

Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarzamora (*Rubus* sp.)

Controlled atmospheres to reduce postharvest damage in Blackberry (*Rubus* sp.)

G. Piña-Dumoulín¹, V. C. Saucedo V², V. Ayala E. y A. Muratalla L.

Resumen

La zarzamora es un fruto con vida postcosecha muy corta que además es acelerada por la presencia de patógenos, por lo que se requiere evaluar posibles alternativas para incrementar su vida de anaquel con mínimos detrimentos organolépticos, nutrimentales, de apariencia y residuos tóxicos. Frutos inoculados y no inoculados fueron expuestos a 9 tratamientos (3 niveles de atmósferas y 3 tiempos de refrigeración a 2°C), considerándose las variables: identificación de patógenos, % de frutos con micelio, etanol y acetaldehídos, firmeza, % pérdida de peso, color externo, antocianinas, actividad enzimática de Fenilalanina Amonialiasa (FAL) y Polifenol Oxidasa (PFO), relación °Brix: acidez y ácido ascorbico. El diseño fue un bloques al azar, tres repeticiones y unidad experimental de 200 g de fruto por tratamiento. No hubo efecto significativo de las atmósferas sobre el control de patógenos a excepción de *Botrytis cinerea*. El etanol se incrementó significativamente con la dosis más alta de O₂ y CO₂. Los cambios en firmeza, pérdida de peso, color externo, relación °Brix:acidez y ácido ascorbico resultaron aceptables, como parámetros de calidad de fruto, solo después de dos días a 2°C más dos días al ambiente (26°C) en atmósferas controladas. Las antocianinas y la actividad de FAL y PFO no fueron afectadas por los tratamientos. **Palabras clave:** zarzamora, atmósfera controlada, *Botrytis cinerea*, postcosecha, calidad.

Abstract

Blackberry is fruit of short post-harvest life. Post-harvest life is shortened even more by the presence of pathogens; for this reason it is necessary to evaluate alternatives to increase shelf-life with minimal perceptual, nutritional, sensorial or toxic-residue damage. Blackberries, inoculated and not inoculated, were exposed to 9 treatments (3 levels of atmospheric pressure and 3 intervals of re-

Recibido el 10-2-2000 • Aceptado el 22-3-2001

1 CORPOZULIA. Gerencia de Desarrollo de Empresas. Maracaibo, Edo Zulia. Venezuela. Tel. (0261) 7921446 (0262) 680221, (014) 6479733. (grpina@latinmail.com).

2 Especialidad de Postgrado en Fruticultura. IREGEP. Colegio de Postgraduados. 56230, Montecillo, Edo. México. Tel. 0052(5)9520200 Ext. 1522. (sauveloz@colpos.colpos.mx).

frigeration at 2°C). The variables measured were: pathogen identification, fruits with mycelium, ethanol and acetaldehyde (%), firmness, weight loss (%), external colour, anthocyanine concentration, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and Polyphenol Oxidase (PPO) enzyme activity, the °Brix acidity relationship, acidity and ascorbic acid concentration. A completely random block design was used with three replications and the experimental unit was 200 g of fruit for each treatment. There were no significant effects of atmosphere control on pathogens with the exception of *Botrytis cinerea*. The level of ethanol increased significantly with the highest dose of O₂ and CO₂. Changes in firmness, weight loss, external colour, the °Brix:acidity relationship and ascorbic acid were acceptable as parameters for fruit quality only after two days at 2°C plus two days at environmental condition (26°C) in controlled atmosphere treatments. Anthocyanin concentration, PAL and PPO activity were not affected by the treatments.

Key words: Blackberry, controlled atmosphere, *Botrytis cinerea*, post-harvest, quality.

Introducción

La zarzamora es una especie de gran popularidad en Norteamérica y Europa, donde se destinan inversiones considerables de capital a su cultivo. Sin embargo, la producción mundial de zarzamora cultivada es pequeña comparada con otros de este grupo, estando alrededor de las 65.000 Tn de las cuales el 75% es destinado al proceso de congelado (31).

Aunque los principales productores de zarzamora son Estados Unidos, Europa y Nueva Zelanda existe una suplencia escalonada de producto entre estos países durante la mayor parte del año, sin embargo, hay una ventana de comercialización entre los meses de Septiembre a Diciembre, tiempo en el cual países como Guatemala, Colombia y México han visto la oportunidad de poder abastecer la demanda del producto, y de esta forma hacer de este rubro una fuente de producción rentable y alternativa (31).

La variedad de zarzamora Choctaw o Ark. 876 es el quinto de una serie de cultivares productivos, erectos y de alta calidad, desarrollado en el programa de la Estación Experimental de Agricultura de Arkansas, resultando de un cruce de Ark. 526 ('Darrow' x 'Brazos') x 'Rosborough' hecho en 1975. Sus frutos se caracterizan por ser cortos, cónicos y de un atractivo negro brillante. Sin embargo, la característica más notable de esta variedad es el tamaño de su semilla, la cual es significativamente más pequeña que en otros cultivares, lo que contribuye a su total calidad de aceptación (29).

Aunque la zarzamora son frutos claramente más productivos que las frambuesas, su comercialización en fresco se ve afectada por el grado de perecibilidad de estos productos, siendo una de las limitantes de mayor consideración, la conservación de la fruta en condiciones óptimas de calidad,

tales como sanidad, apariencia, palatabilidad y valor nutritivo.

Durante el manejo postcosecha las condiciones que se le dan al fruto pueden ser aptas para el desarrollo de hongos e incrementar su perecibilidad, requiriéndose evaluar aquellas posibles alternativas para el control de patógenos de una forma eficiente y los riesgos de posibles detrimentos organolépticos, nutrimentales, de apariencia y residuos tóxicos en el producto.

Aunque los efectos de las Atmósferas Controladas (AC) han sido extensamente estudiadas sobre un amplio rango de productos por aproximadamente 50 años, sus respuestas tienen variaciones considerables entre cada uno de ellos y entre cada cultivar; por lo que las combinaciones ideales en la concentración de O_2 y CO_2 necesitan ser determinadas experimentalmente para cada caso (45).

Almacenamientos con altas concentraciones de CO_2 y bajo O_2 son efectivos en la reducción de la incidencia de pudriciones y mantenimiento de la calidad de la fruta (36). Existen evidencias donde en atmósferas de 20 a 25% de CO_2 se hace más lenta la maduración y se reducen daños en frambuesa, particularmente durante transporte refrigerado (24).

Por tal fin, en esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

a. Evaluar el efecto de las AC sobre el desarrollo de *Botrytis cinerea* y otros patógenos en frutos de zarzamora.

b. Evaluar el efecto de las atmósferas probadas sobre la estimulación de respiración anaeróbica en los frutos.

c. Determinar el máximo tiempo de almacenamiento que bajo éstas condiciones de atmósferas son capaces de soportar los frutos de zarzamora, sin disminuir su calidad físico-química.

Materiales y métodos

Los frutos de zarzamora 'Choctaw', se cosecharon en un huerto del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, San Juan Tezontla, Texcoco, Edo. México. Se realizaron 3 cosechas de frutos en estado cercano a la madurez de consumo, definido por el color violeta intenso brillante.

Los frutos recolectados en campo entre las 7:00 y 8:00 am, fueron inmediatamente transportados bajo frío al laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, en donde fueron seleccionados por

sanidad y se establecieron los tratamientos.

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento, en un diseño de bloques al azar y un factorial 3 x 3 constituido por 3 niveles de atmósferas (aire, 5% O_2 + 5% CO_2 y 15% O_2 + 20% CO_2) y 3 niveles de refrigeración (2, 4 y 6 días) tanto para frutos inoculados y no inoculados con *Botrytis cinerea*. La unidad experimental consistió en 200 g de frutos que fueron colocados en recipientes de plástico con 1800 mL de capacidad y se sellaron para establecer AC. La puesta en régimen fue mediante

un sistema abierto de alimentación constante de gases (9), para lo cual se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard, serie II, modelo 5890.

Los contenedores correspondientes a cada mezcla de gases fueron colocados en un refrigerador donde se alcanzó una temperatura de 2°C durante la exposición a las AC. El tiempo bajo cada atmósfera fue de 24 horas, después de lo cual los frutos se almacenaron a 2°C y 85-90% de H.R. en atmósfera normal por 2, 4 y 6 días.

Tras cada período refrigerado los frutos se expusieron por dos días al ambiente (26°C y 50-60% de HR), para asemejar condiciones normales de comercialización.

Frutos inoculados.

Luego de un previo aislamiento, identificación y determinación de la cepa más patógena de *Botrytis cinerea* en los frutos de zarzamora del estudio, los frutos se asperjaron con una solución de 1×10^4 conidios mL⁻¹ (30) y secados al aire para su posterior exposición a los tratamientos de AC y refrigeración. Las variables determinadas en estos frutos fueron la identificación del patógeno presente y el porcentaje de frutos con presencia de micelio.

Frutos no inoculados.

A los frutos no inoculados se le asemejaron las condiciones de humedad de los frutos inoculados, asperjando sobre ellos agua destilada estéril y luego dejándolos secar al aire antes de ser expuestos a los tratamientos de AC y refrigeración. Las variables determinadas en estos frutos fueron las que se describen a continuación:

Identificación de patógenos.

Una vez concluidos los tratamientos de AC + días en refrigeración + días al ambiente se tomaron 3 frutos de cada repetición y fueron colocados en cámara húmeda para la posterior identificación de los géneros de los hongos presentes (5), al igual que se le realizó a los frutos provenientes de campo inmediatamente después de ser cosechados.

Porcentaje de frutos con presencia de micelio.

Se determinó la presencia de patógenos, tomando una muestra de tres frutos por cada tratamiento y colocándolos en cámara húmeda. La identificación fue por características visuales (5). El grado de infestación se expresó en términos de porcentaje considerando frutos infectados aquellos con presencia de micelio de acuerdo al total de frutos por contenedor.

Contenido de etanol y acetaldehídos.

La cuantificación de etanol en jugo de zarzamora se realizó de acuerdo con el método de "Espacio de Cabeza" (11) y los resultados se expresaron como mg de etanol por 100 mL de pulpa (mg 100 mL⁻¹).

Firmeza.

Para evaluar la firmeza se utilizó un texturómetro marca Chantillón modelo FDV-30 y fue expresado en términos de kilogramos fuerza (Kgf).

Pérdida de peso.

Las pérdidas de peso fueron obtenidas mediante una balanza digital Alsep, modelo EY-2200A, tomándose como referencia el peso inicial de fruta de cada contenedor y determinándose la diferencia entre el peso al inicio y final de cada

tratamiento. La pérdida de peso se expresó en términos de porcentaje (%).

Cambios de color.

Para determinar los cambios de color experimentados por los frutos en los diferentes tratamientos se obtuvieron valores de "L", "a" y "b" mediante un colorímetro de reflexión Hunter Lab D25 y posteriormente se calcularon los valores correspondientes de Cromo y Hue (27).

Como complemento a los cambios de color y para determinar si los mismos pueden ser atribuidos a síntesis o degradación de antocianinas, dichos compuestos fueron cuantificados en pulpa y cáscara (37). Los resultados se expresaron como valores absolutos de absorbancia obtenidos a una longitud de onda de 525 nm (Abs. 525 nm) (10).

Actividad de la Fenilalanina Amonialiasa (FAL).

La actividad de la enzima FAL se realizó por un método modificado (25) y se reportó en picokatalas por gramo de peso seco (Pkat g PS⁻¹).

Actividad de la enzima Polifenol Oxidasa (PFO).

Se utilizó un método modificado

(21) y se reportó como cambio de unidad de absorbancia por minuto.

Relación °Brix: acidez.

Esta relación es un indicador bastante confiable del grado de madurez en algunos frutos, siendo también muy utilizado como índice de calidad. Su determinación se realizó dividiendo el contenido de azúcar expresado en °Brix entre la acidez titulable. Los sólidos solubles totales se obtuvieron a partir de un refractómetro digital marca Bausch and Lomb (3) y la acidez titulable fue expresada como % de ácido cítrico (3) obtenidos para cada muestra de los 5 frutos por evaluación, respectivamente (39).

Contenido de ácido ascórbico.

Se utilizó un método conocido (3), y los resultados se registraron como miligramos de ácido ascórbico por 100 gramos de jugo (mg 100 g⁻¹).

Análisis estadístico.

El análisis estadístico fue realizado utilizando el paquete Statistical Analysis System (38) y la comparación de medias se realizó de acuerdo a la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

Presencia de microorganismos en frutos de zarzamora .

El por ciento de micelio encontrados, supone que los frutos presentaron contaminación por hongos y por tanto resultan proclives a incidencia de pudriciones. En el cuadro 1 se presenta el por ciento de micelio desarrollados en frutos inoculados y no inoculados, y el efecto de los diferentes tratamientos en el control de éstos.

De acuerdo con estos resultados, es de notarse que en frutos inoculados los tratamientos con AC por 2 días de refrigeración presentaron un efecto significativo en el control del micelio de *Botrytis cinerea* (15,43 y 19,77 % para 5 % O₂ + 5 % CO₂ y 15 % O₂ + 20 % CO₂, respectivamente) en relación al aire (32,17 %); perdiéndose dicho efecto al prolongar el tiempo de almacenamiento por 4 y 6 días. Dichos

Cuadro 1. Desarrollo de micelio en los frutos después de 2 días de exposición a las condiciones ambientales, tras la aplicación del tratamiento indicado.

Tratamiento Días en refrigeración	% Frutos con micelio
Inoculados	
Aire	
2	32,17 b c d
4	37,47 a b c d
6	95,57 a
5 % O ₂ + 5 % CO ₂	
2	15,43 d
4	34,00 b c d
6	55,80 a b c d
15 % O ₂ + 20 % CO ₂	
2	19,77 c d
4	28,40 b c d
6	79,90 a b c
No inoculados	
Aire	
2	56,20 a b c d
4	53,13 a b c d
6	79,63 a b c
5 % O ₂ + 5 % CO ₂	
2	78,83 a b c
4	52,10 a b c d
6	88,27 a b
15 % O ₂ + 20 % CO ₂	
2	65,90 a b c d
4	53,73 a b c d
6	86,93 a b
DMS*	61,526
CV*	35,54

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$.

* DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

resultados coinciden con reportes sobre el efecto positivo ejercido por concentraciones de 15 % CO₂ + aire en el control postcosecha de *Botrytis cinerea* en frutos de fresa (13).

En el caso de frutos no inoculados no se presentó ningún efecto positivo de las atmósferas respecto al control de desarrollo de micelio, al compararse con el testigo, toda vez que los niveles

de contaminación resultaron altos, lo que permite suponer que si bien las atmósferas probadas controlan el desarrollo de micelio de *Botrytis cinerea* (frutos inoculados), no se ejerce ningún control sobre otros hongos, tal como se presenta en el cuadro 2.

La diversidad de hongos encontrados en los frutos de zarzamora del presente experimento coincide con afirmaciones reportadas donde se menciona que tal condición influye en la presencia de un daño causado por un complejo de varios microorganismos (17).

Es importante notar que dentro de los tratamientos de frutos no inoculados el que tiene menos presencia de micelio es el expuesto a 5 % O₂ + 5 % CO₂ por 4 días, el cual es el único que presenta *Botrytis cinerea* (cuadro 1 y 2). De acuerdo a diferentes autores

la presencia de *Botrytis cinerea* en diversos tejidos puede hacerse visible entre los 5-7 días después de la inoculación dado a su forma de invasión y colonización (26, 28, 44). Aunado esto, al tiempo que estuvo el hongo bajo refrigeración y al tratamiento que estuvo expuesto, es probable que su retraso en el crecimiento sea más evidente que en otros géneros.

De acuerdo con los resultados obtenidos (cuadro 2) se presentó el desarrollo de diversos hongos en los frutos de zarzamora no inoculados, siendo reportados la mayoría de estos como flora fungosa asociada al almacenamiento y deterioro de los frutos suaves (12).

Los hongos *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. y *Fusarium* sp. en

Cuadro 2. Hongos detectados en cada uno de los tratamientos de frutos no inoculados.

Tratamiento Días en refrigeración	Hongos identificados ^z
Aire	
2	<i>Alternaria</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Mucor</i> sp.
4	<i>Botryodiplodia</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.
6	<i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.
5 % O ₂ + 5 % CO ₂	
2	<i>Fusarium</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.
4	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizopus</i> sp.
6	<i>Rhizopus</i> sp.
15 % O ₂ + 20 % CO ₂	
2	<i>Alternaria</i> sp. <i>Mucor</i> sp.
4	<i>Fusarium</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Pestalotia</i> sp.
6	<i>Rhizopus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.

^z Resultados obtenidos de una muestra de 3 frutos por repetición por tratamiento.

frutos violeta, y *Penicillium* sp. y *Fusarium* sp. en rojos, se identificaron como provenientes de campo.

Es de notarse, la presencia de hongos saprófitos, los cuales infectaron los frutos cuando éstos incrementaron su susceptibilidad al estar en un grado avanzado de senescencia. El desarrollo de *Mucor* sp. y *Rhizopus* sp., es reportado en frutos suaves sobremaduros o dañados, no así *Botrytis*, que puede alojarse en el fruto desde la floración (14).

La presencia de esta gama de microorganismos a excepción de *Botrytis cinerea* es debido a la época de cosecha, ya que los frutos se recolectaron antes de las lluvias y *Botrytis cinerea* está reportado como un patógeno que requiere condiciones de alta humedad para su desarrollo, no así *Alternaria* sp., quien es favorecido por períodos secos (17).

Trichoderma sp., se encontró principalmente en los casos donde *Botrytis* no fue identificado, lo que resulta evidente ya que es un hongo utilizado en el control biológico contra *Botrytis cinerea* de fresa y uva en postcosecha (35, 46).

Etanol y acetaldehídos.

El contenido de etanol se incrementó significativamente respecto al valor inicial (66,96 mg 100 mL⁻¹), en función del tiempo de almacenamiento en la atmósfera normal, alcanzando 180,41 mg 100 mL⁻¹ después de 6 días a 2 °C más 2 días al ambiente (cuadro 3), siendo evidente por lo tanto el efecto de la senescencia en la acumulación de dicho metabolito.

En cuanto a la influencia de las atmósferas establecidas, no se

presentaron diferencias significativas en la acumulación de etanol entre éstas y la atmósfera normal; no obstante, una mayor acumulación de este metabolito se presentó en los tratamientos con mayor concentración de CO₂, los cuales durante la exposición al ambiente alcanzaron niveles de 153,64, 182,35 y 194,86 mg 100 mL⁻¹ después de 2, 4 y 6 días de almacenamiento a 2 °C, respectivamente (cuadro 3). Esta mayor acumulación de etanol puede atribuirse al efecto de las AC establecidas sobre la inducción de respiración anaeróbica; al respecto Kader (22) afirma que las bajas concentraciones de O₂ y las altas de CO₂ inducen a una ruta de fermentación, y una de ellas es la acumulación de acetaldehídos y etanol catalizados por las enzimas Piruvato Decarboxilasa (PDC) y Etanol Dehidrogenasa (EDH), respectivamente. En uva se han reportado incrementos similares de etanol para todos sus tratamientos expuestos a concentraciones de 0,5 % de O₂ y de 35 a 100 % de CO₂ en almacenamientos a 5 °C, que se mantuvieron aún después de ser sacadas de la condición de AC; dicho incremento no ocurrió en la fruta que estuvo siempre al aire tanto a 20 como a 5 °C (2).

En cuanto al contenido de acetaldehídos, se presentó un aumento significativo entre los tratamientos evaluados y el valor inicial (1,0 mg/100 mL), sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos al final del almacenamiento (cuadro 3). En este sentido ciertos investigadores han

Cuadro 3. Concentración de etanol y acetaldehído en los frutos no inoculados sometidos a los tratamientos de atmósferas y con diferentes períodos de refrigeración.

Tratamientos Días en refrigeración	Etanol (mg 100 mL ⁻¹)	Acetaldehídos (mg 100 mL ⁻¹)
Iniciales	66,96 ± 27,0 d ^z	1,00 ± 0,28b
Aire		
2	134,74b c	3,16a
4	172,92a b c	2,63a
6	180,41a b	2,78a
5 % O ₂ + 5 % CO ₂		
2	122,39c	3,04a
4	152,05a b c	2,59a
6	169,64a b c	2,44a
15 % O ₂ + 20 % CO ₂		
2	153,64a b c	2,89a
4	182,35a b	2,93a
6	194,86a	2,22a
DMS*	50,879	1,0427
CV*	20,92	25,61

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$ para pruebas de media por Tukey.

* DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

encontrado en frutos de uva, incrementos de acetaldehídos con condiciones extremas de atmósferas a una temperatura de 5 °C, pero no en condiciones de refrigeración y ambiente al aire (2); por lo que se asume que los incrementos en el contenido de etanol y acetaldehído en las zarzamoras que se encontraban al aire (2 °C) y luego al ambiente (26 °C) son el resultado del acelerado proceso de senescencia que estos frutos sufren en condiciones ambientales.

Firmeza y pérdida de peso.

En cuanto a las pérdidas de peso, no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos, no

obstante éstas se incrementaron en función del tiempo de almacenamiento, alcanzando valores entre 2,15 y 2,93 % después de 6 días a 2 °C más 2 días al ambiente (cuadro 4). Esta respuesta resulta evidente, toda vez que entre los factores que afectan el déficit de presión del vapor de agua (DPVA) están la temperatura, humedad relativa y tiempo de almacenamiento.

En cuanto a la firmeza, en el conjunto de frutos estudiados, durante la exposición a los diferentes tratamientos, se observaron pérdidas de dicha variable, respecto al valor inicial (9,18 Kg); sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos sobre la firmeza y pérdidas de peso en frutos de zarzamora expuestos bajo atmósfera normal y controlada.

Tratamiento Días en refrigeración	Firmeza (Kgf)	Pérdida de peso (%)
Inicial	9,18±2,87a ^z	
Aire		
2	7,98a	1,61a
4	6,51a	1,65a
6	8,44a	2,15a
5 % O ₂ + 5 % CO ₂		
2	6,64a	1,93a
4	7,62a	2,33a
6	8,47a	2,93a
15 % O ₂ + 20 % CO ₂		
2	6,80a	2,28a
4	6,51a	1,57a
6	9,36a	2,71a
DMS*	5,0214	1,8952
CV*	42,63	30,62

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$ para pruebas de media por Tukey.

* DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

entre éstos (cuadro 4).

Cabe señalar que los valores de firmeza en los tratamientos por 6 días tanto en atmósfera normal (8,44 Kgf), como en la controlada (8,47 y 9,36 Kgf para 5 % O₂ + 5 % CO₂ y 15 % O₂ + 20 % CO₂, respectivamente) resultaron similares, lo cual pudo deberse a que los frutos presentaban altas pérdidas de humedad y baja turgencia de los tejidos. En este sentido, resultados similares se han reportado en fresa (40) y en otras variedades de zarzamora (33).

Color de los frutos.

En relación al efecto de los tratamientos con el color de los frutos, los resultados obtenidos no mostraron

diferencias significativas en el valor °Hue, pero si en los correspondientes al croma (C) y luminosidad (L) (cuadro 5).

En este sentido, los tratamientos al aire y bajo AC almacenados por 2 días a 2 °C y posteriormente expuestos por 2 días al ambiente, incrementaron sus valores de C (entre 14,732 y 18,168) al compararlos con los valores iniciales a la cosecha de los frutos (4, 84), mientras que para la variable L, los valores se mantuvieron para los tratamientos bajo AC por el mismo período (entre 15,544 y 16,311), y disminuyeron en el tratamiento al aire (11,67) con respecto al valor inicial (15,16). Lo que sugiere que los frutos

Cuadro 5. Cambios de color experimentados en los frutos sometidos a los tratamientos.

Tratamiento Días en refrigeración	Croma (C)	°Hue	Luminosidad (L)
Inicial	4,838±2,10d ^z	196,35±145,19a	15,157±3,04ab
Aire			
2	15,860ab	130,65a	11,167bc
4	4,916d	262,66a	10,011c
6	6,341d	149,15a	11,433bc
5 % O ₂ + 5 % CO ₂			
2	18,168a	222,18a	15,544a
4	6,074d	231,50a	16,278a
6	7,802cd	243,42a	16,133a
15 % O ₂ + 20 % CO ₂			
2	14,732ab	186,95a	16,311a
4	7,092cd	202,08a	17,033a
6	8,607bcd	198,54a	15,811a
DMS*	7,3034	199,92	4,0248
CV*	52,74	63,10	18,41

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$ para pruebas de media por Tukey.

*DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

bajo AC incrementaron su coloración manteniendo el brillo presente al momento de la cosecha, mientras que los frutos que permanecieron al aire fueron perdiendo el brillo natural y por tanto fue más evidente el deterioro en apariencia.

Aunque el papel del etileno en la maduración de zarzamora no está muy claro (34), los resultados obtenidos pueden estar asociados a la reducción de los niveles de esta hormona por la variedad Choctaw, que aunque no es climatérico, libera cantidades considerables en postcosecha.

Las bajas y altas concentraciones de O₂ y CO₂ respectivamente, ejercen efectos, en gran parte independientes,

sobre la respiración y otras reacciones metabólicas (45). Cuando no causan estrés fisiológico, reducen la respiración y la producción de etileno, además de retardar cambios de composición relacionados con color, firmeza, sabor y calidad nutricional de los frutos (22).

En el caso de las zarzamoras, estos son frutos no muy susceptibles a los daños por CO₂, soportando concentraciones altas de este gas (15-30 %), lo que ha justificado su uso en el manejo por corto tiempo de estos frutos (18), y lo cual favorece efectos fisiológicos como el antagonismo ejercido por CO₂ sobre el etileno, compitiendo por el mismo sitio de unión

al metal-receptor, lo cual ayuda a retardar la acción de maduración del etileno (7, 47).

Además, las AC que contienen altas concentraciones de CO_2 inhibe la descomposición de las sustancias pécticas (45), lo que influye directamente sobre el deterioro del fruto.

Al respecto, diversos autores se han referido a la zarzamora como un fruto climatérico y como no climatérico (23, 43), sin embargo fueron Burdon y Sexton (6) quienes concluyeron que la producción de etileno depende de la variedad, fluctuando desde ningún incremento durante el desarrollo, hasta doblar la producción de etileno en el desarrollo del color.

Con la prolongación del tiempo de almacenamiento a 4 y 6 días, más 2 días al ambiente, se observó, un incremento poco significativo en el valor del croma (entre 4,916 y 8,607); sin embargo, los valores de la luminosidad se mantuvieron con respecto al valor inicial, lo que evidentemente se tradujo en una coloración menos intensa de los frutos, y por lo tanto en un efecto no deseable.

Lo anterior permite inferir que los tratamientos de atmósferas controladas conservaron la coloración de los frutos de zarzamora, no así el tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas, el cual al prolongarse provocó decoloración de los mismos, ocurriendo un evento próximo a lo que observaron Jennings y Carmichael (20) quienes demostraron que el color de las zarzamoras tienden a cambiar de negro a rojo cuando ellas son congeladas, reflejando esto madurez incompleta de los frutos. Lo que se

explica tras el hecho que, los cambios de color de estos frutos ocurren durante su desarrollo y madurez, distinguiéndose la última etapa por la pérdida de brillo e incremento de la facilidad para separar la baya del pedicelo (34), sin embargo, dada la condición de alta perecibilidad que poseen los frutos, éstos son cosechados antes de completar su madurez de consumo.

Contenido de Antocianinas y actividad de fenilalanina amonialiasa (FAL).

No se presentaron diferencias estadísticas en la actividad del FAL entre los diferentes tratamientos y entre éstos y el valor inicial (2,96 Pkat g PS^{-1}), similar comportamiento se presentó en el contenido de antocianinas (0,65 Abs. 525 nm) (cuadro 6).

Es de observarse que los valores altos de actividad FAL corresponden también a valores altos de antocianinas (cuadro 7), lo que resulta evidente toda vez que FAL activa la síntesis de estos flavonoides a partir del aminoácido aromático fenilalanina (16). En el caso de fresa un incremento en la actividad de FAL puede ser requerida para una proporción alta en la síntesis de antocianinas, por lo que se ha encontrado una relación estrecha entre la actividad enzimática de FAL y el contenido de antocianinas durante la maduración (19, 8).

En estudios realizados en zarzamora con coloración roja (expresado en °Hue) y mantenida a diferentes concentraciones de ozono por un período de 12 días a 2°C, el contenido total de antocianinas en todos los tratamientos fue similar a los

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos sobre la actividad de Fenilalanina amonialiase (FAL) y la concentración de antocianinas en frutos de zarzamora 'Choctaw'.

Tratamientos Días en refrigeración	FAL (Pkat g PS ⁻¹)	Antocianinas Abs. 525 nm
Inicial	2,96a ^z	0,65a
Aire		
2	1,65a	0,78a
4	0,00a	0,77a
6	3,14a	0,80a
5 % O ₂ + 5 % CO ₂		
2	1,74a	0,76a
4	5,67a	0,83a
6	1,22a	0,62a
15 % O ₂ + 20 % CO ₂		
2	2,18 a	0,70 a
4	2,61 a	0,85 a
6	0,00 a	0,79 a
DMS*	7,8206	0,2776
CV*	256,14	23,83

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$ para pruebas de media por Tukey.

* DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

niveles iniciales (4). Sin embargo, existen reportes donde se afirman que las bajas temperaturas pueden reducir la velocidad de formación de inactivadores de la enzima FAL más de lo que ellos reducen la velocidad de síntesis de la enzima (41).

Según evaluaciones realizadas por Perkins-Veazie *et al.* (33), el

contenido de antocianinas en la variedad Choctaw almacenada por 7 días a 2 °C, no declinó cuando las evaluaciones se efectuaron en frutos con coloración moteada o negro brillante, sino cuando los frutos tenían un color negro mate; por lo que en la actual investigación no se observó un efecto diferente ocasionado por las AC

Cuadro 7. Datos de concentración de antocianinas y actividad de Fenilalanina amonialiase (FAL) en frutos de zarzamora 'Choctaw' con tonalidades violeta y rojo.

Datos iniciales	FAL (Pkat g PS ⁻¹)	Antocianinas Abs. 525 nm
Frutos violeta	2,96 ± 3,70	0,65 ± 0,14
Frutos rojos	1,30 ± 1,63	0,22 ± 0,03

en relación a los valores de absorbancia inicial y con las condiciones de almacenamiento al aire.

Actividad de polifenol oxidasa (PFO).

No se reportan datos de la enzima PFO, debido a que los resultados obtenidos mostraron trazas de su actividad, al igual que en sus valores iniciales, lo que permite asumir que la actividad de la PFO resulta muy baja al madurar los frutos y además esta enzima no está relacionada con el deterioro de frutos de zarzamora, lo cual coincide con lo reportado por Flurkey y Jen (15), quienes señalan que la enzima PFO declina su actividad durante la maduración de los frutos.

Calidad interna del fruto.

En el cuadro 8 puede notarse como la relación °Brix : acidez no presenta diferencias significativas en relación a los valores iniciales, dado que la concentración de azúcares, así como, la acidez titulable en postcosecha no cambian significativamente para ninguna de las condiciones de almacenamiento, aunque la tendencia es a incrementarse con el almacenamiento en el caso de los azúcares, coincidiendo con reportes para la misma variedad donde el

porcentaje de sólidos solubles (SST) y la relación de SST: acidez también se incrementó al evaluarse por 7 días de almacenamiento a 2 °C a 95 % HR dándole como explicación la ganancia de azúcares o la hidrólisis de materiales de la pared celular (33).

En cuanto al ácido ascórbico, la tendencia que tienen los frutos de zarzamora sometidos a los diferentes tratamientos, es a disminuir su concentración a medida que se prolonga el tiempo de almacenamiento (cuadro 8). Semejantes resultados fueron encontrados en manzanas a concentraciones de 0 a 60 % de CO₂, donde luego de 10 días a diferentes temperaturas no se registraron cambios en el contenido de ácido ascórbico (42). En fresa el contenido de Vitamina C (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico) se redujo con altas concentraciones de CO₂ (10-30 %), lo cual fue moderado en zarzamora con respecto a la fresa, sin embargo, la reducción del O₂ en presencia de altas concentraciones de CO₂ tuvo poco efecto sobre el contenido de vitamina C (1); aunque si se ha reportado una disminución de ácido ascórbico en atmósferas con bajas concentraciones de O₂ (32).

Cuadro 8. Calidad interna de los frutos luego de ser sometidos a los diferentes AC, tiempos de refrigeración y 2 días al ambiente.

Tratamiento Días en refrigeración	°Brix: acidez	Ac. Asc. (mg 100 g ⁻¹)
Inicial	11,46a	9,03a
Aire		
2	12,72a	7,30ab
4	13,88 a	8,02ab
6	16,08 a	6,58ab
5 % O ₂ + 5 % CO ₂		
2	14,97a	8,02ab
4	12,05a	6,78ab
6	13,11a	5,55b
15 % O ₂ + 20 % CO ₂		
2	14,46a	6,58ab
4	14,74a	6,38ab
6	15,46a	6,17ab
DMS*	5,3729	3,4278
CV*	25,81	30,91

^z Letras diferentes muestran diferencias significativas para un $\alpha = 0,05$ para pruebas de media por Tukey.

* DMS = Diferencia mínima significativa; CV = Coeficiente de variación

Conclusiones

La aplicación de una atmósfera con 15 % O₂ + 20 % CO₂ resultó más efectiva en la inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* en frutos inoculados, respecto a 5 % O₂ + 5 % CO₂ y atmósfera normal después de 2 días de almacenamiento a 2°C más 2 días al ambiente. En frutos no inoculados, si bien se obtuvo el mismo efecto, otros géneros de microorganismos no fueron controlados favoreciendo por lo tanto el desarrollo de pudriciones.

El contenido de etanol en los frutos se incrementó con respecto al valor inicial después de los períodos de

almacenamiento establecidos (bajo refrigeración y ambiente). En los frutos expuestos al aire, por un estado de senescencia avanzada, y en los frutos bajo AC por la inducción de respiración anaeróbica causada por los bajos niveles de O₂. Los niveles de acetaldehidos se incrementaron con respecto a los iniciales, pero no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos.

La pérdida de peso en los frutos de zarzamora se incrementó y la firmeza disminuyó con el tiempo de almacenamiento, siendo críticas las pérdidas superiores al 2 % por

presentar los frutos síntomas de deshidratación.

La evolución de los cambios en firmeza resultó normal hasta los cuatro días de almacenamiento a 2 °C más dos días al ambiente, después de lo cual los frutos se endurecen por marchitamiento, por lo que la firmeza se considera aceptable hasta los dos días a 2 °C más dos días al ambiente.

Los tratamientos al aire y bajo AC almacenados por dos días a 2 °C y posteriormente expuestos a dos días al ambiente, mejoraron la coloración de los frutos, no obstante la prolongación del tiempo de almacenamiento por cuatro y seis días, en todos los tratamientos, causaron efectos no deseables principalmente por la pérdida de brillo natural.

La actividad de la enzima

Fenilalanina Amonialiasa (FAL) estuvo asociada con la síntesis de antocianinas presentándose mayores valores de este pigmento al alcanzarse el estado violeta brillante intenso de cosecha en comparación con frutos rojos. Los tratamientos no afectaron esta relación. Por otra parte, la actividad de Polifenol Oxidasa (PFO) no presentó ninguna relación con el metabolismo postcosecha del fruto de zarzamora.

No se encontró ningún efecto relevante de las AC sobre la relación °Brix : acidez y el contenido de ácido ascorbico, observándose en éste último disminución de los niveles en los frutos bajo todos los tratamientos, a medida que se prolongaba el tiempo de almacenamiento.

Recomendaciones

La prolongación de la vida de anaquel de los frutos de zarzamora, depende en gran medida de un programa de control fitosanitario precosecha, debido a que uno de los principales factores que aceleran el deterioro de los frutos es la presencia de un conjunto de microorganismos fungosos, que ha excepción de *Botrytis cinerea*, no son controlados con la exposición bajo AC, por lo que esta técnica solo funge como una alternativa complementaria en postcosecha.

Evaluar concentraciones más bajas de O₂ que incrementen la eficiencia en el control de microorganismos sin ocasionar deterioro de los frutos; considerando para ello tiempos de exposición de los frutos y niveles de etanol y acetaldehidos, dado que estos últimos al acumularse en los tejidos ocasionan daños irreversibles en la calidad organoléptica de los frutos de zarzamora.

Literatura citada

1. Agar, I. T., J. Streif y Bangerth. 1997. Effects of high CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. *Postharvest Biology and Technology* 11:47-55.
2. Ahumada, M. H., E. J. Mitcham y D. G. Moore. 1996. Postharvest quality of 'Thompson Seedless' grapes after insecticidal controlled-atmosphere treatments. *HortScience* 31:833-836.
3. Association of official agricultural chemist (AOAC). 1980. Official and tentative methods of analysis. Washington.
4. Barth, M., Zhou Cen, J. Mercier, F. Payne y C. Zhou. 1995. Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. *Journal of Food Science*. 60:1286-1288.
5. Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3^a ed. Burgess Publishing Company. Minnesota.
6. Burdon, J. N. y R. Sexton. 1993. Fruit abscission and ethylene production of four blackberry cultivars (*Rubus* sp.) *Ann. Appl. Biol.* 123:121-123.
7. Burg, S. P. y E. A. Burg. 1967. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. *Plant Physiol.* 42:144-152.
8. Cheng, G. W. y P. J. Breen. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:865-869.
9. Corrales, J. 1995. Respuestas fisiológicas de frutos de aguacate a la frigoconservación en atmósferas controladas. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. México. p 146.
10. Craker, L. E. 1971. Postharvest color promotion in cranberry with ethylene. *HortScience* 6:137-139.
11. Davis, P. L. y W. G. Chace. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. *HortScience* 4:117-119.
12. Dennis, C. y J. Mountford. 1975. The fungal flora of soft fruits in relation to storage and spoilage. *Ann. Appl. Biol.* 79:141-147.
13. El-Kazzaz, M. K., N. F. Sommer y R. J. Fortlage. 1983. Effect of different atmosphere on postharvest decay and quality of fresh strawberries. *Phytopathology*. 73:282-285.
14. Ellis, M., R. Converse, R. Williams y B. Williamson. 1991. Compendium of raspberry and blackberry diseases and insect. APS Press, The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
15. Flurkey, W. M. y J. J. Jen. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science* 43:1826-1831.
16. Hahlbrock, K. 1981. Flavonoids. p. 425-456. In: E. E. Conn (Ed.). The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Secondary plant products. Vol 7. Academic Press. New York.
17. Harvey, J. M. 1955. A method of forecasting decay in California storage grapes. *Phytopathology* 45:229-232.
18. Hulme, A. C. 1970. The biochemistry of fruits and their products. Vol. 1. Academic Press. London.
19. Hyodo, H. 1971. Phenylalanine ammonia-lyase in strawberry fruits. *Plant Cell Physiol.* 12:989-991.
20. Jennings, D. L. y E. Carmichael. 1979. Colour changes in frozen blackberries. *Hort Res.* 19:15-24.
21. Jingwei, D. y P. Robert. 1997. Comparison of leaf susceptibility to enzymatic blackening in *Protea neriifolia* R. Br and *Leucospermum 'Rachel'*. *Postharvest Biology and Technology* 11:101-106.

22. Kader, A. A. 1995. Regulation of fruit physiology by controlled/modified atmospheres. *Acta Horticulturae*. 398:59-70.
23. Lipe, J. A. 1978. Ethylene in fruits of blackberry and rabbiteye blueberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103:76-77.
24. Lloyd R., A. y W. T. Pentzer. 1982. Handling, transportation and storage of fruits and vegetables. Fruits and tree nuts. Vol. 2. AVI. Connecticut
25. Martínez-Tellez, M. A. y M. T. Lafuente. 1997. Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled 'Fortune' mandarin fruit. *J. Plant Physiol.* 150:674-678.
26. McClellan, W. D. y W. B. Hewitt. 1973. Early Botrytis rot of grapes: time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L. *Phytopathology*. 63: 1151:1157.
27. McGuire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27:1254-1255.
28. McNicol, R. J., B. Williamson y A. Dolan. 1985. Infection of red raspberry styles and carpels by *Botrytis cinerea* and its possible role in postharvest grey mould. *Ann. appl. Biol.* 106:49-53.
29. Moore, J. y J. Clark. 1989. 'Choctaw' blackberry. *HortScience* 24: 862-863.
30. Moyls, A., P. Sholberg y A. Gaunce. 1996. Modified-atmosphere packaging of grapes and strawberries fumigated with acetic acid. *HortScience* 31:414-416.
31. Muñoz, M., y M. Juárez D. 1997. El mercado de los frutales menores, el caso de la frambuesa y la zarzamora. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
32. Pantástico, ER. B. 1979. Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Compañía Editorial Continental. México.
33. Perkins-Veazie, P., J. K. Collins y J. R. Clark. 1996. Cultivar and maturity affect postharvest quality of fruit from erect blackberries. *HortScience* 31:258-261.
34. Perkins-Veazie, J. R. Clark, D. J. Huber y E. A. Baldwin. 2000. Ripening physiology in 'Navaho' thornless blackberries: color. Respiration, ethylene, production, softening, and compositional changes. *J. Amer. Hort. Sci.* 125:357-363.
35. Pratella, G. C y M. Mari. 1993. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in postharvest fruit protection. *Postharvest Biology and Technology* 3:49-56.
36. Robbins, J. y J. Fellman. 1993. Postharvest physiology, storage and handling of red raspberry. *Postharvest New and Information*. 4:53-59.
37. Santos, A. y F. Esparza. 1995. Manual de prácticas de química de alimentos. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
38. SAS, Institute, Inc. 1985. SAS user's guide: Statistics. 5th edition. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
39. Saucedo V., C. 1989. Influencia de la conservación en condiciones variables y programadas sobre la fisiología y calidad de mandarina 'Fortune' y aguacates 'Hass' y 'Fuerte'. Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. España. p. 201.
40. Sistrunk, W. A. 1963. Field conditions and processing practices relating to frozen strawberry quality. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 83:440-446.
41. Tan, S. C. 1979. Relationships and interactions between phenylalanine ammonia-lyase, phenylalanine ammonia-lyase inactivation system, and anthocyanin in apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 104:581-586.
42. Thornton, N. C. 1937. Carbon dioxide storage. XI. The effect on CO₂ on the ascorbic acid (vitamin C) content of some fruits and vegetables. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 35:200.

43. Walsh, C. S., J. Popenoe y T. Solomos. 1983. Thornless blackberry is a climateric fruit. HortScience 18:482-483.
44. Williamson, B., R. J. McNicol y A. Dolan. 1987. The effect of inoculating flowers and developing fruits with *Botrytis cinerea* on postharvest grey mould of red raspberry. Ann. appl. Biol. 111:285-294.
45. Wills, R. H. H., T. H. Lee, D. Graham, W. B. McGlasson y E. G. Hall. 1981. Postharvest. An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. New South Wales University Press Limited. Kensington.
46. Wisniewski, M. E. y C. L. Wilson. 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Recent advances. HortScience 27:94-97.
47. Yang, S. F. 1985. Ethylene in postharvest biology and technology of horticultural crops. HortScience 20:41-45.