

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ÁREA DE FRUTICULTURA**

**TALLER DE LICENCIATURA**

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE DESÓRDENES  
FISIOLÓGICOS EN PALTAS (*Persea americana* Mill.) cv. HASS EN  
ALMACENAJE REFRIGERADO, EN DOS ESTADOS DE MADUREZ.**

**GONZALO SERGIO OPAZO QUESNEY**

QUILLOTA

CHILE 2000

# ÍNDICE

## **1 INTRODUCCIÓN**

Objetivos.

## **2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

- 2.1 Descripción y desarrollo del fruto.
- 2.2 Cosecha.
  - 2.2.1 Índice de cosecha.
- 2.3 Fisiología de postcosecha.
  - 2.3.1 Patrón respiratorio y maduración.
  - 2.3.2 Factores que influyen en el deterioro.
- 2.4 Desórdenes fisiológicos.
  - 2.4.1 Pardeamiento externo.
  - 2.4.2 Pardeamiento de pulpa.
  - 2.4.3 Manchas de la pulpa.
  - 2.4.4 Oscurecimiento vascular.
- 2.5 Bioquímica de los desórdenes fisiológicos.
  - 2.5.1 Enzima Polifenoloxidasa.
  - 2.5.2 Enzima Peroxidasa.

## **3 MATERIALES Y MÉTODOS.**

- 3.1 Descripción del ensayo.
- 3.2 Tratamientos.
- 3.3 Evaluaciones.
  - 3.3.1 Variables cuantitativas.
  - 3.3.2 Variables cualitativas.
- 3.4 Actividad enzimática.
- 3.5 Análisis histológicos.
- 3.6 Diseño estadístico.

## **4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

- 4.1 Pérdida de peso.
- 4.2 Resistencia de la pulpa a la fuerza.
- 4.3 Relación color b/a.
- 4.4 Daños fisiológicos.
- 4.5 Daños patológicos.
- 4.6 Análisis histológicos.
- 4.7 Análisis bioquímico.
  - 4.7.1 Actividad de Polifenoloxidasa.
  - 4.7.2 Actividad de Peroxidasa.

## **5 CONCLUSIONES.**

## **6 RESUMEN.**

## **7 LITERATURA CITADA.**

## 1. INTRODUCCIÓN.

El palto (*Persea americana* Mill) ha adquirido en los últimos años una importancia relevante dentro de la industria frutícola nacional, cubriendo actualmente una superficie de 16.919 ha, destacándose la variedad Hass como la principal, pues representa los 2/3 de la superficie total y constituye, además, la principal variedad exportada, seguida a distancia por la variedad Fuerte (SILVA et al., 1998).

Dada la lejanía de Chile con los principales mercados internacionales de consumo, los problemas de calidad y conservación en almacenaje prolongado resultan trascendentales a la hora de competir con países productores más cercanos a estos mercados, como lo es México, el mayor productor del mundo.

La palta es un fruto climactérico que puede ablandar rápidamente luego de ser cosechada (AHARONI, 1984), por ello se utiliza el almacenaje refrigerado para reducir la tasa de ablandamiento y posibilitar el arribo de fruta firme a mercados lejanos como Estados Unidos, principal destino de la fruta chilena; sin embargo, siendo un fruto originario de regiones tropicales, es sensible al daño por bajas temperaturas, que se manifiesta como desórdenes fisiológicos (COUEY, 1982; citado por AGUIRRE, 1994).

Los factores que inducen estas anomalías, se originan tanto en precosecha como en postcosecha, vinculándose directamente con la temperatura y la actividad de la enzima Polifenoloxidasa y en forma indirecta con la enzima Peroxidasa, entre otros. Es por ello que resulta importante conocer la acción de los parámetros Temperatura y actividad de las enzimas Polifenoloxidasa y Peroxidasa, en forma separada y las interrelaciones que pueden generarse entre ellos como forma de buscar la posible causa de la manifestación daños por frío y pardeamiento de pulpa, pudiendo prolongar, de este modo, la vida comercial de la fruta.

Objetivo general.

- Evaluar el efecto de la temperatura, tiempo de almacenaje y la madurez sobre la aparición de desórdenes fisiológicos en almacenaje refrigerado de palta cv. Hass.

Objetivos específicos.

- Evaluar la interrelación que podría haber entre la aparición de desórdenes fisiológicos y los parámetros bioquímicos: actividad de las enzimas polifenoloxidasas y peroxidasa, en almacenaje refrigerado de palta cv. Hass.
- Evaluar el efecto de la temperatura, índice de madurez y tiempo de almacenaje sobre las variables de calidad pérdida de peso, resistencia de la pulpa a la presión, color, desórdenes fisiológicos y daños patológicos.
- Caracterizar histológicamente los daños generados por los desórdenes fisiológicos desarrollados en el almacenaje refrigerado de palta cv. Hass.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1. Descripción y desarrollo del fruto.

El fruto de la variedad Hass es una baya piriforme que pesa entre 180 a 360 gr, de semilla pequeña, cáscara rugosa y de color verde que torna a violáceo a medida que el fruto madura en la temporada hasta llegar a negra una vez cosechada (GÁRDIAZÁBAL y ROSENBERG, 1991).

La curva de crecimiento del fruto en el árbol es del tipo simple sigmoidea, caracterizándose por una división celular continúa e incesante hasta la maduración completa, por lo tanto, el tamaño de las paltas resulta principalmente del número de células más que del tamaño de ellas. (CHANDLER, 1962).

Una de las características más sobresalientes de la palta, es que no ablanda en el árbol, sino que lo hace solamente después de su recolección (ÁLVAREZ, 1974; ZAUBERMAN et al, 1977). Es así como, a lo largo de dos meses de cosecha, los valores de resistencia de la pulpa a la presión difieren en ocasiones en menos de una libra (BERGER y GALLETI, 1987).

MAZLIAC (1971) señala que los lípidos aumentan durante el desarrollo del fruto en forma paralela al incremento de peso, a la vez que se observa una disminución en el contenido de humedad. Al comienzo del período de desarrollo, el contenido de aceite es bajo, 1-2%, y aumenta lentamente a medida que evoluciona el fruto; cerca de la época de cosecha lo hace con mayor rapidez y, es tanto más alto mientras mayor sea el tiempo que la fruta permanece en el árbol, alcanzando en la variedad Hass valores que bordean los 20-22% (BERGER y GALLETI, 1987).

## 2.2. Cosecha.

En cuanto a la época de cosecha, se ha observado que la fruta cosechada anticipadamente requiere de un mayor tiempo para su maduración posterior. Además, es posible conservar esta fruta por un período más prolongado en buenas condiciones (BERGER et al., 1982).

Según FANTÁSTICO et al. (1979), frutos cosechados inmaduros resultan de mala calidad y maduran en forma irregular. Es por lo anterior que resulta fundamental la determinación correcta del estado de madurez para cosechar, pudiendo con ello, obtener fruta de calidad y capaz de ser conservada por un tiempo prolongado.

### 2.2.1. Índice de cosecha.

BERGER y GALLETI (1987) señalaron que durante el período de cosecha, el contenido de aceite aumenta mientras que el porcentaje de agua disminuye en forma prácticamente inversa.

Si bien hoy, en Chile, los índices de cosecha más utilizados son el tamaño de la palta y el precio en el mercado, GARDIAZÁBAL y ROSENBERG (1991) señalan que el criterio de determinación más aceptable es el contenido de aceite, pues éste le otorga el sabor a la palta.

Aun cuando el porcentaje de aceite resulta ser el mejor indicador de la madurez de la palta, las técnicas para determinarlo son caras y engorrosas. Por lo anterior y como señala RIED (1992), la medición en forma directa del contenido de aceite ha sido reemplazada por la determinación del porcentaje en peso seco, debido a la lentitud y complejidad de la cuantificación del contenido de aceite.

Basándose en lo anterior, MARTÍNEZ (1984) estudió los contenidos de aceite y humedad para algunos cultivares de paltas, determinando que los estimadores de mayor exactitud resultan ser ecuaciones de regresión simple a base del contenido de humedad, señalando, además, que existe una estrecha correlación entre la pérdida de peso del fruto y el número de días que demora el ablandamiento. Así determinó la siguiente ecuación de regresión para el cultivar Hass:

$$\% \text{ aceite} = 48,428 - 0,52 (\% \text{ de humedad})$$

El mismo autor señala que el cultivar Hass presenta un rango óptimo de cosecha de 13% a 16%, ya que dentro de él alcanza la calificación de muy agradable a extremadamente agradable.

### 2.3. Fisiología de postcosecha.

#### 2.3.1. Patrón respiratorio y maduración.

La respiración de los frutos se ha considerado como un índice de la actividad fisiológica y vida potencial de almacenaje. Todas las células vivas respiran y la energía producida por este proceso es necesaria para el trabajo celular como síntesis de sustancias, formación y mantención del protoplasma, membranas y paredes celulares (RYALL y PENTZER, 1974).

Corno consecuencia de su alta tasa respiratoria, la palta, luego de ser cosechada, sufre un rápido deterioro, lo cual la hace muy perecible. Este fuerte incremento respiratorio asociado con la maduración en frutos cosechados es conocido como alza climactérica, y las paltas no pueden ser consumidas antes de la ocurrencia de este fenómeno (BERGER y GALLETI, 1987). Además, el incremento en la respiración es precedido de un máximo en la producción de etileno (EAKS, 1976).

En la variedad Hass, el climacterio ocurre a los 13 días de cortado el fruto, alcanzando un valor de 122 ml CO<sub>2</sub>/kg/hr (VÁSQUEZ, 1975). Según RYALL y PENTZER (1974) la tasa respiratoria de paltas es de 4.400 a 6.600 BTU/ton/día a 15°C.

El ablandamiento del fruto se produce luego del alza climatérica de la respiración (BIALE y YOUNG, 1971; EAKS, 1976), variando el intervalo entre el climacterio y ablandamiento según la temperatura (BIALE, 1971). Cuanto más tarde se coseche, menor puede ser el tiempo necesario para que se ablande, pudiendo ocurrir su "peak" climactérico dos a cuatro días después de la cosecha cuando es almacenado entre 15°C y 16°C (CHANDLER, 1962).

Por ello, muy ligado al proceso de maduración en paltas, se encuentra el ablandamiento de la pulpa. Durante su ocurrencia, se producen cambios de color, modificación en el ritmo de producción de etileno, modificación en la permeabilidad de las membranas, cambios en la composición de los hidratos de carbono, modificaciones en los ácidos orgánicos y disminución a la resistencia de enfermedades, algunas de las cuales conducen, al final, a una putrefacción (BIALE y YOUNG, 1962). Así también KANELLIS *et al* (1989) señalan que el proceso de ablandamiento de la palta está asociado a incrementos en la actividad de enzimas hidrolíticas como poligalacturonasa, ácido fosfatasa y celulasa.

### 2.3.2. Factores que influyen en el deterioro.

Pueden ser clasificados en factores de precosecha y de postcosecha.

- Factores de precosecha.

Entre los factores de precosecha, juegan un importante rol el riego y la nutrición. El uso incorrecto de alguno de ellos puede provocar un detrimento en la condición y calidad de la fruta, afectándose la postcosecha y maduración de ésta (EKSTEEN y BESTER, 1987).

Elementos de nutrición como calcio, zinc, boro y potasio presentan especial relación con la aparición de desórdenes fisiológicos los cuales pueden gestarse a partir de la formación de la fruta. El calcio afecta la susceptibilidad a desórdenes fisiológicos y la maduración en muchos frutos (BANGERTH, 1979). TINGWA y YOUNG (1974) observaron que paltas con altas concentraciones de calcio maduran en forma más lenta. CUTTING et al. (1992) observaron que la reducción en el tiempo para madurar a medida que la cosecha se retrasa es acompañada por una disminución en la concentración de calcio en los frutos. CHAPLIN y SCOTT (1980) observaron que los altos niveles de calcio disminuyen los desórdenes inducidos por el frío en la palta. Al retrasarse la época de cosecha, la concentración de calcio en la palta disminuye, lo que sumado a la baja en el contenido de humedad, tendría un efecto en la estabilidad de las membranas y podría explicar, de este modo, por qué la fruta sería más sensible a los desórdenes fisiológicos en recolecciones tardías (CUTTING et al., 1992).

- Factores de postcosecha.

#### Temperatura.

En paltas, altas temperaturas aceleran la respiración provocando un rápido ablandamiento de la pulpa y posterior descomposición de la fruta cosechada. Sin embargo, por ser un fruto subtropical, también es sensible a las bajas temperaturas, produciéndose una serie de desórdenes fisiológicos en postcosecha cuando éstas son inferiores a 5°C, para la mayoría de los cultivares (ZAUBERMAN et al, 1977). Temperaturas superiores a 20 °C llevan a un ablandamiento acelerado y a una rápida deshidratación, decoloración y pérdida del sabor (GARDIAZÁBAL y ROSENBERG, 1991).

Se ha demostrado que pequeños cambios de temperatura tienen efecto en la inclinación de la curva respiratoria en el climacterio, en la magnitud del climacterio y en el período comprendido entre la cosecha y el comienzo del alza climactérica (BIALE y YOUNG, 1962).

En el caso particular de la palta, hay diferencias entre distintas variedades en cuanto a su comportamiento en frío. Tradicionalmente se reconoce que las variedades donde predominan las características de las llamadas razas mexicanas y guatemaltecas, son más tolerantes al frío, que aquéllas en las cuales predominan las características de la raza antillana (VÁSQUEZ, 1975).

Según KOSIYACHINDA y YOUNG (1976), el daño por frío resulta de la fase de cambio que experimentan los lípidos de la membrana a una temperatura bajo la cual se induce un daño tal que, la permeabilidad se ve drásticamente cambiada. Los síntomas de daño son, al parecer, el resultado de la falla en el transporte normal de la membrana.

Los mismos autores demuestran que la palta se muestra muy sensible al daño por frío a medida que el climacterio se acerca a su máximo, y que luego se hace menos sensible en el período de postclimacterio. Además, demostraron que paltas almacenadas a 2°C, 36 a 48 hr postclimacterio duraban 6 a 7 semanas, mientras que otras, en preclimacterio y almacenadas a 8°C, sólo lo hacían por 3 a 4 semanas.

BERGER y GALLETI (1987) señalan que en el caso de temperaturas muy bajas de almacenamiento, se detectaron síntomas de daño por frío, entre ellos, la dificultad para la maduración, daños severos en la epidermis manifestados por manchas oscuras y la apariencia traslúcida y/o pardeada de la pulpa. También ellos mencionan que el daño por frío no es aparente durante el almacenaje refrigerado, sino que aparece cuando la fruta se retira del frío para ser comercializada. No es sólo la baja temperatura la que determina la magnitud del daño, sino que también el tiempo que ha permanecido a bajas temperaturas.

ZAUBERMAN et al (1977) determinaron que temperaturas de 0 a 6 °C hasta por 6 semanas no presentaron daño por frío en el cv. Fuerte. Señalaron, además, que en el almacenaje a 6°C la actividad metabólica se reduce y la maduración es inhibida, no ablandándose el fruto hasta ser transferido a temperatura ambiente.

EAKS (1976) no observó evidencias de maduración ni daños por frío mientras las paltas Hass y Fuerte se mantenían a temperaturas de  $5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, los frutos mantenidos a esta temperatura por más de una semana, después de ser transferidos a  $20^{\circ}\text{C}$  desarrollaron daños por frío. Si el almacenaje a  $5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  se extiende de 4 a 6 semanas, la manifestación de los daños por frío es acompañado de una maduración anormal, respiración atípica y máximos de tasa de producción de etileno más bajos, no asociados al ablandamiento del fruto.

GRAHAM y PATTERSON (1982) mencionan que en una serie de plantas, la presencia de compuestos fenólicos se incrementa durante períodos de baja temperatura, debido principalmente a un incremento en la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL). Por ello, si los sustratos fenólicos para la enzima PFO aumentan, la intensidad del pardeamiento podría ser mayor (BOWER y CUTTING, 1988).

De acuerdo a PLATT-ALGIA y THOMSON (1992), en paltas con daños por baja temperatura, se observa un cambio en la organización del plasmalema. En tal situación, se produce una redistribución de lípidos en la membrana, que conducen a una separación en regiones fluidas y otras gelificadas, estando las proteínas excluidas de estas últimas. Al perder las membranas su integridad estructural, pierden la permeabilidad selectiva necesaria para un funcionamiento adecuado de la célula, lo que conduce a la muerte celular, originando los síntomas visibles del daño por frío. Este cambio físico en las membranas, coincidiendo con lo hallado por diversos autores, sería una respuesta primaria al daño por baja temperatura (WANG, 1982). Estas alteraciones en membranas se deberían a que, por efecto de las bajas temperaturas, los ácidos grasos saturados tienden a solidificarse (LYONS, 1973). La destrucción de las membranas podría deberse, además, a una acción excedida de la enzima lipoxigenasa, la que aumenta ostensiblemente su actividad a bajas temperaturas (NEL et al, 1984).

Humedad relativa.

La humedad relativa de la mayor parte de las cámaras de refrigeración es demasiado baja para un almacenaje prolongado. La mayoría de las frutas tienen una presión de vapor de agua equivalente al 99% de humedad relativa. Debido a esto, se evapora agua de la fruta cuando ésta es menor a dicho valor (CLAYPOOL, 1975).

El contenido de agua de las frutas se mantiene, en virtud de las fuerzas osmóticas en el interior de las células, en su mayor parte como agua libre, aunque una pequeña proporción se encuentra químicamente ligada y se haya, por tanto, más fuertemente retenida, siendo más estable. El agua de los tejidos vegetales contiene cantidades variables de diversos solutos que, naturalmente, deprimen su presión de vapor (WILLS *et al.*, 1981).

Al humedecer el ambiente donde se almacenan paltas, disminuye la deshidratación y adicionalmente se reducen los desórdenes fisiológicos y problemas patológicos. Esto podría indicar que el estrés de humedad juega un importante papel en la iniciación de los desórdenes, por lo que el ácido abscísico estaría involucrado (BOWER y CUTTING, 1988). De acuerdo a los mismos autores, el nivel de polifenoloxidasas en las paltas se vería afectado al retrasarse la cosecha por una disminución en el contenido de humedad de los frutos, lo que provoca un mayor estrés hídrico al madurar la fruta y perder agua por transpiración y por una mayor sensibilidad al ácido abscísico.

Generalmente, los ensayos en frutos de palto han utilizado humedades relativas que fluctúan entre un 90 y 95%, para evitar que el porcentaje de deshidratación de la fruta supere el 10%, valor señalado por ciertos autores (LUZA, BERGER y LIZANA, 1979) como límite sobre el cual se afectaría seriamente la apariencia del fruto.

## 2.4. Desórdenes fisiológicos.

Los desórdenes fisiológicos corresponden a una alteración de tejidos del fruto, no originados ni por patógenos ni por daños mecánicos. Pueden generarse en respuesta a un ambiente adverso, especialmente de temperatura o composición atmosférica, como a deficiencias nutricionales (principalmente el calcio) durante el crecimiento y desarrollo del fruto (WILLS et al. 1989).

Estudios realizados por EAKS (1976) demostraron en paltas, una interacción entre tiempo y temperatura de almacenaje en la incidencia de desórdenes fisiológicos asociados a daño por frío; mientras que ZAUBERMAN et al (1985), señala que el almacenaje de paltas a temperaturas inferiores a 10°C, pero mayores de 0°C por períodos relativamente largos, siempre provoca daños por frío.

Según AGUIRRE, LIZANA y BERGER (1995), las principales alteraciones fisiológicas al almacenar paltas son: pardeamiento externo, pardeamiento de pulpa, manchas de la pulpa y pardeamiento vascular, todas ellas asociadas generalmente a daños por frío.

### 2.4.1. Pardeamiento externo.

Es, tal vez, el síntoma más claramente asociado a daño por frío en los cultivares que en un estado de madurez normal presentan piel de color verde. En casos leves, se presenta como puntuaciones necróticas, y en daños severos, se presenta como manchas irregulares que con el tiempo se oscurecen hasta ponerse pardas o casi negras (AGUIRRE, 1994). En casos severos, las manchas abarcan gran superficie y adquieren consistencia coriácea (MARABOLÍ y MOLINOS, 1987). La mancha se caracteriza por estar claramente definida, presenta una depresión de la piel en el límite entre la zona afectada y la sana, se limita solamente a la piel y no penetra a la pulpa, y por último, aparece a los pocos días de estar sometida la fruta a temperaturas bajas (PERALTA, 1977; SWARTS, 1984).

El desorden se manifiesta siempre en la parte distal del fruto, avanzando en estados posteriores hacia la zona peduncular (LIZANA et al. 1992).

#### 2.4.2. Pardeamiento de pulpa.

Es conocido también como pardeamiento interno. Este desorden se puede originar como respuesta a una baja temperatura de almacenaje, o como una reacción a una situación de aireación restringida (VAN LELYVELD y BOWER, 1984, citado por AGUBRRE et al. 1995). En Sudáfrica, este desorden se ha presentado en fruta de cosechas tardías sin almacenaje refrigerado (CUTTING et al. 1992).

En esta anomalía, en la zona amarilla, se presenta un área de coloración difusa pardo grisácea o parda, extendiéndose desde la porción distal adyacente a la semilla, comprometiendo toda la pulpa en casos severos (LUZA et al. 1979; BERGER et al. 1982).

Al exponer el fruto cortado al aire se intensifica el pardeamiento, ocurriendo generalmente, sólo en frutos que han sido almacenados por un período prolongado (AGUIRRE et al. 1995).

En el cv. Fuerte, a medida que se retrasa la cosecha, el pardeamiento de pulpa aumenta su incidencia (PERALTA, 1977; CARRILLO, 1991; BARRIENTOS, 1993); en cambio, BERGER et al. (1982) obtuvieron un efecto contrario en el cv. Hass, lo que se atribuye a factores de precosecha.

Según CUTTING et al. (1992), el pardeamiento de pulpa es esencialmente un desorden asociado al almacenaje refrigerado, incrementándose el problema en fruta almacenada a 5,5°C cosechada tardíamente, o bien puede presentarse en cosechas tardías en fruta madurada directamente después de recolectada.

### 2.4.3. Manchas de la pulpa.

Las manchas de la pulpa es, quizás, el desorden que más denominaciones ha recibido: manchas grises, manchas pardas, moteado extendido de la pulpa o moteado pardo, correspondiendo muchas veces a distintas intensidades del mismo problema (AGUIRRE et al. 1995).

En la zona amarilla de la pulpa, se presentan manchas claramente delimitadas, de color pardo o gris claro a pardo oscuro (BERGER et al. 1982); a veces, su presencia puede visualizarse en forma inmediata al corte, aumentando la intensidad del pardeamiento con el tiempo de exposición al aire (CARRILLO, 1991; LIZANA et al., 1992; AGUIRRE, 1994).

Estas manchas se ubican asociadas a haces vasculares, los que presentan un pardeamiento mayor a los del resto de la pulpa, pero cuando el desorden adquiere mayor intensidad, algunas manchas confluyen originando grandes áreas pardas, asemejándose al pardeamiento de pulpa (LIZANA et al., 1992; AGUIRRE, 1994) lo cual origina la confusión de términos.

Según PERALTA (1977), este desorden puede manifestarse en forma irregular en toda la pulpa, en el extremo proximal (BERGER et al., 1982) o en forma preferencial en la zona distal y inedia del fruto (AGUIRRE, 1994).

Estas manchas corresponden a un daño producido en las células procambiales que rodean los haces vasculares. Estas células, a diferencia de las del mesocarpo, se caracterizan por mantenerse activas, indiferenciadas y en división a lo largo de la vida del fruto, siendo el estado juvenil el que las haría más susceptibles a daños por bajas temperaturas (BOWER y CUTTING, 1988).

Resultados de ECHEVERRÍA (1988); CARRILLO (1991) y BARRIENTOS (1993), muestran que en el cv. Fuerte, la intensidad de las manchas aumenta al progresar la fecha de cosecha; en cambio, LIZANA et al (1992) no encontraron correlación entre fecha de cosecha y manifestación de esta anormalidad.

#### 2.4.4. Oscurecimiento vascular.

Se describe también como pardeamiento u oscurecimiento de fibras, en donde los haces vasculares cambian su color de verde claro amarillento a pardo claro o negro (AGUIRRE et al, 1995). Los primeros síntomas, generalmente, aparecen en la porción distal del fruto como un punteado, pudiendo extenderse a lo largo de la pulpa en casos severos (PERALTA, 1977; BERGER et al. 1982; LIZANA et al. 1992). Pueden presentarse con mayor intensidad en la zona distal y basal del fruto (AGUIRRE, 1994).

De acuerdo a SWARTS (1984), el síntoma se hace visible cuando la fruta es cortada, pero luego de exponerse a temperatura ambiente se hace más pronunciado, asociándose, además, a un deficiente control de la temperatura.

#### 2.5. Bioquímica de los desórdenes fisiológicos.

De acuerdo a GOLAN et al, (1977), la capacidad de pardeamiento en muchos frutos está fuertemente ligada al nivel de fenoles y a la actividad de la enzima polifenoloxidasas (PFO), como también a la combinación de ambos factores. Así también, la diferencia en la velocidad de pardeamiento al cortar paltas de distintos cultivares se ha relacionado con la actividad de la PFO y la concentración de fenoles totales (KAHN, 1975; 1977a, 1977b; GOLAN et al, 1977; KAHN et al. 1989)

Según VAN LELYVELD y BOWER (1984); VAN LELYVELD et al (1984) y CUTTING et al (1990), en paltas que presentaron pardeamiento de pulpa durante almacenaje el refrigerado se observó una mayor concentración de fenoles totales y actividad de PFO.

Por otro lado, GOLAN et al (1977) mencionan que la presencia de los sustratos fenólicos sería importante en la manifestación del pardeamiento de las paltas, pues hay un mayor contenido de fenoles y actividad de PFO en la porción distal de la palta, relacionado con una mayor velocidad de pardeamiento de esta sección.

#### 2.5.1. Enzima Polifenoloxidasas.

Esta enzima corresponde a una monooxigenasa que contiene cobre y es responsable de la mayoría de los pardeamientos en los vegetales. Es capaz de catalizar dos reacciones distintas que involucran oxígeno molecular: a) La o-hidroxilación de imonofenoles a o-difenoles (actividad tirosinasa) y b) la subsecuente oxidación de o-difenoles a quinonas (actividad catecolasa) (MAYER y HAREL, 1979; VAUGHN y DUKE, 1984; Mayer, 1987). Las quinonas, en presencia de oxígeno, son irreversiblemente oxidadas a melaninas, produciéndose un pardeamiento y la consecuente aparición de desórdenes fisiológicos (BOWER y CUTTING, 1988).

KAHN (1977b) señala que se ha demostrado que el grado de pardeamiento está positivamente correlacionado con el nivel y actividad de PFO en la fruta.

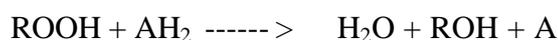
El pH óptimo para la actividad de la PFO de la palta es entre 5,5 a 6,5 (KAHN, 1977b). La PFO se localiza en los plastidios de tejido sano y la mayoría de los compuestos fenólicos se ubican en la vacuola, aislados de la PFO. Aparentemente, se requiere de alguna forma de daño celular para la activación de la PFO latente, la que reaccionaría con

los fenoles liberados de la vacuola produciéndose el pardeamiento (VAUGHN y DUKE, 1984).

CUTTING et al (1988) determinaron que la actividad de la enzima PFO se incremento hacia el final de la estación de cosecha del cv. Fuerte, que sumado al aumento del contenido de fenoles explicaría la mayor susceptibilidad a los desórdenes fisiológicos en cosechas tardías (CUTTING et al, 1992).

### 2.5.2. Enzima Peroxidasa.

Las peroxidases constituyen un ubicuo grupo de enzimas, presentes en todos los vegetales superiores que han sido investigados y en los leucocitos. Suelen contener un grupo prostético hemo (ferriprotoporfirina), no obstante, también pueden utilizar otros grupos. Catalizan la siguiente reacción:



En la reacción anterior, el peróxido (ROOH) se ve reducido a la vez que resulta oxidado un donador de electrones (AH<sub>2</sub>), pudiendo operar como tal el ascorbato, los fenoles, las aminas y otros compuestos orgánicos. El producto de la oxidación posee, en muchos casos, una coloración intensa, y en ello se basa la determinación colorimétrica de la actividad de la peroxidasa (RICHARDSON y HYSLOP, 1993)

La peroxidasa es capaz de oxidar los substratos fenólicos a quinonas, habiéndose encontrado en paltas con síntomas severos de pardeamiento de pulpa mayor actividad de esta enzima (VAN LELYVELD et al. 1984). Por otra parte, ZAUBERMAN, FUCHS y ACKERMAN (1985), al estudiar la actividad de esta enzima en paltas almacenadas a baja temperatura, no observaron un incremento significativo en su actividad en el cv.

Fuerte, que mostraba daño por frío, resultado de un almacenaje a  $1 \pm 1^\circ\text{C}$ . La actividad de la peroxidasa disminuyó en el proceso de maduración, a medida que la fruta ablandó.

De esto último resultaría que la actividad de la peroxidasa en el mesocarpo de la fruta, no tendría un rol importante en el desarrollo de daño por frío. Sin embargo, es posible que las peroxidases intervengan en otras reacciones oxidativas, catalíticas y de hidroxilación. Dentro de estas últimas, las peroxidases pueden hidroxilar tirosina, fenilalanina, ácido benzoico, ácido salicílico y p-cresol, entre otros. Con este último se puede formar como producto 4- metil catecol, sustrato para la PFO (ENGELBRECHT, 1982).

Según AGUIRRE (1994), en el pardeamiento de palta fuerte no se puede descartar la participación de otras enzimas además de la PFO, indicando que la peroxidasa puede catalizar la formación de quinonas a partir de fenoles.

Los procesos fisiológicos que conducen al oscurecimiento vascular de la palta parecerían ser distintos a los de los otros pardeamientos; por ser la PFO una enzima que se ubica exclusivamente en los plastidios, los tejidos que carecen de ellos (vasos cribosos y traqueidas) no presentarían actividad de PFO (VAUGHN y DUKE, 1984). En tanto, CATESON (1980), citado por VAUGHN y DUKE (1984), demostró que los tejidos vasculares poseen alta actividad de la peroxidasa.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1. Descripción del ensayo**

La presente investigación se desarrolló en el área de Postcosecha e Industrialización de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso.

Las paltas requeridas para desarrollar la investigación se obtuvieron de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía, las cuales reunieron las siguientes condiciones: calibre mediano a grande (160-250 gr), sin malformaciones ni daños, pedúnculo de 1 cm de largo, libre de enfermedades y plagas, de forma y color típicos de la variedad.

Se trabajaron dos índices de madurez: 9 a 11% de aceite y de 14 a 16% de aceite. Para la determinación de los porcentajes se utilizó la ecuación de regresión lineal usada por MARTÍNEZ (1984).

Luego de cosechar los frutos para cada estado de madurez, se embalaron en mallas plásticas las cuales se almacenaron sobre cajas plásticas en cámaras de refrigeración a 3° y 7°C, con humedad relativa del 90%.

#### **3.2. Tratamientos.**

Los tratamientos que los frutos recibieron durante el almacenaje refrigerado resultan de la combinación de tres variables: índice de madurez, temperatura de almacenaje y tiempo de almacenaje refrigerado.

- Estados de madurez.

En el ensayo se trabajó con paltas variedad Hass en dos estados de madurez. El primero de 9 a 11% de aceite y el segundo, entre 14 y 16%.

- Almacenaje refrigerado.

Se utilizaron dos temperaturas de almacenaje refrigerado: la primera a  $7^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y la segunda a  $3^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . El ensayo de temperatura a  $3^{\circ}\text{C}$  se utilizó un refrigerador común y para el almacenaje a  $7^{\circ}\text{C}$  se utilizó una cámara de refrigeración de  $9\text{ m}^3$ .

- Tiempo de almacenaje.

Las evaluaciones se realizaron a los 10, 20, 30, y 40 días de almacenaje. El

Cuadro 1 resume los tratamientos aplicados.

CUADRO 1. Resumen de los tratamientos realizados.

<b>Tratamiento</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Estado de madurez</b>	<b>Tiempo de almacenaje (días)</b>	<b>N° de frutos</b>
1	3°C	9 a 11%	10	5
2	7°C	9 a 11%	10	5
3	3°C	9 a 11%	20	5
4	7°C	9 a 11%	20	5
5	3°C	9 a 11%	30	5
6	7°C	9 a 11%	30	5
7	3°C	9 a 11%	40	5
8	7°C	9 a 11%	40	5
9	3°C	14 a 16%	10	5
10	7°C	14 a 16%	10	5
11	3°C	14 a 16%	20	5
12	7°C	14 a 16%	20	5
13	3°C	14 a 16%	30	5
14	7°C	14 a 16%	30	5
15	3°C	14 a 16%	40	5
16	7°C	14 a 16%	40	5

### 3.3. Evaluaciones.

Las correspondientes variables cuantitativas y cualitativas se realizaron al inicio del ensayo y a los 10, 20, 30 y 40 días de almacenaje.

En cada fecha de evaluación, se midieron 5 frutos por tratamiento, siendo cada uno de ellos una repetición. Para los análisis enzimáticos del índice de Madurez I se utilizó un fruto de palta, mientras que para el índice de Madurez II se trabajó cada tratamiento con cinco frutos de palta.

#### 3.3.1. Variables cuantitativas.

Se midieron las siguientes variables:

- Pérdida de peso:

Cada fruto se pesó al inicio del ensayo y posteriormente en cada fecha de evaluación, expresándose el resultado en gramos, lo que se transformó luego en porcentaje de pérdida de peso.

- Resistencia de la pulpa a la fuerza:

Fue medida con un presionómetro marca Effegi de vástago 5/16", a ambos lados de la zona ecuatorial del fruto y se realizó en cada fecha de evaluación, luego de sacar la fruta de la cámara; posteriormente, se trabajó con la media de los valores. El resultado se expresa en libras.

- Color de la epidermis:

Se midió con un colorímetro marca Minolta C-200, y los valores fueron expresados en Hunter L; +- a; +- b.

La medición se realizó en ambos lados de la zona ecuatorial del fruto, al inicio del ensayo y en cada evaluación, una vez la fruta retirada de la cámara, utilizándose finalmente la media de ambos valores.

### 3.3.2. Variables cualitativas.

- Desórdenes fisiológicos internos:

Esta medición se realizó visualmente sobre la base de presencia o ausencia y caracterizando el tipo de desorden. Para ello los frutos fueron cortados por la mitad en sentido longitudinal, 10 minutos después de ser sacados de la cámara.

- Daños patológicos:

Fueron evaluados en forma visual y en la medida que se presentaron fueron reconocidos con apoyo del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso.

### 3.4. Actividad Enzimática

Los análisis enzimáticos realizados durante la presente investigación se centraron en los dos desórdenes fisiológicos detectados a lo largo de éste, que fueron el Pardeamiento de pulpa y el Oscurecimiento Vascular.

Las menciones se llevaron a cabo en la Escuela de Ingeniería Bioquímica de la Universidad Católica de Valparaíso. En el primer índice de madurez se evaluó a los 30 y 40 días, mientras que en el segundo índice de madurez se evaluó a los 10, 20, 30 y 40 días. En cada fecha de evaluación, se procedió a cortar la fruta en forma longitudinal para caracterizar en forma visual los daños presentes (luego de una exposición a temperatura ambiente por 15 min.). Posteriormente, se tomaron de aquellas paltas muestras de tejido dañado como sano, a los que se les determinó la actividad de las enzimas Peroxidasa y Polifenoloxidasas.

Para realizar las mediciones se sometió cada trozo de palta al procedimiento descrito por SÁNCHEZ et al (1986) para chirimoyas. Este método se caracteriza por obtener el extracto enzimático a partir del mesocarpio de la fruta. Se mezclaron 40 gr de pulpa triturada con 130 ml de tampón fosfato, pH 6,5 (0,06 M) agitándose por 5 min a 4°C, centrifugando durante 45 min a 4°C y 4500 rpm. Luego se agregó al sobrenadante 0,6% de polivinilpirrolidona (PVP) p/v y se dejó agitando durante 1 hora a 4°C; finalmente, se filtró y almacenó a 4°C en un frasco tapado.

- Actividad de la polifenoloxidasas (PFO):

Se determinó a través de la velocidad de reacción del reactivo 4-metil catecol en el tiempo a 25°C. La medición se realizó en una mezcla de 12 ml que incluye 5 ml de tampón fosfato 0,1 M pH 6,5, 5 ml 0,2 M de 4-metil catecol, y 2 ml de extracto enzimático diluido. Al producto de esta reacción se le midió la absorbancia a los 410 nm y la actividad se expresó como el aumento de dicha absorbancia en el tiempo (BERGMEYER, 1974).

- Actividad de la peroxidasa:

Se midió a través de la velocidad de oxidación del Guayacol a 25°C. La medición se realizó en una mezcla que incluyó en un volumen total de 3 ml, 2, 7 ml de mezcla A (100

ml tampón fosfato 0.066 M pH 6.5, 10 ml al 1% de guayacol en 50% de etanol, 10 ml 0,3% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y 0,3 ml de extracto enzimático sin diluir. Al producto de esta reacción, se le midió la absorbancia a los 470 nm y la actividad se expresó como el aumento de dicha absorbancia en el tiempo.

### 3.5. Análisis Histológico.

Los análisis histológicos se realizaron en los laboratorios de Postcosecha e Industrialización de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso. Para llevar a cabo el análisis histológico de las muestras de palta seleccionadas, fue necesario ceñirse a un protocolo que comprendió diversas etapas:

#### \* Fijación.

Los trozos de paltas seleccionados fueron fijados en F.A.A, fijador constituido por alcohol de 50°, ácido acético glacial y formalina en una proporción de 18:1:1, a temperatura ambiente (18° aproximadamente). El material se mantuvo sumergido como mínimo 18 hrs, para que la difusión de éste fuese homogénea en el material vegetal. Gracias a que el F.A.A. permite conservar indefinidamente las muestras, se facilitó el trabajo, pues luego de ser seleccionadas, las muestras se sometieron al protocolo histológico semanas después, con el objetivo de realizar esta etapa de una sola vez.

#### • Deshidratación:

El fijador se reemplazó por una batería de alcoholes de concentraciones crecientes (50°, 60°, 70°, 95° y 100°), con el fin de extraer progresivamente el agua, para posteriormente incluir con parafina el material vegetal. El tiempo de aplicación del alcohol fue variable según la cantidad de agua de las muestras y la composición en aceites. Dado que la palta

tiene un alto contenido de estos, los tiempos se aumentaron para permitir una disolución de los aceites y una buena deshidratación.

- Inclusión en parafina:

Los trozos de palta se trasladaron desde el alcohol absoluto (100°) a un recipiente con xilol, que corresponde a un solvente intermedio entre el alcohol y la parafina. Se realizaron varios cambios de xiloles para asegurar que el material quede exento de alcohol, lo que se reflejó en la transparencia de la pieza.

Para la inclusión misma, se utilizó parafina con un punto de fusión entre 52-55°C. Ésta se mantuvo en estufa a no más de 60° para asegurar su estado líquido. Los trozos de palta se traspasaron a un recipiente de porcelana pequeño (crisol) efectuándose varios cambios o baños de parafina con un tiempo cada uno de 45 min, todo esto para permitir que la parafina difunda a todos los tejidos de la muestra.

- Formación de bloques:

En este paso se procedió a formar los bloques con las muestras para su posterior corte histológico. Para ello, se utilizaron barras de Leuckart (dos barras metálicas dispuestas en L) ordenadas de modo que formen un bloque de 2x2x2 cm. Las barras se llenaron de parafina fundida y con pinzas se introdujo el trozo de muestra orientándolo según el corte deseado, que en este caso fue longitudinal al eje mayor.

- Corte histológico:

Se procedió a realizar los cortes una vez obtenidos los bloques sólidos de parafina con la muestra en su interior. Para ello se utilizó un micrótopo rotatorio manual Leitz para cortes en parafina, que fue graduado a un grosor de 15  $\mu$ m. Aquí se obtuvieron, por lo

tanto, los cortes longitudinales de las muestras de palta en forma seriada por muestra cortada.

- Adhesión de cortes:

Los cortes fueron sobrepuestos de a tríos en portaobjetos previamente untados con albúmina, para así adherirlos. Posteriormente, cada portaobjeto con sus muestras adheridas pasó por un recipiente con agua fría y luego por otro con agua tibia, con el fin de estirar la muestra y evitar que quedaran células sobrepuestas. Como paso final de esta fase, las muestras se llevaron a la estufa a 25°C durante 24 hrs para secarlas.

- Eliminación de parafina:

Luego de retirar las muestras de la estufa, éstas se introducen en un vaso de Coplin, y se incorpora en él xilol en dos cambios sucesivos de 10 min cada uno. El fin de esto fue quitar la parafina alrededor de las muestras.

- Hidratación:

El xilol del vaso de Coplin se reemplazó por una batería de alcoholes en concentraciones descendentes, desde alcohol puro hasta alcohol de 70°, por 10 min cada uno de ellos. Para completar la hidratación de las muestras, se agregó agua corriente y luego agua destilada.

- Tinción:

Una vez completada la hidratación, se procedió a teñir, para lo cual se usó safranina al 1% por 15 min. Luego de este tiempo las muestras se lavaron con agua corriente y destilada, para continuar con la tinción verde luz ("fast green") al 0.2% por no más de 1 min. Posteriormente se lavó con alcohol absoluto con dos cambios, para quitar el agua y poder

realizar el montaje. El uso de una tinción doble (safranina/"fast green") permitió obtener una diferente coloración de los tejidos, según sus características celulares.

La safranina (color rojo) indica todo lo que es pared secundaria o productos del metabolismo secundario (taninos); mientras que el "fast green" (color verde) indica aquello que corresponde a estructura celulósica, permitiendo identificar nítidamente las paredes celulares.

- Aclaración y montaje:

Antes de agregar entellán (resina sintética) para montar las muestras, fue necesario quitar el alcohol e impregnarlas en líquido aclarador usando xilol por 5 min, con dos cambios de igual tiempo. El montaje se realizó agregando sobre la muestra unas gotas de entellán, y para evitar la formación de burbujas se dejó caer lentamente el cubreobjeto en forma oblicua, con la ayuda de agujas de disección. Para secar las muestras fue necesario dejarlas por lo menos 2 días al aire a temperatura ambiente, pero sin exposición directa a la luz para evitar la decoloración de ellas.

- Análisis de las muestras:

Corresponde al paso final de todo el protocolo, el cual comenzó con el orden de las muestras ya identificadas. Luego, utilizando un microscopio óptico de luz marca Nikon AFX-35 con máquina fotográfica se obtuvieron las fotografías de las muestras más relevantes y de los aumentos que se estimaron convenientes.

### 3.6. Diseño Estadístico.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar, aleatorizado a tres factores: dos índices de Madurez, dos Temperaturas de Almacenaje y cuatro Fechas de Evaluación, dando origen a 16 tratamientos. Se consideró como unidad experimental un fruto de palta y se realizaron 5 repeticiones.

Las variables cuantitativas, en aquellos casos que existan diferencias significativas entre las medias, serán analizadas mediante el test de Tuckey al 5% de significancia.

Las variables cualitativas serán analizadas mediante el test no-paramétrico Kruskal Wallis, al 5% de significancia.

Los análisis bioquímicos e histológicos no cuentan con el número suficiente de repeticiones para poder llevar a cabo un análisis estadístico, por lo cual este no se realizó.

## 4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1. Pérdida de peso.

Del análisis de la pérdida de peso (% de deshidratación), se determinó con un 5% de significancia, que existe efecto significativo del índice de Madurez, de la Temperatura, de las Fechas de Evaluación y de las interacciones entre índice con Fecha y Temperatura con Fecha.

Al efectuar la comparación de las medias para la interacción del índice de Madurez con la Fecha de Evaluación, Cuadro 2, se determinó que las paltas de ambos índices de Madurez sufren una pérdida de peso por deshidratación en forma proporcional durante el almacenaje refrigerado.

CUADRO 2. Promedios del porcentaje de pérdida de peso para la interacción Índice-Fecha.

ÍNDICE*FECHA	% pérdida	
9-11% ACEITE; 10 DÍAS	1,58	A
9-11% ACEITE; 20 DÍAS	3,43	B
9-11% ACEITE; 30 DÍAS	7,68	D
9-11% ACEITE; 40 DÍAS	11,61	F
14-16% ACEITE; 10 DÍAS	1,65	A
14-16% ACEITE; 20 DÍAS	4,64	C
14-16% ACEITE; 30 DÍAS	9,48	E
14-16% ACEITE; 40 DÍAS	10,68	F

Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza según el test de Tuckey ( $p=0,05$ )

Se observa por otro lado que el tiempo de almacenaje influyó marcadamente sobre la deshidratación promedio de los frutos de palta. A medida que el período de almacenaje se extiende, la deshidratación aumenta superando a los 40 días en ambos índices de

Madurez, el valor límite de 10% de pérdida por sobre el cual los autores LUZ A, BERGER y LIZANA (1979) consideran que se afectaría seriamente la apariencia del fruto.

CUADRO 3. Promedios del porcentaje de pérdida de peso para la interacción Temperatura-Fecha.

TEMPERATURA*FECHA	% pérdida	
3°C.; 10 DÍAS	1,94	A B
3°C.; 20 DÍAS	5,35	C
3°C.; 30 DÍAS	12,00	E
3°C.; 40 DÍAS	15,38	F
7°C.; 10 DÍAS	1,30	A
7°C.; 20 DÍAS	2,73	B
7°C.; 30 DÍAS	5,16	C
7°C.; 40 DÍAS	6,91	D

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza según el test de Tuckey ( $p= 0.05$ ).

El Cuadro 3 permite corroborar que la deshidratación aumenta a medida que avanza el tiempo de almacenaje, alcanzando los mayores valores a los 40 días, en ambas temperaturas. También concluye que las paltas que permanecen a 3°C presentaron una mayor pérdida de peso a medida que transcurre el tiempo de almacenaje. Esto último debido a la condición de almacenaje de la fruta en un refrigerador lo que incidió en la mayor pérdida de peso, seguramente por el menor control que en él pudo ejercerse.

El almacenaje refrigerado a 7°C por 40 días presentó una media de 6,91, valor bastante menor al 10% señalado como umbral; en cambio, en la conservación a 3°C, ya a los 30 días de almacenaje se supera el valor de 10% de pérdida.

#### 4.2. Resistencia de la pulpa a la fuerza.

La firmeza de la pulpa, medida numéricamente como resistencia de la pulpa a la fuerza, resulta ser un buen índice para analizar el comportamiento del fruto durante su postcosecha, con respecto a la evolución de la madurez.

Del análisis de la resistencia de la pulpa a la presión, se determinó con un error del 5%, que existe un efecto significativo del índice de Madurez, de las Temperaturas, de las Fechas de Evaluación y de las interacciones entre los tres factores. Como la interacción, triple, en este caso, predomina por sobre cada uno de los factores, se compararon las medias para la interacción Índice-Temperatura-Fechas de Evaluación.

Es posible observar en el Cuadro 4 que las paltas del índice de Madurez I, almacenadas a 7°C y evaluadas a los 40 días, presentaron los menores valores de presión, al igual que las paltas del índice de Madurez II, almacenadas 7°C y evaluadas a los 30 y 40 días.

Hasta los 20 días de almacenaje refrigerado, la resistencia de la pulpa superó el límite de detección del presionómetro (27 Ib), independientemente del índice de madurez y de la temperatura de almacenaje. Es decir, esta fecha se comportó como una barrera, antes de la cual las paltas no acusaron signos de evolución de la madurez con respecto a la resistencia a la fuerza. Ya a los 30 días, el ablandamiento fue medible, y ocurrió con mayor magnitud en paltas a 7°C del índice de Madurez II, pero en la cuarta Fecha de Evaluación no hubo diferencias significativas entre los dos índices de madurez a la misma temperatura, al 5% de significancia.

CUADRO 4. Promedios de resistencia de la pulpa a la presión para la interacción Índice de Madurez, Temperatura y Fecha de Evaluación.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	
9-11% ACEITE; 3°C.; 10 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 3°C.; 20 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 3°C.; 30 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 3°C.; 40 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 7°C.; 10 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 7°C.; 20 DÍAS	27,00	D
9-11% ACEITE; 7°C.; 30 DÍAS	13,10	C
9-11% ACEITE; 7°C.; 40 DÍAS	2,92	A
14-16% ACEITE; 3°C.; 10 DÍAS	27,00	D
14-16% ACEITE; 3°C.; 20 DÍAS	27,00	D
14-16% ACEITE; 3°C.; 30 DÍAS	7,70	B
14-16% ACEITE; 3°C.; 40 DÍAS	27,00	D
14-16% ACEITE; 7°C.; 10 DÍAS	27,00	D
14-16% ACEITE; 7°C.; 20 DÍAS	27,00	D
14-16% ACEITE; 7°C.; 30 DÍAS	3,50	A B
14-16% ACEITE; 7°C.; 40 DÍAS	4,90	A B

Promedios con letra iguales no presentan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza según el test de Tuckey ( $p=0.05$ )

Con respecto a lo anterior, los resultados obtenidos señalan que los frutos del índice II ablandaron más rápidamente que aquéllos del primer índice y ello puede explicarse en que al retrasarse la cosecha de la palta, se acorta el período preclimactérico (BIALE, 1942; ZAUBERMAN y SCHIFFMAN-NADEL, 1972) ablandándose, posteriormente, con mayor rapidez, durante el almacenaje refrigerado (CARRILLO, 1991; CUTTING y WOLSTENHOLME, 1992; BARRIENTOS, 1993).

En general, las paltas almacenadas a 3°C, independiente del índice de madurez, no registraron valores de resistencia de la pulpa que fueran medibles por el presionómetro, salvo el caso de 14-16% aceite, 3°C y 30 días, cuya capacidad para ablandar pudo deberse a las condiciones menos controladas que se dieron en el refrigerador utilizado como a condiciones internas de la fruta. Pero el hecho de que la fruta a 3°C no haya disminuido sus valores de presión es concordante con lo observado por EAKS (1976),

ZAUBERMAN et al (1977) y BERGER y GALLETI (1987), quienes observaron que al almacenar paltas a temperaturas menores a 5°C, perdieron la capacidad de evolucionar su madurez.

#### 4.3. Relación color b/a.

Del análisis a la relación color b/a, se determinó con un error del 5%, que solamente existen diferencias significativas entre los índices de madurez. Al efectuar la comparación de las medias, Cuadro 5, se determinó que las paltas cosechadas con 9-11% de aceite tienen un menor promedio de en la relación color b/a que las paltas cosechadas con 14-16% de aceite.

CUADRO 5. Promedios de la relación color b/a para el Índice de Madurez.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	
9-11% ACEITE	-1,24	A
14-16% ACEITE	2,50	B

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza, según el test de Tuckey ( $p=0.05$ )

Las diferencias de color entre ambos índices de madurez son claramente explicables, pues las paltas del índice I fueron cosechadas color verde intenso, y las del índice II se recolectaron cuando el verde típico comenzaba a ser enmascarado u oscurecido por el verde violáceo, que es característico de la variedad Hass cuando ha evolucionado su madurez.

#### 4.4. Daños fisiológicos.

La fruta con Estado de Madurez I no manifestó daño fisiológico durante el almacenaje refrigerado.

En el Estado de Madurez II, la incidencia de desórdenes fisiológicos fue, en general, bastante baja, apareciendo sólo pardeamiento de pulpa y oscurecimiento de haces vasculares a los 20 días de almacenaje a 3°C (Figura 1). En el resto de los tratamientos en tanto, no se registraron desórdenes de ningún tipo presentando la fruta una apariencia sana. (Figuras 2 y 3).

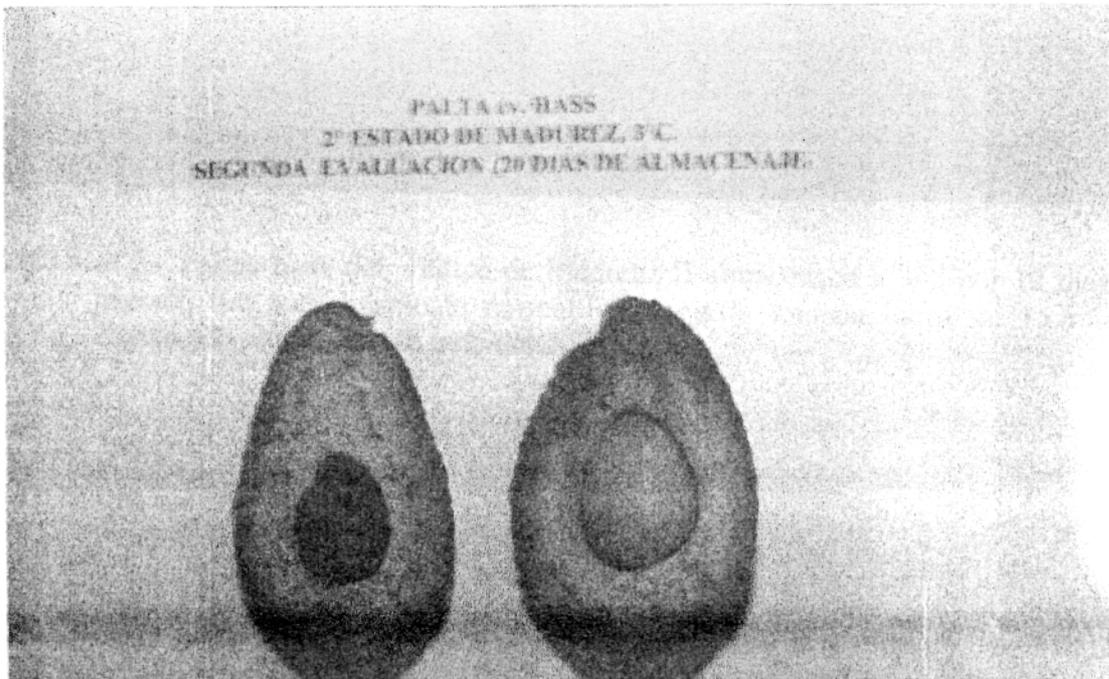


FIGURA 1. Paltas Hass del Índice de Madurez II, almacenada a 3°C por 20 días. El fruto de la izquierda presentó Oscurecimiento Vascular, mientras que el de la derecha desarrolló Pardeamiento de pulpa. Fotografía tomada luego de 15 min. de exposición a temperatura ambiental.

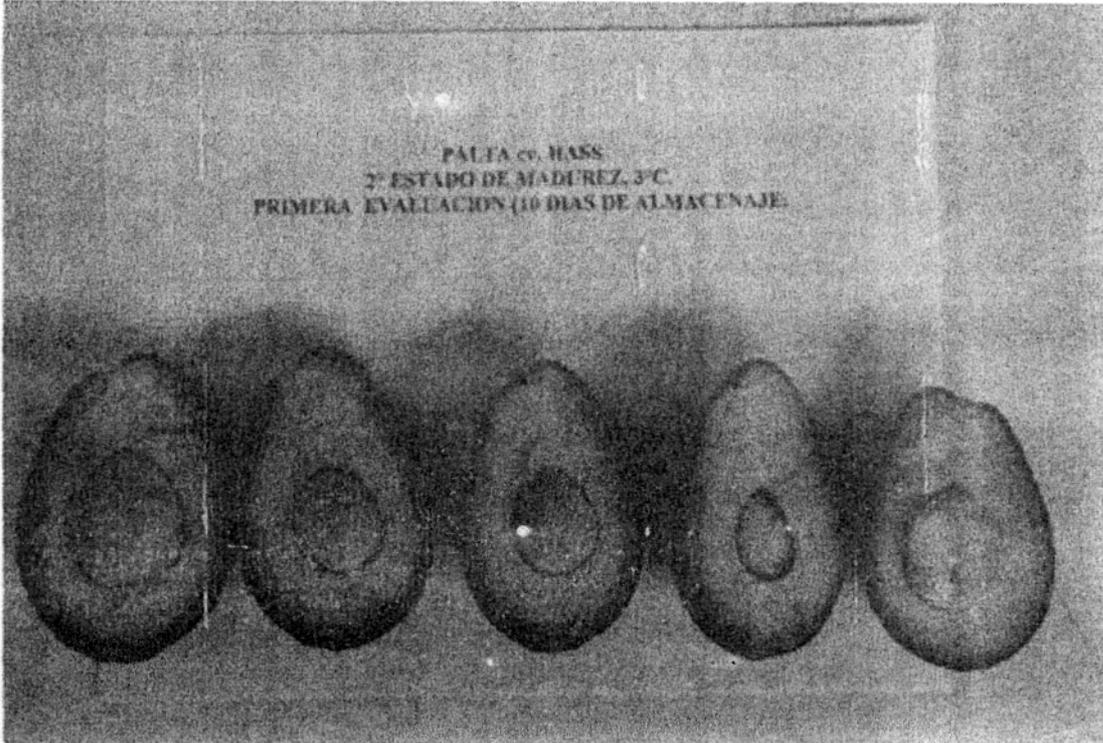


FIGURA 2. Paltas Hass del Índice de Madurez II almacenada a 3°C por 10 días. Su aspecto fue completamente normal. Fotografía tomada luego de 15 min. de exposición a temperatura ambiental.

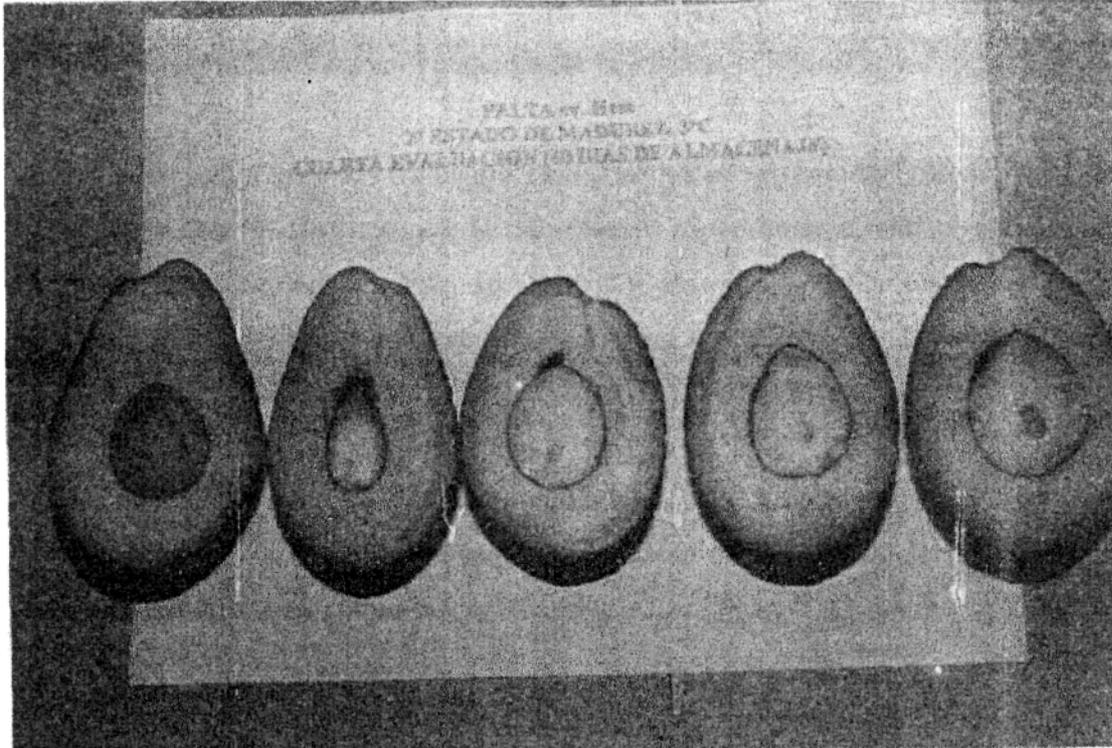


FIGURA 3. Paltas Hass del Índice de Madurez II, almacenadas a 3°C por 40 días. Como se observa, no desarrollaron desórdenes y su aspecto fue completamente normal. Fotografía tomada luego de 15 min. de exposición a temperatura ambiental.

El Pardeamiento de pulpa, fue visible inmediatamente cortada la fruta, pero luego se intensificó al ser expuesta por 10 minutos a temperatura ambiente. Este daño, se manifestó como un cambio de tonalidad en la parte superior y media del fruto, produciéndose una coloración parda grisácea a parda, con mayor intensidad hacia la zona de inserción del pedúnculo (Figura 1), lo que es contrario a otros resultados (AGUIRRE, 1994; FRÍAS, 1995), quienes observaron que el pardeamiento comenzaba en la zona distal adyacente a la semilla. Al relacionar este aspecto con el análisis histológico realizado de este desorden (Figura 7), se puede apreciar el daño a nivel celular, causado por la Polifenoloxidasas que oxidó los sustratos fenólicos luego de la ruptura celular, dando de esa forma la coloración a la pulpa.

El Oscurecimiento Vascular en tanto, se manifestó a través de puntuaciones pardo oscuro a lo largo de los haces, concentrándose más en la parte distal del fruto donde, evidentemente, hay mayor concentración de fibras. (Figura 1)

En otros sectores de los frutos afectados, los haces variaron su color de verde amarillento a pardo oscuro, sin presentar la puntuación. Seguramente, ello se debió a que en esos casos la intensidad del daño fue mayor y permitió apreciar los haces completamente pardeados. Al relacionar esta manifestación con el análisis histológico, se aprecia la lignificación de los haces vasculares (Figura 8) lo que daría esta característica.

En el Cuadro 6, se aprecia que el porcentaje de Pardeamiento de pulpa y Oscurecimiento vascular es mayor en las paltas cosechadas con un 14-16% de aceite, almacenadas a 3°C y evaluadas a los 20 días.

El hecho de que los daños fisiológicos hayan aparecido en el índice de Madurez II concuerda con lo señalado por CUTTING et al (1992) pues al retrasarse la época de cosecha la concentración de calcio en las paltas disminuye, lo que sumado a la disminución en el contenido de humedad (Cuadro 2 y 3), tendría un efecto en la inestabilidad de las membranas y explicaría por qué la fruta sería más sensible a los desórdenes fisiológicos en cosechas más tardías. En tanto, los mismos autores mencionan que la concentración de fenoles (sustratos de la PFO) se incrementó en la medida que los frutos permanecen más tiempo en los árboles.

CUADRO 6. Porcentaje de daños fisiológicos.

TRATAMIENTOS	Pardeamiento pulpa		Oscurecimiento Vascular	
9-11% ACEITE; 3°C.; 10 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 3°C.; 20 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 3°C.; 30 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 3°C.; 40 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 7°C.; 10 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 7°C.; 20 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 7°C.; 30 DÍAS	0,0	a	0,0	a
9-11% ACEITE; 7°C.; 40 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 3°C.; 10 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 3°C.; 20 DÍAS	40,0	b	60,0	b
14-16% ACEITE; 3°C.; 30 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 3°C.; 40 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 7°C.; 10 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 7°C.; 20 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 7°C.; 30 DÍAS	0,0	a	0,0	a
14-16% ACEITE; 7°C.; 40 DÍAS	0,0	a	0,0	a

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas de acuerdo al análisis de varianza, según el test de Kruskal Wallis ( $\alpha^2: 0.95$ )

Según KOSIYACHINDA y YOUNG (1976), el daño por frío resulta de la fase de cambio que experimentan los lípidos de la membrana a una temperatura bajo la cual se induce un daño tal que, la permeabilidad se ve drásticamente cambiada. Los síntomas de daño son, al parecer, el resultado de la falla en el transporte normal de la membrana.

Lo anterior es explicado a nivel celular por WANG (1982) y PLATT-ALOIA y THOMSON (1992) quienes señalan que al almacenar paltas a baja temperatura se genera una redistribución de los lípidos en las membranas plasmáticas produciendo sectores fluidos y gelificados lo que genera un cambio en la organización del plasmalema el cual pierde su selectividad, induce la muerte celular y se origina la sintomatología primaria del daño por frío. Estas alteraciones en membranas se deberían a que, por efecto de las bajas temperaturas, los ácidos grasos saturados tienden a solidificarse (LYONS, 1973); aunque podría actuar en forma coludida la enzima lipoxigenasa, la cual aumenta ostensiblemente

su actividad a bajas temperaturas y cuya acción excedida facilitaría la destrucción de las membranas (NEL et al., 1984). Esto podría explicar lo ocurrido en este ensayo, pues los daños aparecieron en almacenaje a 3°C, temperatura suficientemente baja para haber inducido tal proceso.

#### 4.5. Daños patológicos.

En el presente ensayo no se detectaron daños patológicos, por lo cual no se realizó mayor análisis, no pudiendo concluir sobre esta variable.

#### 4.6. Análisis histológico.

Los daños por exposición al frío en postcosecha son variados y difieren según sea el fruto almacenado. Pero con respecto a la palta, los daños se expresaron a través de una progresiva lignificación de paredes celulares de las células parenquimáticas del fruto, especialmente en aquéllos almacenados a 3°C con 14-16% de aceite. Junto con ello, se apreció una disgregación celular que aumentó conforme avanzaba el período de almacenaje (Figura 4). En cambio, los frutos del índice de Madurez 1 (9-11% aceite) no mostraron una lignificación evidente, lo que se relaciona con la no manifestación de daño visual en esa fruta durante el almacenaje, siendo la disgregación celular progresiva en el tiempo el hecho más significativo que se observó en el análisis histológico. (Figuras 13 a 18)

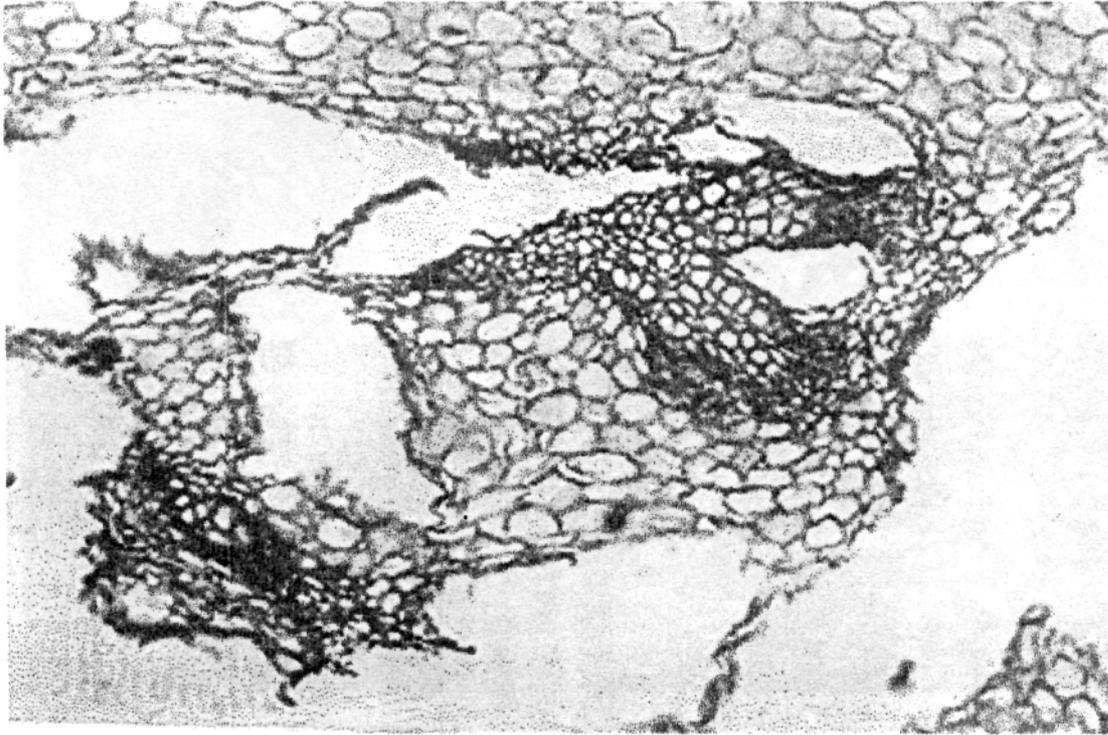


FIGURA 4. Corte longitudinal de palta Hass, Índice de Madurez II, almacenada a 3°C por 30 días. Se observa las células totalmente lignificadas (coloración rojiza) y disgregadas, con pérdida de forma y tamaño irregular. El contenido celular se ha perdido seguramente a través del proceso de fijación y tinción de la muestra. Fotografía en microscopio óptico de luz con aumento de 40x.

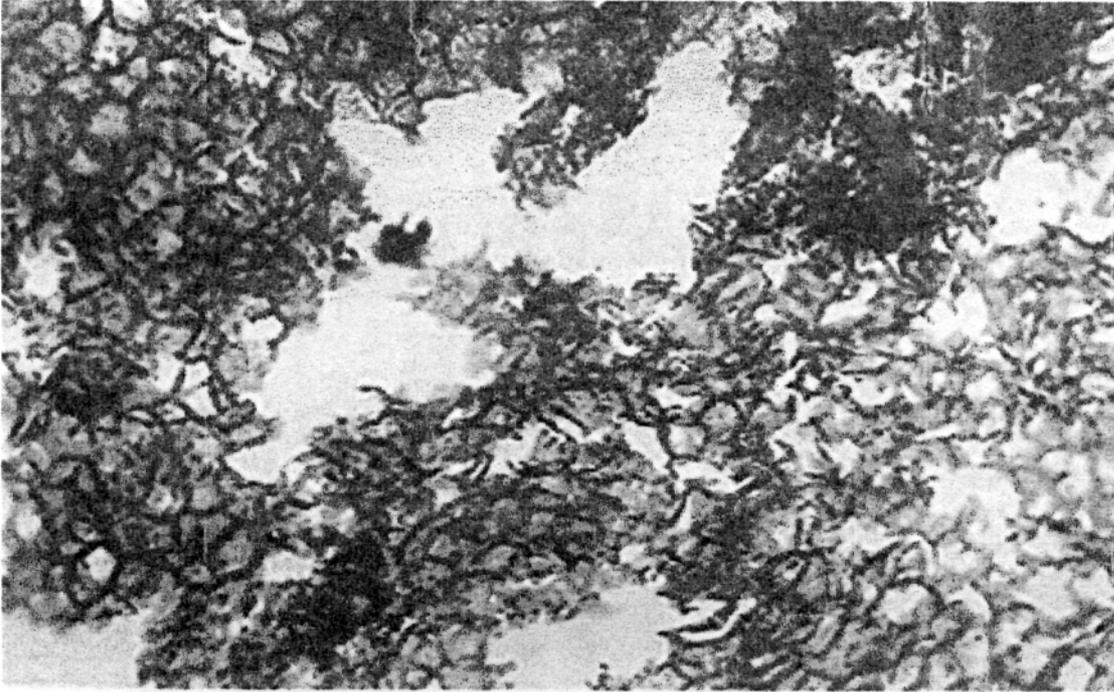


FIGURA 5. Aspecto de células muy dañadas del parénquima. El grado de lignificación es máximo al igual que la desorganización y ruptura celular. También es posible observar el engrosamiento de la pared celular. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 3°C por 40 días. Fotografía en microscopio óptico de luz con aumento de 20x

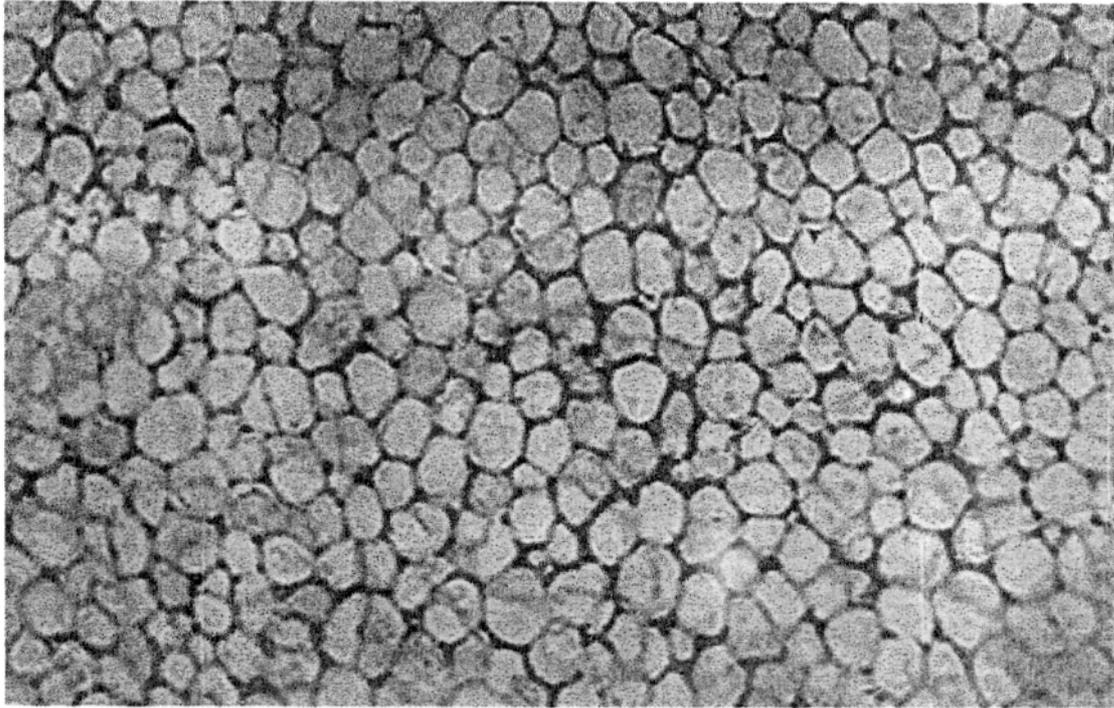


FIGURA 6. Vista general de un corte longitudinal de células del mesocarpo. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 3°C por 20 días. Es posible apreciar la progresiva lignificación que comienza por las aristas de las células. No es posible apreciar contenido celular. Fotografía tomada en microscopio óptico de luz con aumento de 4x.



FIGURA 7. Aspecto de células del mesocarpo. La pérdida de forma es irreversible y es posible observar el fuerte engrosamiento de las paredes. Aquellas manchas color café se deben posiblemente a la oxidación de compuestos fenólicos que se encuentran en la célula por acción de la PFO. Ello debido a que la ruptura celular liberó la enzima y el sustrato para que ocurriera la reacción de coloración. Palta Hass, Índice de Madurez II almacenada a 3°C por 20 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 40x.

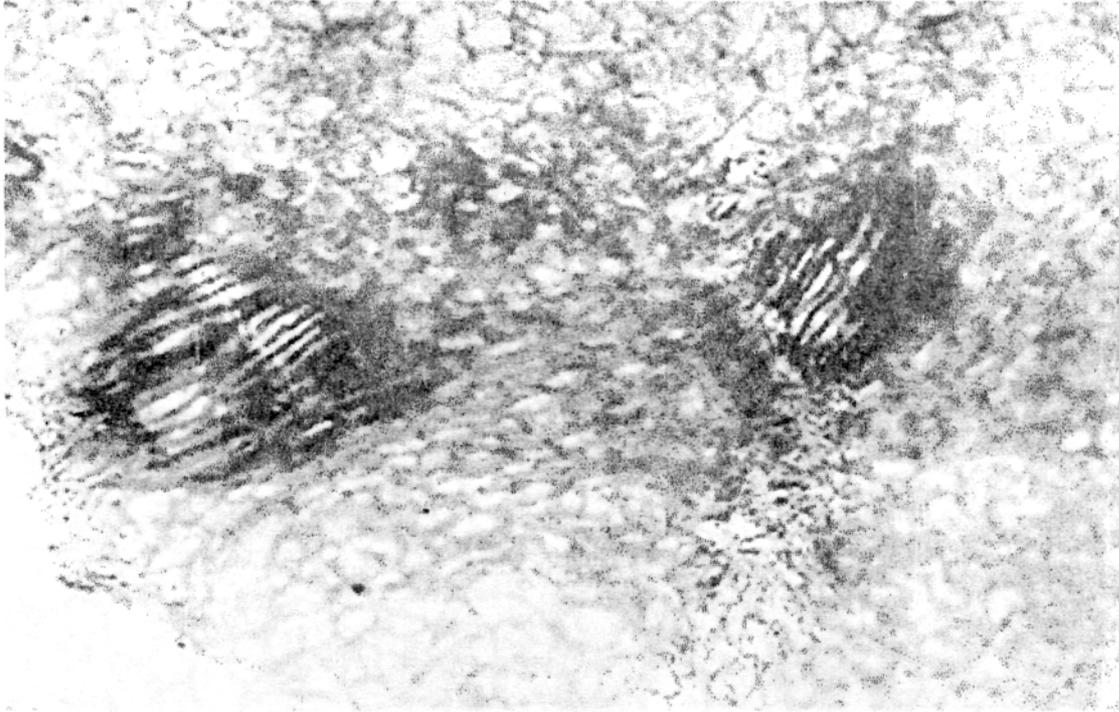


FIGURA 8. Corte longitudinal en el cual se aprecian vasos xilemáticos altamente lignificados. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenada a 3°C por 30 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

Los tejidos de alta lignificación generalmente se ubican en lugares en que el vegetal realiza una fuerte acción mecánica, cumpliendo una función de resistencia y protección a la vez, pero ello ocurre en forma natural; luego, la acentuada lignificación observada en el parénquima y en los haces vasculares es la resultante de la acción de un factor exógeno (temperatura fundamentalmente) que estaría interactuando con el índice de Madurez que presentaban los frutos una vez almacenados, y no estaría cumpliendo una función de resistencia o protección.

En general, los tratamientos sometidos a 3°C presentaron, a través del tiempo, crecientes grados de lignificación y disgregación celular, pero esto no excluye que otras zonas de la palta presentasen una morfología normal.

En aquellos tratamientos que se almacenó a 7°C, la calidad de los tejidos resultó ser bastante mejor. Las células presentaron un aspecto normal, el grado de lignificación de la pared celular fue considerablemente menor (aun a los 40 días de almacenaje), se observó presencia de contenido celular y en general las células parenquimáticas se apreciaron normales.

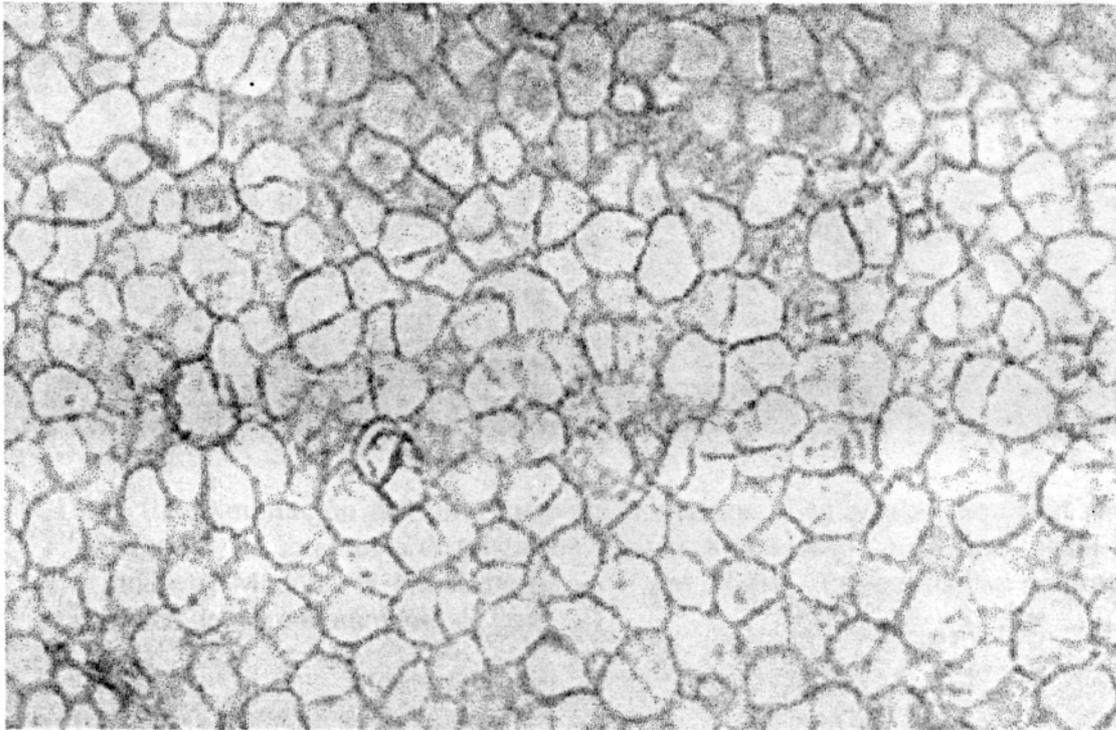


FIGURA 9. Corte longitudinal mostrando un aspecto normal. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenada a 7°C por 20 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

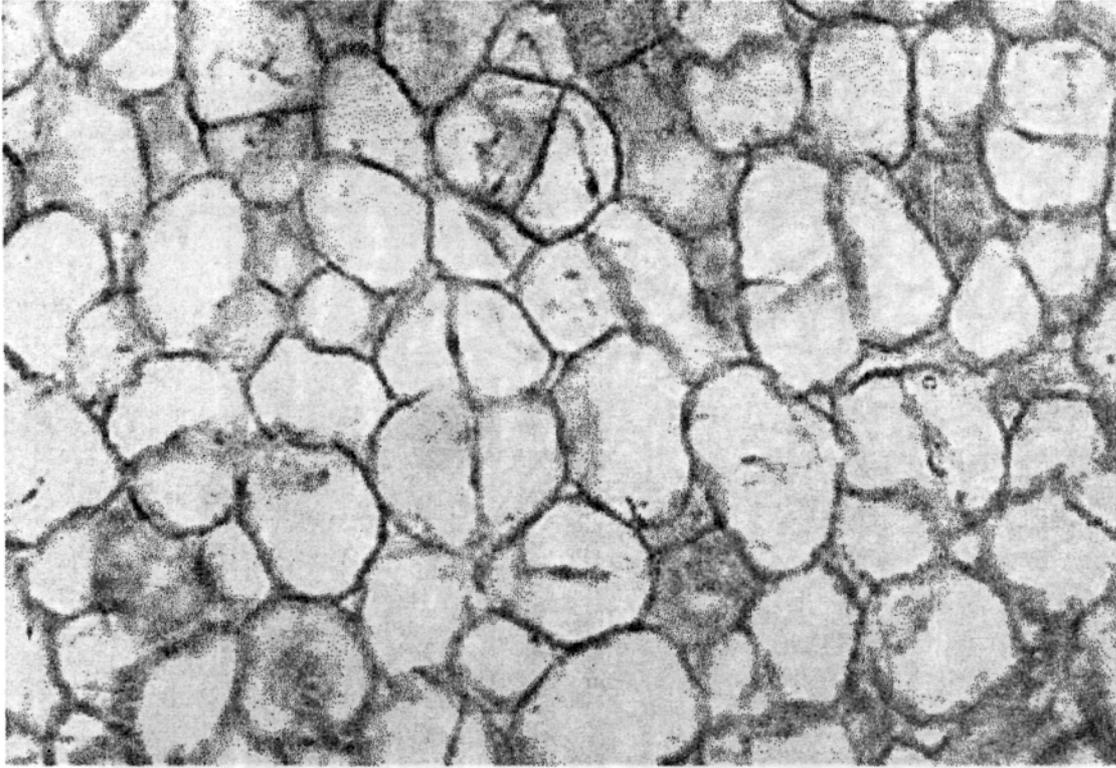


FIGURA 10. Ampliación del corte histológico anterior. Las células presentan paredes delgadas, no se aprecia disgregación y muchas presentan citoplasma. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 7°C por 20 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 20x.

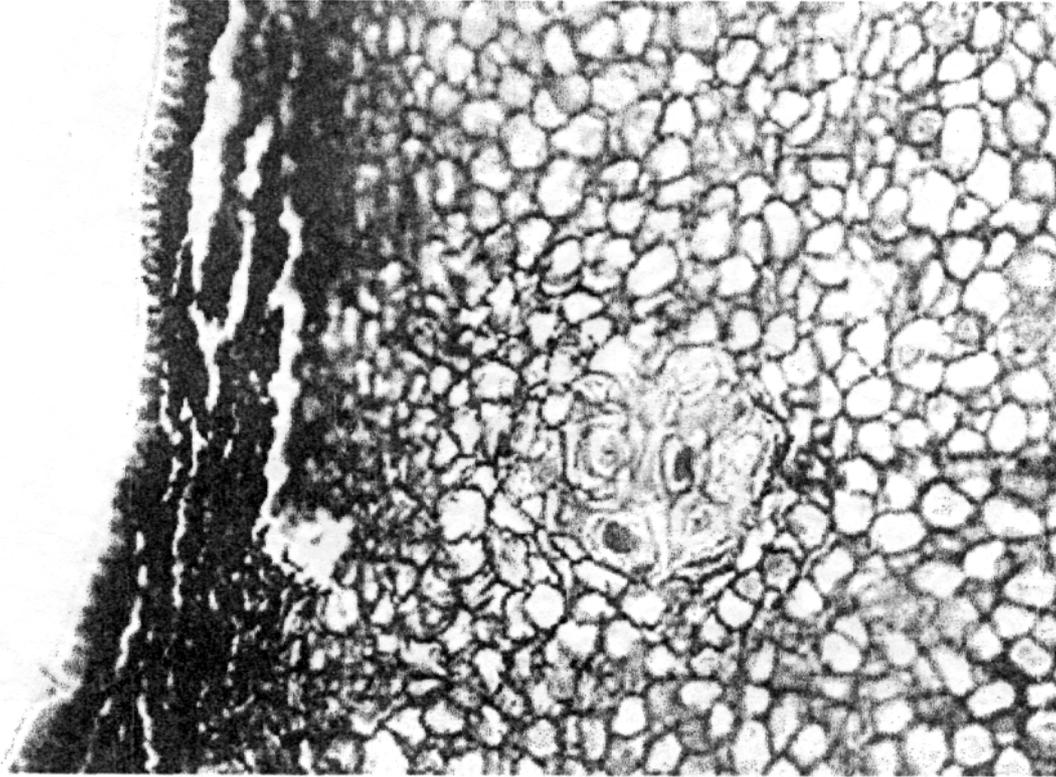


FIGURA 11. Corte histológico mostrando el pericarpio del fruto con algunas zonas de ruptura. Hacia el interior, las células acusan un leve grado de lignificación y engrosamiento de paredes, muchas con contenido celular. En el centro, puede observarse un grupo de braquiesclereidas. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 7°C por 30 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.



FIGURA 12. Aspecto de células del mesocarpio, poco lignificadas y con paredes celulares medianamente engrosadas. Muchas células aún presentan contenido citoplasmático y, en general, el grado de organización es alto. Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 7°C por 40 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

Con respecto al índice de Madurez 1 (9-11% de aceite), los resultados mostraron una relación directamente proporcional entre el aumento del período de almacenaje y la disgregación celular, pero el aspecto más destacable fue el escaso o nulo grado de lignificación y pardeamiento celular, aun a los 40 días de almacenaje. Es decir, aquellos frutos resultaron ser bastante más tolerantes al almacenamiento a bajas temperaturas.

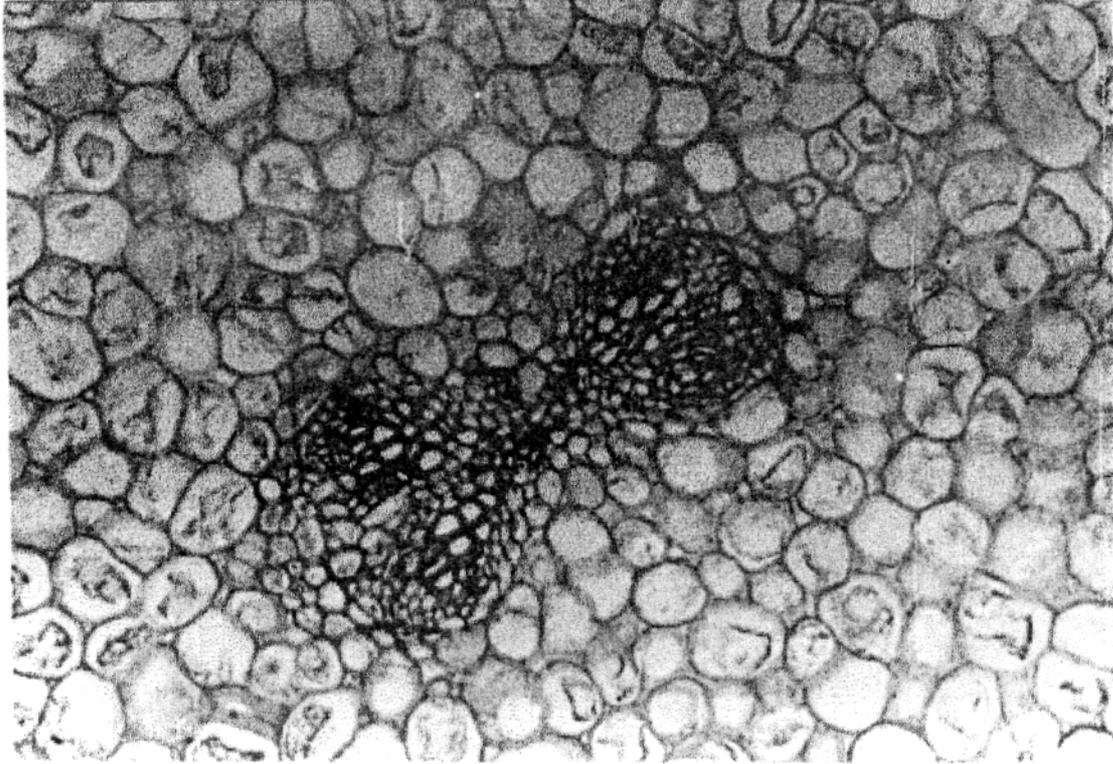


FIGURA 13. Corte longitudinal de palta Hass, Índice de Madurez I, almacenada a 3°C por 20 días. El aspecto es completamente normal, en lo que respecta a forma y tamaño del tejido parenquimático y del conjunto de haces vasculares. Estos últimos muestran un grado de lignificación normal. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

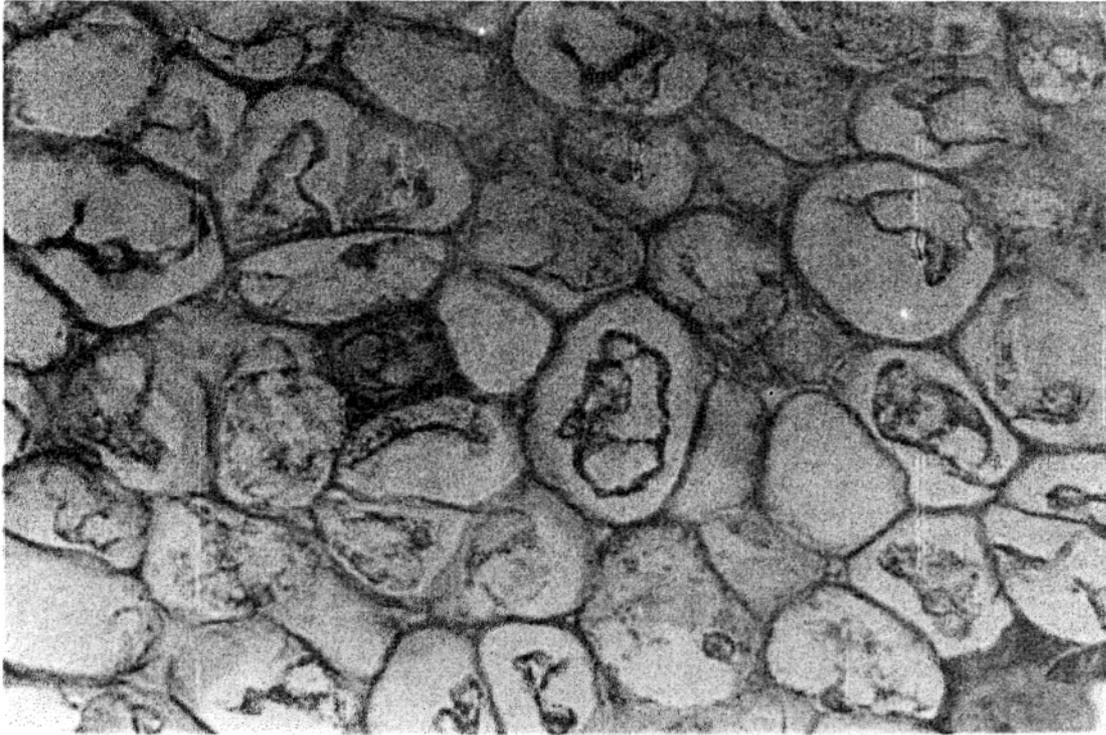


FIGURA 14. Detalle del corte histológico anterior. Se puede observar presencia de contenido celular y la uniformidad de tamaño y forma. Palta Hass, Índice de Madurez I, almacenada a 3°C por 20 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 20x.

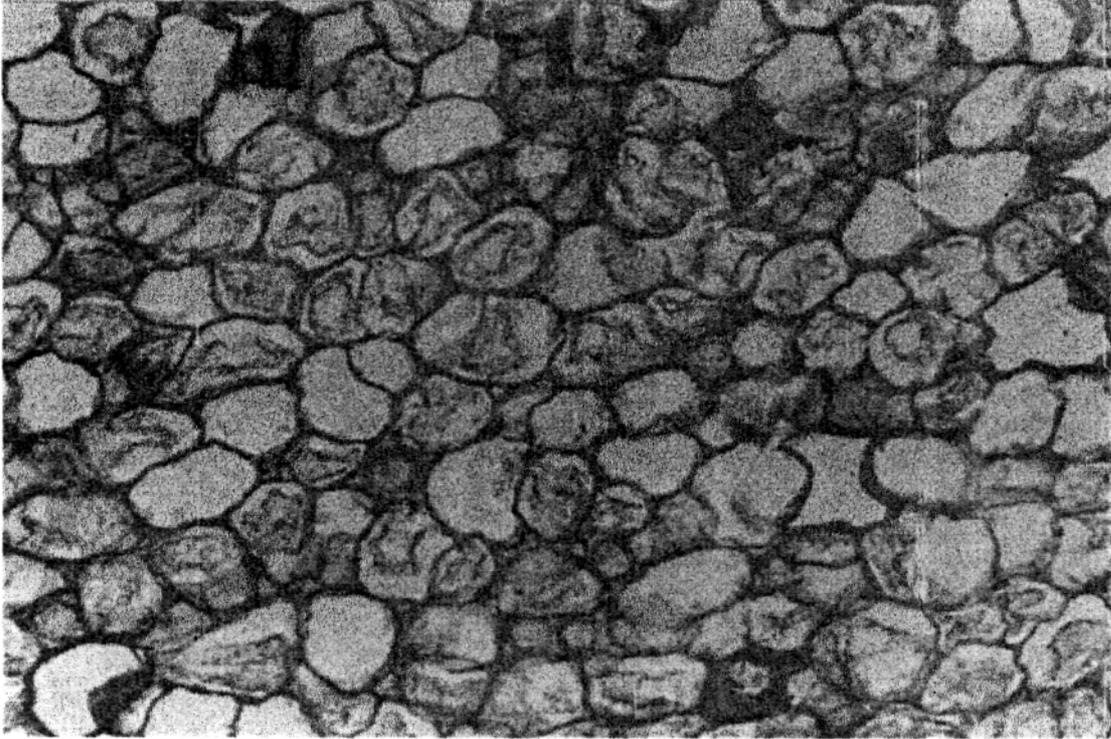


FIGURA 15. Corte longitudinal que evidencia la pérdida de forma y tamaño de las células parenquimáticas, no existiendo lignificación de las paredes celulares. Palta Hass, Índice de Madurez I, almacenadas a 7°C por 30 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

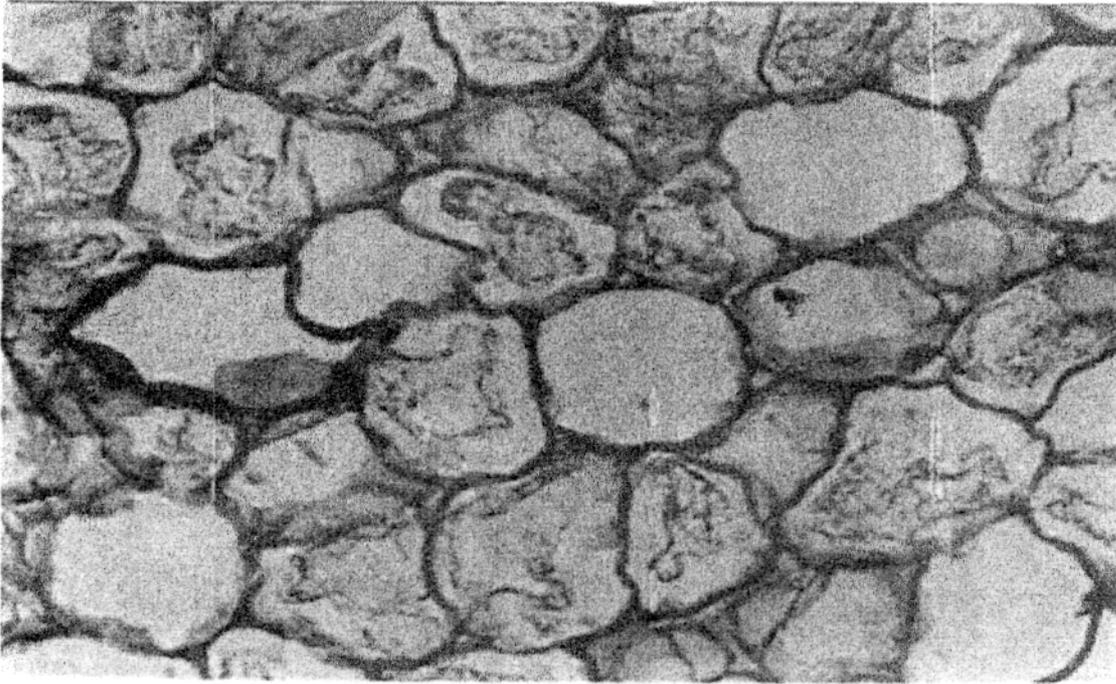


FIGURA 16. Ampliación del corte anterior. Se observa claramente la irregularidad de la forma de las células y el tamaño. Aún es posible distinguir contenido celular. Palta Hass, Índice de Madurez I, almacenadas a 7°C por 30 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 20x.



FIGURA 17. En este corte longitudinal, se hace muy evidente el fuerte grado de desorganización y pérdida de forma. Se puede apreciar la lignificación bastante leve de algunas paredes celulares y la pérdida del contenido citoplasmático. Palta Hass, Índice de Madurez I, almacenadas a 7°C por 40 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 10x.

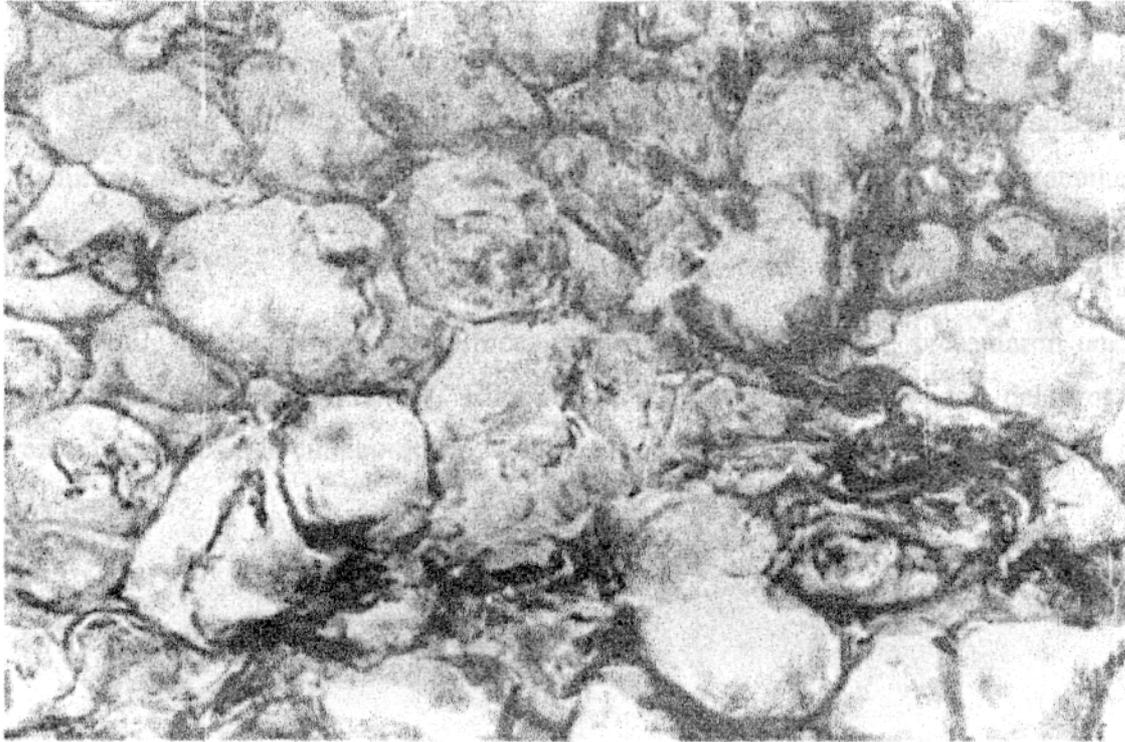


FIGURA 18. Detalle del corte anterior. Palta Hass, Índice de Madurez I, almacenadas a 7°C por 40 días. Fotografía con microscopio óptico de luz con aumento de 20x.

#### 4.7. Análisis bioquímico.

El análisis bioquímico se realizó sobre tejidos, sano y con daños fisiológicos, en paltas de dos estados de madurez almacenadas en refrigeración. Las paltas, cosechadas con Madurez I no presentaron daños fisiológicos en la pulpa, en ninguno de los tratamientos analizados.

En general, las mediciones bioquímicas de las enzimas evaluadas, presentaron una alta variabilidad entre tratamientos. Ello podría deberse a la complejidad del protocolo enzimático empleado en laboratorio, como a las condiciones internas propias de cada fruto analizado.

##### 4.7.1. Actividad de Polifenoloxidasa (PFO).

CUADRO 7. Actividad relativa de Polifenoloxidasa ( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{g}$ ) en tejido sano de paltas del Índice de Madurez I y II, almacenados a 3° y 7°C.

Días de almacenaje	Madurez I		Madurez II	
	3°C	7°C	3°C	7°C
10	-	-	15,40	32,35
20	-	-	16,68	11,40
30	6,60	4,73	25,60	15,00
40	0,79	1,67	21,80	11,76

CUADRO 8. Actividad relativa de PFO ( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{g}$ ) en Pardeamiento de Pulpa y Oscurecimiento Vascular, en paltas del Índice de Madurez II a 3° y 7°C.

Días de almacenaje	Pardeamiento Pulpa		Oscurecimiento Vascular	
	3°C	7°C	3°C	7°C
10	33,55	-	30,77	-
20	-	7,50	-	-
30	-	-	-	-
40	-	12,80	-	19,77

En los Cuadros 7 y 8, se muestra que el tejido con daño fisiológico presentó siempre, en las fechas evaluadas, una mayor actividad de la enzima Polifenol oxidasa que el tejido sano. Se observa, también, que paltas con estado madurez más avanzado presentaron una mayor actividad de esta enzima, en el tejido sano analizado. En relación a la temperatura, se observa que, en general, la actividad de la enzima polifenoloxidasas fue siempre mayor al almacenar la fruta a 3°C, en ambos estados de madurez, lo que se puede explicar por efecto de que la baja temperatura induciría la liberación de la enzima (VAN LELYVELD et al, 1984), junto con la presencia de compuestos fenólicos los que aumentan durante períodos de baja temperatura debido, principalmente, a un incremento en la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) (GRAHAM y PATTERSON 1982; BOWER y CUTTING, 1988), cuya formación estaría siendo inducida por el etileno liberado desde tejidos con daño celular y/o senescentes (SALISBURY y ROSS, 1994).

En el Cuadro 7, se advierte también que en tejido sano, la actividad de la enzima polifenoloxidasas mostró un descenso a los 40 días, el cual fue muy similar en magnitud para ambas temperaturas. Esta disminución concuerda con la caída en la resistencia de la pulpa a la presión ocurrida en la fruta en ambos estados de madurez y con los cortes histológicos correspondientes, pues a medida que la palta ablandó, una mayor proporción de polifenoloxidasas se asocia a la fracción sólida originada en la centrifugación del tejido sólido homogenizado, lo que conduciría a una menor actividad en el sobrenadante (GOLAN et al, 1977; SHARON y KAHN, 1979; BOWER et al, 1989; CUTTING et al, 1990; AGUIRRE, 1994).

Para que se produzca un problema de pardeamiento, se necesita que los sustratos fenólicos que se presentan aislados en la vacuola entren en contacto con la PFO y el oxígeno, para lo cual se necesita algún tipo de daño celular. (VAUGHN y DUKE, 1984). Si a lo expuesto anteriormente se suma que la enzima lipoxigenasa aumenta ostensiblemente su actividad a bajas temperaturas y que su acción excedida facilitaría la destrucción de las membranas celulares, que la presencia de compuestos fenólicos aumenta durante períodos de baja temperatura debido, principalmente, a un incremento de la enzima fenilalanina

amonioliasa (PAL) y que los cortes histológicos reflejaron; por un lado, una fuerte disgregación celular a bajas temperaturas a medida que transcurre el tiempo de almacenaje, lo que facilitaría el contacto PFO-O<sub>2</sub>; y por otro, que paltas cosechadas con Madurez I presentaron siempre menores grados de disgregación y ruptura celular, que aquellas paltas cosechadas con Madurez II, explicaría por qué, paltas menos maduras no presentaran daños fisiológicos importantes durante el almacenaje refrigerado a ambas temperaturas, en relación a aquéllas cosechadas con madurez más avanzada.

#### 4.7.2. Actividad de Peroxidasa.

CUADRO 9. Actividad relativa de Peroxidasa en tejido sano.

Días de almacenaje	Madurez I		Madurez II	
	3°C	7°C	3°C	7°C
10	-	-	24,90	10,20
20	-	-	68,42	135,49
30	49,26	139,39	23,74	155,27
40	98,58	124,15	36,13	47,17

CUADRO 10. Actividad relativa de Peroxidasa ( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{g}$ ) en Pardeamiento de Pulpa y Oscurecimiento Vascular. En paltas con Estado de Madurez II y Almacenadas a 3° y 7 ° C.

Días de almacenaje	3°C		7°C	
	Pardeamiento de Pulpa	Oscurecimiento Vascular	Pardeamiento de Pulpa	Oscurecimiento Vascular
10	15,64	19,34	-	-
20	-	-	52,66	-
30	-	-	-	-
40	-	-	47,82	59,09

En los Cuadros 9 y 10, se muestra que la actividad de la enzima peroxidasa, hasta los 20 días de almacenaje refrigerado, presentó una mayor actividad en el tejido sano en

relación al tejido con daño fisiológico; posteriormente, y en relación a los análisis histológicos realizados, la desorganización celular se acrecienta y la actividad enzimática no es diferenciable. A su vez, la fruta almacenada a temperaturas de 7 °C mostró, en general, una mayor actividad de esta enzima, que las almacenadas a 3°C.

Lo anterior explica que la participación de esta enzima no estaría directamente relacionada con la aparición de los desórdenes fisiológicos manifestados, sino que su acción tiene relación directamente con su actividad fisiológica oxidativa en el fruto. Estos resultados se aproximan a los obtenidos por ZAUBERMAN, FUCHS y ACKERMAN (1985), quienes no registraron significativos incrementos de actividad de la peroxidasa en el cv. Fuerte con síntomas de daño por frío, luego de un almacenaje a 1+- 1°C.

## 5. CONCLUSIONES

De los resultados reportados en el presente estudio, se puede concluir que:

1.- Fruta con niveles de madurez de 9-11% y 14-16% de aceite, almacenada a 3° y 7°C presentan un aumento en el porcentaje de pérdida de peso, disminución de la resistencia de la pulpa a la presión y cambio de color durante el almacenaje hasta por 40 días.

2. Frutos de palta con índice de Madurez de 9-11% de aceite, presentan una mejor estructura y organización celular que paltas cosechadas con índice de Madurez de 14-16% de aceite.

3.- Fruta almacenada a 3° y 7°C presenta, durante el almacenaje refrigerado, una creciente desorganización celular y una disminución del grosor de la pared celular.

4.- Fruta cosechada con índice de Madurez 9-11% de aceite no presenta lignificación de paredes celulares durante el almacenaje refrigerado, a diferencia de fruta cosechada con índice de Madurez 14-16 % de aceite que genera una progresiva lignificación.

5.- Tejido de paltas con daño fisiológico presenta una mayor actividad de la enzima polifenoloxidasa que tejido sano.

6.- Palta cv. Hass almacenada a 3°C, presenta una mayor actividad de la enzima polifenoloxidasa que fruta almacenada a 7°C.

7.- La actividad de la enzima peroxidasa es mayor en tejido sano que en tejido con desórdenes fisiológicos mientras no se presenta desorganización celular.

## 6. RESUMEN.

Para Chile, los problemas de calidad y conservación de platas por largo período de almacenaje son de gran importancia en la competencia con países que se encuentran más cercanos a mercados internacionales, como es el caso de México.

La palta es climactérica y puede ablandar rápidamente luego de cosecharse, por lo cual se utiliza el almacenaje refrigerado para reducir su deterioro; sin embargo, el desarrollo de desórdenes fisiológicos, daño por frío y pardeamiento de pulpa, principalmente, pueden afectar fuertemente la calidad de la fruta limitando su conservación por períodos más prolongados. El desarrollo de estos desórdenes se asocia a la actividad de la enzima Polifenoloxidasa y a la temperatura de almacenaje entre otros, aunque también se vincula indirectamente la enzima Peroxidasa.

Paltas cv.Hass en estados de madurez de 9-11% y 14-16% de aceite, se almacenaron a 3 y 7°C en cámaras de refrigeración realizándose cuatro evaluaciones cada 10 días. Se evaluaron las variables porcentaje de deshidratación, resistencia de la pulpa a la presión, color de epidermis, desórdenes fisiológicos y daños patológicos. Paralelamente se midió la actividad de las enzimas Polifenoloxidasa y Peroxidasa y se recolectaron muestras de pulpa para realizar análisis histológicos de ellos.

En relación a las variables físico-químicas, se observó en ambos índices de Madurez y Temperaturas de almacenaje, un aumento en el porcentaje de deshidratación, una disminución de la resistencia de la pulpa a la presión y cambio de color en el tiempo.

Los análisis enzimáticos mostraron, con respecto a la Polifenoloxidasa, que aquellos tejidos con daño fisiológico presentaron mayor actividad que tejido sano; mientras que fruta almacenada a 3°C evidenció mayor actividad que aquella almacenada a 7°C. Con respecto a la enzima Peroxidasa, se observó que su actividad fue mayor en tejido sano que en aquel que presentó daño.

De los análisis histológicos realizados, se pudo determinar que la estructura y organización celular resultó mejor en fruta con 9-11% de aceite que en aquella con 14-16% de aceite, aunque en ambas Temperaturas de almacenaje se observó una creciente desorganización celular y una disminución del grosor de la pared celular; asimismo, la lignificación de paredes celulares se presentó, progresivamente, en paltas del índice de Madurez II lo cual no ocurrió en aquellas del índice de Madurez I, las cuales no desarrollaron mayor lignificación.

## 7. LITERATURA CITADA

- AGUIRRE, M. 1994. Efectos del anhídrido carbónico y atmósfera controlada en la calidad de postcosecha de frutos de *Persea americana* Mill. cv. Fuerte. Trabajo de tesis de Magister en Ciencias Agropecuarias, mención Producción Frutícola. Santiago, Chile, Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencia Agrarias y Forestales. 103 p.
- AGUIRRE, M; LIZANA, L y BERGER, H. 1995. Desórdenes fisiológicos en paltas. In: IV Simposio Internacional de Manejo, Calidad y Fisiología de postcosecha de Frutos. Facultad de Agronomía, Universidad de Chile. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 42. pp 77-83. '
- AHARONI, Y. 1984. Improved shelf life of avocado fruits. S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb. 7:31-33.
- ALVAREZ, F. 1974. El cultivo del aguacate. Editorial Santa Cruz de Tenerife, España. 225p.
- BANGERTH, F. 1979. Calcium-related physiological disorders of plants. Ann. Rev. Phytopathol. 17:97-122
- BARRIENTOS, V. del C. 1993. Efecto de distintas concentraciones de gases (CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>) en la conservación de palta cv. Fuerte. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 74 p.
- BERGER, H y GALLETI, J. 1987. Maduración de paltas y su conservación en almacenaje refrigerado. Rev. Aconex 16: 5-7.
- \_\_\_\_\_; AUDA, C. y GONZÁLEZ, E. 1982. Almacenamiento de paltas (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte y Hass en atmósfera controlada, modificada y refrigeración común. Simiente 52:5560.
- BERGH, B. 1992. The origin, nature and genetic improvement of the avocado. California avocado Society yearbook. 76: 71-75.
- BERGMEYER, H. U. 1974. Methods of enzymatic analysis. Academic Press: New York.
- BIALE, J.B y YOUNG, R. 1971. The avocado pear in: Hulme, A.C. The biochemistry of fruit and their products. London and New York Acad. Press v(2): pp. 1 -63

- BIALE, S. y YOUNG, R. E. 1962. Bioquímica de la maduración de los frutos. *Endeavour* 21: 164-174.
- BOWER, J.P. and CUTTING, J.G. 1988. Avocado fruit development and ripening physiology. *Hort. Reviews* 10:229-271.
- BOWER, J.P., CUTTING, J.G.M. and TRUTER, A.B. 1989. Modified atmosphere storage and transport of avocados - what does it mean?. *S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb.* 12:17-20.
- CARRILLO, C.H. 1991. Almacenaje de frutos de palto (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte en atmósfera controlada. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 84 p.
- CHAPLIN, G.R. and SCOTT, K.J. 1980. Association of calcium in chilling injury susceptibility of stored avocados. *HortSci.* 15:514-515.
- CLAYPOOL, L. 1975. Aspectos físicos del deterioro.: I Simposio sobre manejo, calidad y fisiología de postcosecha de frutos. Santiago, Universidad de Chile. AFRUCOOP. Publicaciones misceláneas N°3: 29-36.
- CUMMING, K.; SCHROEDER, C.A. 1942. Anatomy of avocado fruit. *California Avocado Society Year Book.* 26: 56-64.
- CUTTING, J.G.M., BOWER, J.P. and WOLSTENHOLME, B.N. 1988. Effect of harvest date and applied ABA on polyphenol oxidase levels in avocados fruit. *J. Hort. Sci.* 63:509-515.
- \_\_\_\_\_, BOWER, J.P., WOLSTENHOLME, B.N. and HOFMAN, P. i. 1990. Changes in ABA, polyphenol oxidase, phenolic compounds and polyamines and their relationship with mesocarp discoloration in ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *J. Hort. Sci.* 65:465-471
- \_\_\_\_\_.WOLSTENHOLME, B.N. and HARDY, J. 1992. Increasing relative maturity alters the base mineral composition and phenolic concentration of avocado fruit. *J.Hort. Sci.* 67(6): 761-768.
- CHANDLER, W. H. 1962. *Frutales de hoja perenne.* UTEHA, México. 666p
- EAKS, I.L. 1976. Ripening, chilling injury and respiratory responses of "Hass" and "Fuerte" avocado fruits at 20°C following chilling. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 10:538-540.

- ECHEVERRÍA, R.A. 1988. Efecto del uso de cera y de una película plástica sobre el comportamiento en almacenaje refrigerado de frutos de palta (*Persea americana* Mill) cv. Fuerte cosechado en dos estados de madurez. Tesis Ing. Agr., Quillota, Chile, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía, 74 p.
- EKSTEEN, G.J. and BESTER, J.M. 1987. Storage and transpon of avocados - practical considerations for the South African export situation. S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb. 10:157-159.
- ENGELBRECHT, A.H.P. 1982. Intracellular location of polyphenol oxidase in avocado fruit. S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb. 5:30-31.
- FRANCIOSI, T.R. 1964. Cultivo del palto. Lima. Ministerio de Agricultura. Boletín técnico N° 52, 24 p.
- FRÍAS, M. 1995. Evaluación de distintas modificaciones atmosféricas en la conservación de paltas (*Persea americana* Mill.) cv. Hass, G .ven y Whitsell en atmósfera refrigerada. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 112 p.
- GARDIAZÁBAL, F y ROSENBERG, G. 1991. Cultivo del palto. Quillota, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso. 201 p.
- GRAHAM, D. and PATTERSON, B.D. 1982. Responses of plants to low non-freezing temperaturas: proteins metabolism and acclimation. Ann. Rev. Plant. Physiol. 33:347-372.
- GOLAN A., KAIHN, V. and SADOVSKI, A. Y. 1977. Relationship between polyphenols and browning in avocado mesocarp. Comparison between the Fuerte and Lerman cultivars. J. Agrie. Food Chem. 25:1253-1260
- HULME, A.C. 1971. The biochemistry of fruits and their producís. Norwich, England. Foods Res. Institute V. 2,788 p.
- KAHN, V. 1975. Polyphenol oxidase activity and browning by three avocado varieties. J. Sci. Food Agr. 26: 1319-1324.
- \_\_\_\_\_, 1977a. Latency properties of polyphenol oxidase in two avocado cultivars differing in their rate of browning. J. Sci. Food Agr. 28:233-239.
- \_\_\_\_\_,1977b. Some biochemical properties of polyphenoloxidase from two avocado varieties differing in their browning rates. J. Food Sci. 42:38-43.

- KANELIS, A.K., SOLOMOS, T. and MATTOO, A.K. 1989. Hydrolytic enzyme activities and protein pattern of avocado fruit ripened in air and in low oxygen, with and without ethylene. *Plant Physiol.* 90:257-266.
- KOSIYACHINDA, S. and YOUNG, R.E. 1976. Chilling sensitivity of avocado fruit at different stages of the respiratory climacteric. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101(6): 665-667.
- LIZANA, L.A., SALAS, M. y BERGER, H. 1992. The influence of harvest maturity, type of packing and temperatures on avocado quality, p. 435-442. In: Proc. of Second World Avocado Congress, California.
- LÓPEZ, F.C. 1980. El cultivo del palto y sus perspectivas futuras. *El Campesino* 110 (5): 20-51.
- LUZA, J.G., BERGER, H. y LIZANA, L.A. 1979. Almacenaje en frío de paltas (*Persea americana*\_Mill) cvs. Negra La Cruz, Ampolleta Grande y Fuerte. *Simiente* 49:42-47.
- LYONS, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:445-466.
- MARABOLÍ, P.F. y MOLINOS, V. 1987. Temperatura de almacenaje e inmersión en etrel de paltas cv. Bacon. Tesis ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 91p.
- MARTÍNEZ, O. 1984. Variación estacional en el contenido de aceite, contenido de humedad, tamaño y palatabilidad en frutos de palto (*Persea americana* Mill) cvs. Negra de la Cruz, Bacon, Zutano, Fuerte, Edranol y Hass. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 83 p.
- MARUR1, J. 1990. Efecto del encerado sobre el comportamiento en almacenaje refrigerado de paltas cv. Edranol cosechadas en tres estados de madurez. Tesis Ing, Agr. Quillola. Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 78 p.
- MAYER, A.M. 1987. Polyphenol oxidases in plants - recent progress. *Phytochemistry* 26:11-20.
- MAYER, A.M. and HARELI E. 1979. Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry* 18:193-215.
- MAZLIAC, P. 1971. Constitution lipidique de l'avocat fruit. 26:615-623.

- NEL, E., SMALL, J.G.C. and BOTHA, F.C. 1984. The effect of storage on respiration mitochondrial and lipoxygenase activity of Fuerte avocado fruits. S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb. 7:47-53.
- FANTÁSTICO, E.; SUBRAMANYAM, H.; BRATTI, M.; ALI, N. y ARAMINE, E. 1979. índices para cosecha. In: Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. México, Continental, pp 77-98.
- PERALTA, L. 1977. Ensayos preliminares en almacenaje de palta Fuerte (*Persea americana* Mill.). Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. 89 p.
- PLATT-ALOIA, K.A. and THOMSON, W.W. 1992. Ultrastructure of avocados: ripening, chilling injury, and isolation of idioblast oil cells. Proc. of Second World Avocado Congress p. 417-425.
- RICHARDSON, T y HYSLOP, D. 1993. Enzimas. In: Fennema, O., Ed. Química de los alimentos. Zaragoza Editorial Acriba, S.A. 415-536 p.
- RIED, M. 1992. Maturation and maturity Índices. "In": Kader, A. Ed. Postharvest Technology of horticultura! crops. 2ª ed. California, University of California. Pp 21-28.
- RYALL, A, and PENTZER, U. 1974. Handling, transport and storage of fruit and vegetables. Westport, AVI 545 p.
- SALISBURY, F; ROSS, C. 1994. Fisiología Vegetal. México, Iberoamérica. 759 p.
- SÁNCHEZ de MEDINA, L.; PLATA, M.; MARTÍNEZ-CAYUELA, M.; FAUS, M. J.; GIL, A. 1986. Cambios en la actividad polifenoloxidasas, peroxidasa, catalasa y fosfatasa ácida de chirimoya durante la maduración a temperatura y humedad controlada. Agroquím. Tecnol. Aliment. 26 (4): 529-538.
- SHARON, O. and KHAN, V. 1979, The intracellular localization of polyphenol oxidase in avocado mesocarp. Phytochemistry, 18:233-235.
- SILVA, A; CUEVAS, B y NÚÑEZ, S. 1998. Evolución en el precio de la palta. Tendencias en el mercado nacional. Empresa y Avance Agrícola 8 (60): 10-11.
- SWARTS, D.H. 1984. Post harvest problems of avocados-let's talk the same language. S. Afr. Avocado Grow. Assn. Yrb. 7:15-19.

- TINGWA, P.O. and YOUNG, R.E. 1974. The effect of calcium on the ripening of avocado fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99:540-542.
- VAN LELYVELD, L.J. and BOWER, J.P. 1984. Enzyme reactions leading to avocado mesocarp discoloration. *J. Hort. Sci.* 59:257-263.
- \_\_\_\_\_. GERRISH, C. and DIXON, R.A. 1984. Enzyme activities and polyphenols related to mesocarp discoloration of avocado fruit. *Phytochemistry* 23:1531-1534.
- VASQUEZ, J. 1975, Comportamiento durante el almacenaje en frío de algunas variedades de aguacate en Guatemala. *Proc. Trop. Region ASHS (Guatemala)*.
- VAUGHN, K.C. and DUKE, S.D. 1984. Tentoxin stops the processing of polyphenol oxidase into an active protein. *Physiol. Plant.*, 60:257-261
- WANG, C.Y. 1982. Physiological and biochemical response of plants to chilling stress. *HortSci.* 17(2): 173-186.
- WILLS, R. H., LEE, T. ft, GRAHAM, D., Me GLASSON, W. B. and HALL, E. G. 1981. *Post Harvest. An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables.* New South Wales University Press Limited, Australia. 153 p.
- ZAUBERMAN, G., FUCHS, Y. and AKERMAN, M. 1985. Peroxidase activity in avocado fruit stored at chilling temperatures. *Sci. Hort.* 26:261-255.
- ZAUBERMAN, G and SCHIFFMAN-NADEL, M. 1972. Respiration of whole fruit and seed of avocado at various stages of development. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97(3): 313-315.