe utilizarse solo como referencia para evaluar el estado nutricional del cultivo, ya que no incluyen todas las variedades e híbridos que existen actualmente. Este documento se encuentra protegido y registrado ante el Instituto Mexicano de Propiedad Industrial; queda prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización de FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.

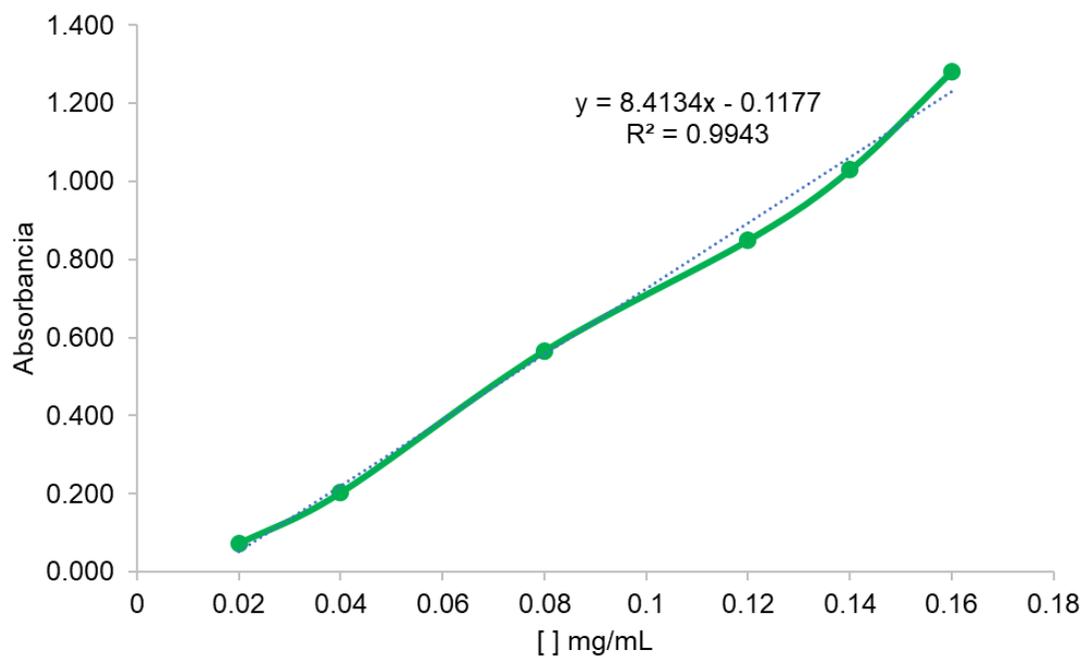


Figura A2. Curva estándar de ácido gálico para la determinación de fenoles totales.

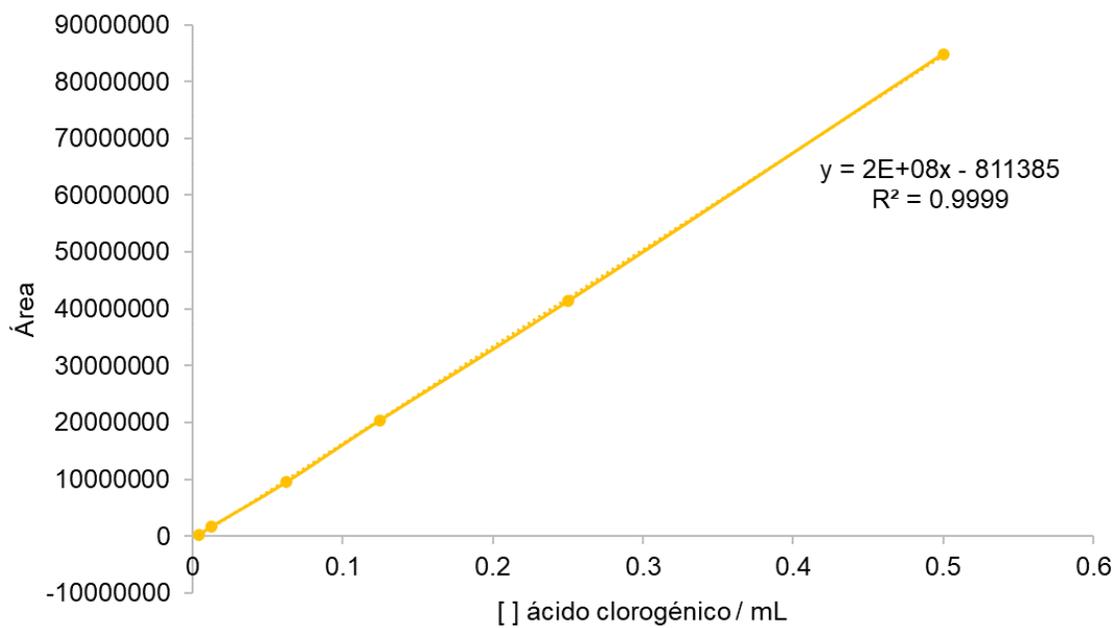


Figura A3. Curva estándar ácido clorogénico para la cuantificación del perfil fenólico.

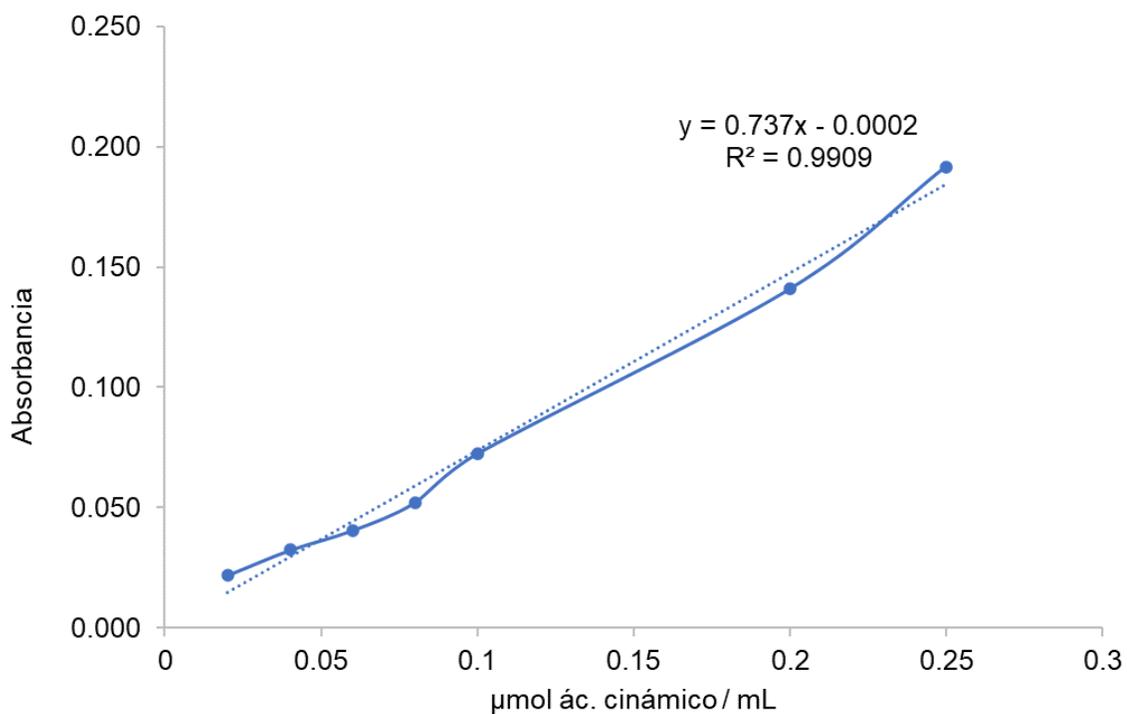


Figura A4. Curva estándar de ácido cinámico para determinar la actividad de PAL.

Tabla A1. Proporciones utilizadas para la curva de calibración de ácido gálico.

No. De tubo	Concentración (mg ácido gálico/ml)	μl sol. ácido gálico	μl de agua destilada
1	0.02	250	1750
2	0.04	500	1500
3	0.08	1000	1000
4	0.12	1500	500
5	0.14	1750	250
6	0.16	2000	0

Tabla A2. Gradiente utilizado para el análisis de HPLC.

Tiempo	%A	%B
0 min	98	2
40 min	80	20
45 min	0	100
60 min	98	2

Tabla A3. ANOVA del contenido fenólico total de la variedad 'MG8' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en el contenido fenólico total en la variedad 'MG8'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	363.810	6.2613	0.0158*
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	25407.431	218.6366	<.0001*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	345.964	2.9771	0.0604

Tabla A4. ANOVA del contenido fenólico total de la variedad 'Colegio' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en el contenido fenólico total en la variedad 'Colegio'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	22223.21	63.2290	<.0001*
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	18345.434	26.0980	<.0001*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	11552.672	16.4347	<.0001*

Tabla A5. ANOVA del contenido fenólico total de la variedad '229' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en el contenido fenólico total en la variedad '229'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	1303.030	9.1312	0.0040*
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	18698.774	65.5177	<.0001*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	5871.787	20.5739	<.0001*

Tabla A6. ANOVA del contenido de ácido clorogénico eq. de la variedad 'MG8' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en el contenido de ácido clorogénico en la variedad 'MG8'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	15.13357	2.0279	0.1799
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	305.60510	20.4751	0.0001*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	108.90490	7.2965	0.0084*

Tabla A7. ANOVA del contenido de ácido clorogénico eq. de la variedad 'Colegio' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en el contenido de ácido clorogénico en la variedad 'Colegio'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	65.60957	7.3629	0.0188*
[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	207.82936	11.6617	0.0015*
Min cep*[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	191.46538	10.7435	0.0021*

Tabla A8. ANOVA del contenido de ácido clorogénico eq. de la variedad '229' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de Fe₂(SO₄)₃.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de Fe₂(SO₄)₃, en el contenido de ácido clorogénico en la variedad '229'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	24.20036	4.4495	0.0566
[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	106.66233	9.8055	0.0030*
Min cep*[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	83.82273	7.7058	0.0070*

Tabla A9. ANOVA la actividad de PAL de la variedad 'MG8' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de Fe₂(SO₄)₃.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de Fe₂(SO₄)₃, en la actividad de PAL en la variedad 'MG8'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	0.40938358	12.2003	0.0044*
[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	0.25968107	38694	0.0505
Min cep*[Fe ₂ (SO ₄) ₃]	2	2	0.02401704	0.3579	0.7064

Tabla A10. ANOVA de la actividad de PAL. de la variedad 'Colegio' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de Fe₂(SO₄)₃.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en la actividad de PAL en la variedad 'Colegio'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	0.15200467	7.6392	0.0172*
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	0.34896213	8.7688	0.0045*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	0.01228034	0.3086	0.7401

Tabla A11. ANOVA de la actividad de PAL. de la variedad '229' con entintado inducido mediante la aplicación de daño mecánico y aspersion de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Probabilidad estadística del efecto de los factores analizados de minutos de cepillado y concentración de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, en la actividad de PAL en la variedad '229'.

Fuente	PAR	GL	Σ cuadrados	Valor f	Prob > f
Min cep	1	1	0.64146381	77.8973	<.0001*
$[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	0.12213325	7.4157	0.0080*
Min cep* $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	2	2	0.02344486	1.4235	0.2788